

NÖVÉNYVÉDELEM

Az Agrárminisztérium tudományos lapja

82 [N.S. 57] 10. szám, 2021. október



GÁBORJÁNYI RICHARDOT KÖSZÖNTJÜK



ATK
Növényvédelmi Intézet
ELKH

A KÖRNYEZETBARÁT NÖVÉNYVÉDELEMÉRT ALAPÍTVÁNY

Megjelenik havonként

Előfizetési díj a 2021. évre: 9400 Ft
A Növényorvosi Kamara és a Magyar Növényvédelmi Társaság tagjainak 8800 Ft/év
Diákoknak 7000 Ft/év
Egyes szám: 940 Ft + postaköltség

Szerkesztőbizottság:

Elnök: Eke István
(Folyóiratunk múltjából rovatvezetője)

Rovatvezetők:

Csóka György (erdővédelem)
Haltrich Attila (rovartan, gerincesek)
Hartmann Ferenc (gyomszabályozási technológia)
Körösi Katalin (növénykórtan)
Molnár Béla Péter (rovartan, kémiai ökológia)
Molnár János (jogszabályfigyelő, krónika)
Palkovics László (növénykórtan, virológia)
Petróczy Marietta (növénykórtan)
Ripka Géza (rovartan, akarológia)
Solymosi Péter (gyombiológia, botanika)
Szántóné Veszélka Mária (rovartan, technológia)
Szeőke Kálmán (rovartan, most időszerű)
Vörös Géza (technológia, rovaratan)

A Szerkesztőbizottság munkáját segítik:

Dzsdzsák Szilvia (HOI)
Dancsházy Zsuzsanna (angol nyelv)
Böszörményi Ede (angol nyelv)
Mihályi Krisztina (szerkesztőségi titkár)

Főszerkesztő: Balázs Klára

Szerkesztőség:

Budapest II., Herman Ottó út 15.
Postacím: 1525 Budapest, Pf. 102.
E-mail: balazs.klara@atk.hu

Felelős kiadó: Bozzay Péter

a Herman Ottó Intézet Nonprofit Kft. ügyvezetője

Kiadó:

A Környezetbarát Növényvédelemért Alapítvány
1022 Budapest, Herman Ottó út 15.

Együttműködő partner:

Agrártudományi Kutatóközpont
Növényvédelmi Intézet ELKH

Megrendelhető a Szerkesztőség címén, illetve előfizethető az Alapítvány K&H 10400054-00502306-00000000 számú csekkzámláján.

ISSN 0133-0829

Készítette az INFORM Kiadó és Nyomda Kft.
Felelős vezető: Bolyki István
2021/29

ÚTMUTATÓ A SZERZŐK SZÁMÁRA

A közlemények terjedelmét a mondanivaló jellege szabja meg, de ne legyen a kettes sortávolságra nyomtatott szöveg a mellékletekkel együtt 15 oldalnál hosszabb. A kéziratot bevezető, anyag és módszer, eredmények (következtetések, köszönetnyilvánítás), irodalom fő fejezetekre kérjük tagolni és a Szerkesztőség címére elektronikus levélben beküldeni. A közlemény címét a Szerző(k) neve, munkahelye és a rövid összefoglaló kövesse, a dolgozat az irodalommal fejeződjön be. A táblázatok és ábrák (angol és magyar címjegyzékkel együtt) a dolgozat végére kerüljenek. Csak jó minőségű, laser-nyomatóval készült ábrát, illetve fekete-fehér fotót fogadunk el. Színes fotót csak a borítóra kérünk. Belső színes ábrák elhelyezésére közlési díj befizetése vagy szponzor anyagi támogatása esetén van lehetőség.

Az angol nyelvű összefoglaló új oldalon kezdődjön. Magyar és angol nyelven kulcsszavak közlése is szükséges.

A kéziratban csak a latin neveket kérjük kurzívval (egyszeri aláhúzás vagy italic nyomtatás) jelölni, egyéb tipizálás mellőzendő. A technológia részbe szánt kézirathoz összefoglalót nem kérünk. A Szerkesztőség csak az előírásoknak megfelelő eredeti kéziratot fogad el.

A Szerkesztő bizottság az internet honlapokról származó adatokra való hivatkozásokat nem tartja elfogadhatónak, ezért felhívja a Szerzők figyelmét, mellőzzék ezeket. Kivételt képeznek az interneten „on-line” elérhető tudományos folyóiratok, amelyek lektorált, szakmailag ellenőrzött dolgozatokat közölnek. Az ezekre történő hivatkozás esetén a szokásos bibliográfiai adatokat kell megadni.

A kézirat beadásával egyidejűleg kérjük a Szerző(k) személyi adatait (név, lakcím, munkahely, munkahely címe, telefon, fax, e-mail) megadni.

Kéziratot csak Word dokumentumban, ábrák csak jpg-ben fogadunk el!

CÍMKÉP: A Georgikon Kar
Pro Universitate Pannonica
nagy ezüst érdemrendje

Fotó: Vécsy Attila

Kapcsolódó cikk: 415–459. oldal

COVER PHOTO:

The great silver medal 'Pro Universitate
Pannonica' award of the Georgikon
Faculty

Photo by: Attila Vécsy

*Ez a lapszám a Magyar Tudományos
Akadémia támogatásával készült.*

KÖSZÖNTJÜK A 80 ÉVES GÁBORJÁNYI RICHARDOT, AKI PEDAGÓGUSNAK SZÜLETETT

Egy sikeres agrár-cégcsoport ügyvezető igazgatója szerint a magyar agrár-felsőoktatást a 70 pluszosok tartják lélegeztető gépen. Ilyen ember Gáborjányi Richard, aki évtizedek óta oktatja angol és magyar nyelven a növénykörtant és a növényi kórélettant szeretett egyetemén, a Pannon Egyetem Keszthelyi Georgikon Karán. Ez a hivatás közel áll hozzá, ami nem csoda, hiszen édesanyja pedagógus volt, felesége, Mónika úgyszintén, sőt lányuk, Barbara is követte őket ezen a nemes életpályán. Igaz hát a régi mondás: a bor nem válik vízzé! Gáborjányi Richard elkötelezett tanár, aki híven követte a Georgikont megalapító Festetics gróf filozófiáját, mely szerint egy mezőgazdász szakember kiművelése a lehető legszebb és legfontosabb feladat. A Georgikon szellemisége, az elmélet és gyakorlat szoros összekapcsolása biztosította a jól felkészített gazdász-nemzedékek sorozatát. Gáborjányi professzor is e küldetésnek megfelelően állította össze tantárgyait; hatalmas interaktív illusztrációsorozatokkal mutatta be a növénykörtankórélettan legújabb eredményeit. Nemcsak a világhálóról letöltött ábrákat illesztett előadásaiba, hanem maga is számos saját felvétellel gazdagította a tananyagot. Több egyetemi jegyzetet, tankönyvet, fejezetet írt: Növényvírusok és virológiai vizsgálati módszerek (szerk.: Horváth József és Gáborjányi Richard, Mezőgazda Kiadó), Növénykórokozó mikroorganizmusok (szerk: Érsek Tibor és Gáborjányi Richard, ELTE Eötvös Kiadó 1998), Molekuláris növénykörtan – támadás és véde-



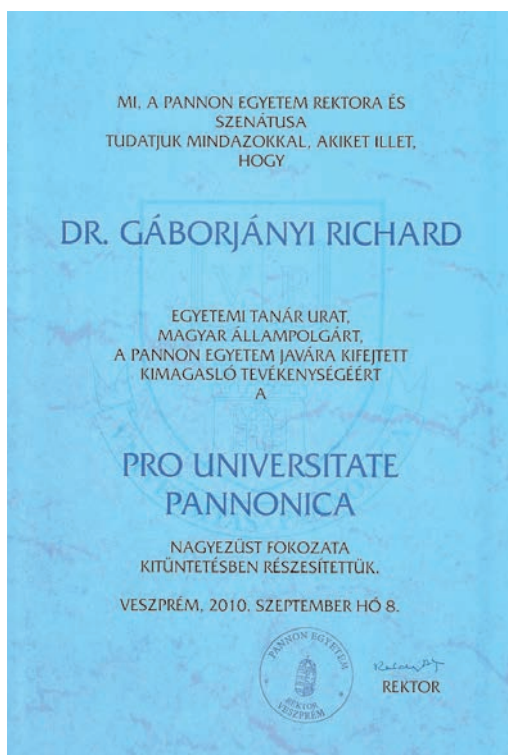
kezés (szerk: Gáborjányi Richard és Király Zoltán Agroinform Kiadó 2007).

Az évek során óriási tudásanyagot halmozott fel, elsősorban a növényvirológia területén, amelynek egyes ágait, így a gabonavírusok tárgykörét számos eredeti tudományos eredménnyel és felismeréssel gazdagította. Mindig szerény és segítőkész volt, vállalta a sok törődéssel járó, s olykor bizony hálátlan feladatokat: tudományos igazgató-helyettesként szolgált az MTA Növényvédelmi Kutatóintézetét, majd, intézetigazgatóként és dékánhelyettesként tette ugyanezt a Georgikon Karon.

Gáborjányi Richard professzor tudományos és oktatói tevékenységét, a felsőoktatásban végzett kiemelkedő munkáját Szent-Györgyi Albert-díjjal jutalmazták. A szívének legkedvesebb elismerést azonban tanítványaitól és munkatársaitól



kapta, amikor a Georgikon Kar legmagasabb érdemrendjével, a *Pro Universitate Pannonica* nagyezüst fokozatával tüntették ki. Most egy szép, kerek évforduló alkalmából köszöntjük őt: 80. születésnapján kívánunk Neki családja körében, egészségben, békességben eltöltött további szép éveket, és meghitt pillanatokot, amikor a Bece hegyről végigtekint az ő szeretett Balatonján. S reméljük, a festéssel sem hagy fel!



Balázs Ervin és Hornok László
A fotókat **Vécsy Attila** készítette

TULIPÁN SZÍNTÖRÉS SZINDRÓMÁT OKOZÓ VÍRUSFAJOK AZONOSÍTÁSA ÉS ROKONSÁGI VISZONYAINAK FELTÁRÁSA MAGYAR ÉS HOLLAND MINTÁK ALAPJÁN*

Ágoston János¹, Almási Asztéria², Salánki Katalin² és Palkovics László³

¹Neumann János Egyetem, Kertészeti és Vidékfejlesztési Kar, Agrártudományi Tanszék, 6000 Kecskemét, Mészöly Gyula tér 1–3.

²Eötvös Lóránd Kutatási Hálózat, Agrártudományi Kutatóközpont, Növényvédelmi Intézet, 1022 Budapest, Herman Ottó út 15.

³Széchenyi István Egyetem, Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Kar, Növénytudományi Tanszék, 9200 Mosonmagyaróvár Vár tér 2.
e-mail: palkovics.laszlo.amand@sze.hu

*A tulipán gazdaságilag a legjelentősebb hagymás növény a világon. A tulipánokat – ahogyan az összes többi hagymás növényt is – vegetatívan szaporítják és szabadföldi körülmények között nevelik. A fajták kizárólagosan vegetatív úton történő felszaporítása az egyöntetűség és fajtaazonosság miatt, valamint a viszonylag alacsony vegetatív szaporodási ráta miatt a kultúra hajlamos a kórokozók felhalmozására és így a vírusos betegségek miatti leromlásra. Vizsgálatainkhoz a mintavételeket 2014-ben Hollandiában, valamint 2017–2018-ban Magyarországon végeztük színtörésszerű tüneteket mutató tulipánokról. A mintákon először potyvírus specifikus ELISA tesztet végeztünk, ezzel párhuzamosan laboratóriumi tesztnövényeket (*Chenopodium foetidum*, *Ch. murale*, *Nicotiana benthamiana*, *N. tabacum* 'Xanthi') inokuláltunk szövetnedvvel, melyeken a tüneteket 5 héten keresztül figyeltük meg. A nukleinsav kivonást követően Potyvírus nemzetség specifikus RT-PCR tesztet végeztünk. A keletkezett PCR termékeket gélből izoláltuk, majd pGEM[®]-T Easy vektorba ligáltuk, klónoztuk, majd az inzertek nukleotid sorrendjét megállapítottuk, a kapott nukleotid sorrendeket annotáció után a GenBank-be feltöltöttük. A vírusok teljes köpenyfehérje régiójából nukleotid sorrend összehasonlítást végeztünk a MEGA X programmal, majd Maximum Likelihood törzsfát építettünk, melynek megbízhatóságát a Bootstrap módszerrel ellenőriztük. Vizsgálataink eredménye képpen 3 vírussajt sikerült azonosítanunk: Tulip breaking virus, Lily mottle virus és Rembrandt tulip-breaking virus. A fajok és izolátumok rokonsági viszonyainak vizsgálatakor a lilium foltosság vírus esetében megerősítettük a két alcsoport létezését, mely egybe vág *RIVAS* és munkatársainak eredményeivel, ezen felül a Rembrandt tulipán színtörés vírus esetében is sikerült két alcsoportot elkülönítenünk.*

Kulcsszavak: tulipán, *Tulipa*, Rembrandt tulip-breaking virus, *Tulip breaking virus*, *Lily mottle virus*, Potyvírus, Magyarország

Bevezetés

A tulipán kertészeti és gazdasági jelentősége

A tulipán gazdaságilag a legjelentősebb hagymás növény a világon (Jelitto és mtsai. 1995, McGovern és Elmer 2018, Mowat 1995),

és Magyarországon (Honfi és mtsai. 2014, Némethy 1994b, Schmidt és mtsai. 2000). 2018-ban a második legkeresettebb vágott virág volt a holland virágtőzsdéken, népszerűségét csak a rózsa múlta felül (International Association of Horticultural Producers (AIPH) 2018).

*A közleményt Gáborjányi Richardnak ajánljuk 80. születésnapja alkalmából.

A tulipánt, mint dísznövényt elsőként CAROLUS CLUSIUS (1576) írta le, később LIPPAY JÁNOS Posoni Kert című munkájában említi (1753). A tulipánok a *Tulipa* nemzetségbe tartoznak (Bryan 2002, Jelitto és mtsai. 1995), jelenleg 102 elfogadott faj (WCSP 2020) és több, mint 6700 hibridje létezik (Koninklijke Algemeene Vereeniging voor Bloembollencultuur (KAVB) 2021). A fajták túlnyomó többsége a *Tulipa gesneriana* fajhibridjei (Baardse és Krabbendam 1967, Bryan 2002, 2005, Hessayon 1997, Jelitto és mtsai. 1995, Krabbendam és Baardse 1966). A tulipánokat – ahogyan az összes többi hagymás növényt is – vegetatívan szaporítják és szabadföldi körülmények között nevelik. Kizárólag nemesítők és gyűjtők nevelik magról őket. A csirázástól az első virág megjelenéséig általában 6 év telik el (Baardse és Krabbendam 1967, de Hertogh és le Nard 1993, Hop 2018, Krabbendam és Baardse 1966), és jellemzően csirázástól 25 év kell ahhoz, hogy egy új fajta a piacon bevezetésre kerüljön (de Hertogh és le Nard 1993, Hop 2018).

A hosszú juvenilis fázis, a fajták kizárólagosan vegetatív úton történő felszaporítása az egyöntetűség és fajtaazonosság miatt, valamint a viszonylag alacsony vegetatív szaporodási ráta miatt a kultúra hajlamos a kórokozók felhalmozására és így a vírusos betegségek miatti leromlásra (McGovern és Elmer 2018). A termelők szaktudása, a termesztésre optimális időjárás és talajviszonyok miatt Hollandia lett a tulipán másodlagos géncentruma (Baardse és Krabbendam 1967, Bryan 2002, Jelitto és mtsai. 1995, Krabbendam és Baardse 1966, McGovern és Elmer 2018). Magyarországon a tulipán termesztés hőskora a '70-es és '80-as években volt (Honfi és mtsai. 2014, Komiszár 2003). Ebben az időszakban a magyar termelők tulipán hagymát exportáltak Hollandiába, mert nálunk a hagymák korábban értek be, így a preparálás hamarabb elkezdődhetett, és a holland hajtató kertészetek már december elejére ki tudták virágoztatni ezeket a hagymákat. Sajnos a magyar termelők szaktudásának hiányossága miatt, – mely főként a vírusos tünetek felismerésében és a szigorú szelekció hiányában nyilvánult meg – valamint a tenyészedőszakban

magas levéltetű nyomás miatt ezek az állományok hamar leromlottak, a termelés rohamosan csökkent, majd megszűnt (Komiszár 2003). Ma már minden tulipánt Hollandiából importálunk (Honfi és mtsai. 2014, Schmidt és mtsai. 2000), ahol a termelőknek szigorú növény-egészségügyi vizsgálatokon kell átesniük, ha EU-n kívüli harmadik országba szeretnének exportálni (Bloembollenkeuringsdienst (BKD) 2014).

A tulipán termesztés egyik legfontosabb mozzanata a vírusok elleni védekezés. Hollandiában a beteg tövek szelekcióját virágzás előtt és alatt 2–3 naponta végzik, virágzás után pedig heti 1–2 alkalommal. A vírustünetes növények megsemmisítését eddig csak jól képzett dolgozók végezheték, ám ők sem találják meg a beteg növények 100%-át. Ez a leginkább munkaerőigényes feladat, hiszen a többi lépés már gépesített (de Geuss 2017), ezért vírusfertőzést felderítő önjáró robotokat kezdtek el fejleszteni. Egyelőre még csak kísérleti stádiumban vannak ezek a gépek, de már biztató eredményekről számolnak be a kutatók (van der Lee 2019, Polder, G. és mtsai. 2010, Polder, Gerrit és mtsai. 2014, 2012, 2019, van der Veer 2019, Zevenbergen 2019).

A színtöréses tulipánok megjelenése

A XVII. század eleji leírásokban találkozunk először a tulipán színtöréssel. A színtöréses tulipánok leplein különféle mintázatok és színvariációk keletkeztek, melyek akkoriban nagyon népszerűek voltak. A korabeli arisztokrata osztály előszeretettel gyűjtötte ezeket a tulipánokat, melyek státuszszimbólummá váltak (Baardse és Krabbendam 1967, Krabbendam és Baardse 1966), később pedig a tulipán mániát (Tulipomania) okozta (Bryan 2002, Byther és Chastagner 1993, Dennin 2019, Hoog 1933, Jelitto és mtsai. 1995, Lesnaw és Ghabrial 2000, Moelling 2016, Mowat 1995, Pollan 2001). A kor híres festői is szívesen örökítették meg ezeket a különleges virágokat, erre példa REMBRANDT VAN RĪN *Flora* (1634) című alkotása, magyar festők közül pedig BOGDÁN JAKAB munkája érdemel említést. Később pont REMBRANDT munkásságának hatására a színtöréses tulipáno-

kat Rembrandt tulipánoknak nevezték el, ezáltal kronológiailag a második, de minden más szempontból a legelső jól dokumentált növényi vírusos megbetegedés lett (Bos 1995). Akkoriban a holland termesztők még nem ismerték a tudományos hátterét a színtörésnek, de rájöttek, hogy a tünetes hagyma egy darabját ha beoltják egy egészséges, egyszínű virágú fajta hagymájába, akkor a színtörés átvihető (Bos 1995, Hoog 1933, Lesnaw és Ghabrial 2000, Valverde és mtsai. 2012). A kutatást DOROTHY M. CAYLEY karolta fel újra 1928-ban. Megfigyelte, hogy a színtöréses fajták levelein szabálytalan vonalas mintázottság és foltosság látható, ami vírusfertőzésre utal. Cikkeiben tovább jellemzi a kísérő tüneteket: a színtöréses növények növekedésben visszamaradnak, törpülnek, gyökérzetük kevésbé fejlett, de még néhány évig vegetatívan tovább szaporíthatók, mielőtt jelentősen leromlana az állomány. Teszteli a „hagyma oltásos” módszert, ami alapján megállapítja, hogy a kórokozó fertőző (Cayley 1928a, 1928b, 1932). A virológus társadalom ezt tekinti a tulipán színtörés vírus (*Tulip breaking virus*, TBV) első hivatalos leírásának (Brunt 1996). Később DUFRENOY vizsgálta a fertőzött növények leveleinek sejtjait, és felfedezte, hogy a beteg sejtek sejtmagjának környékén vakuólumok találhatóak, ami pedig a potyvírusokra jellemző szélkerék alakú zárványtestek első leírásának számít (Dufrenoy 1931).

A tulipán színtörés kísérő tünetei

A tulipán színtörés (másnéven tulipán mozaik) szabálytalan lángnyelv-, és tollszerű mintázatot okoz a virágokon, a leveleken pedig mozaik tünetek látszanak (Valverde és mtsai. 2012). A legtöbb angol, holland és magyar szakirodalom egyetlen egy kórokozóra, a tulipán színtörés vírusra vezeti vissza a betegséget (Baardse és Krabbendam 1967, Bálint és mtsai. 1978, Gleason és mtsai. 2009, Hámori 2006, Krabbendam és Baardse 1966, Némethy 1990, 1992, 1994a, 1994b).

Más tünetek, mint például a csúcs-színtörés (*Tulip top breaking virus*) és szalagos virág színtörés (*Tulip band breaking virus*) külön

vírusfajként kerültek leírásra, mindkettőnek a tulipán és liliom volt a kizárólagos gazdanövénye (Dekker és mtsai. 1993).

Minden tulipánon színtörést okozó vírus levéltetvekkel nem perzisztens módon terjed, átvihetők még szövetnedvvel és vegetatív szaporítással is. A tünetek jellemzően virágzás előtt vagy alatt jelennek meg, ritkán virágzás után is láthatóak. A fajták érzékenysége és a kialakult tünetek, valamint a tünetek erőssége nagyon változó. Néhány fajta csak bizonyos típusú tüneteket mutat. A tünetek a tenyészidőszaknak csak egy rövid ideje alatt jelentkeznek, melyek szárazság, meleg és párás időjárás, valamint a növények intenzív növekedése alatt maszkírozódhatnak (de Best és mtsai. 2000). A tenyészidőszakban megfertőződött növények csak a következő évben mutatnak tüneteket (de Best és mtsai. 2000, Dekker és mtsai. 1993, Valverde és mtsai. 2012), hasonlóan a nárciszt megbetegítő vírusokhoz (Mowat és mtsai. 1988). Kihajtáskor a növények levelei mereven felfelé állnak, torzulnak, vagy szivar szerűen sodródhatnak, gyakran az egészségestől kisebbek (de Best és mtsai. 2000, Bloembollenkeuringsdienst (BKD) 2010a, 2019, Némethy 1990, 1994b). Néhány fajta esetében megfigyeltek lilásbordó, vagy sötét és világos zöld csíkozást a levél szélénél a fonáki oldalon. Ezek a tünetek csak átmenetiek, hamar kifakulnak, vagy maszkírozódnak, ahogy a növények intenzíven növekedni kezdenek. A virágzás kezdetén, vagy elvirágzás után a leveleken megjelenik a tipikus csíkos, vagy gyűrűs mozaik (de Best és mtsai. 2000, Bloembollenkeuringsdienst (BKD) 2010a, 2019, Némethy 1990, 1994b, 1994a). A fertőzött növények hamarabb vonulnak nyugalomba, mint az egészségesek (de Best és mtsai. 2000). A Darwin-hibridek esetében és az Egyéb fajtacsoportba tartozó fajtáknál (van Scheepen 1996) a levéltünetek a virágzás idejére teljesen maszkírozódnak. A virágszáron virágzás előtt rövid ideig lilásbordó, világos, vagy sötétzöld elmosódott szélű csíkozottság látható. A virágbimbók és a virágszár kisebb, a leplek nem csukódnak be szabályosan. Fehér, krém és sárga virágú fajtáknál a zöld bimbó állapot tovább tart, a bimbó sötétebb vagy

szürkésebb árnyalatú, a kinyílt virág kissé deformált. A lepel csúcsa kicsípett, hullámos, fodros, befelé hajló, vagy görbült. A beteg növény virága felülről nézve estére nem csukódik be szabályosan (de Best és mtsai. 2000). A színtörés mintázata, a színváltozás típusa és kontrasztja fajtafüggő (de Best és mtsai. 2000, Bloembollenkeuringsdienst (BKD) 2010a, 2019). Fehér, krém és sárga virágú fajtáknál a lepleken nem színtörést látunk, hanem fényes foltokat, melyek szabadföldi körülmények között nehezen észrevehetőek. Ilyen fajták esetében az idegenelésnél (fajtaidegen és fertőzött tövek eltávolítása) fontos segítség a virágtorzulás és a bibe színváltozása. Zöld bibéjű fajták esetében a bibe kivilágosodik, világos bibéjük esetében pedig kifehéredik. Piros virágú fajtáknál a zöld termőkön pirosas fedőszín alakulhat ki. Minden esetben a színváltozás a virágzás előrehaladtával erősödik. A beteg növények virágzása elnyúlik. A Holland szakirodalom szerint a tüneteket a tulipán színtörés vírus (*Tulip breaking virus*, TBV), a liliom foltosság vírus (*Lily mottle virus*, LMoV), a tarlórépa mozaik vírus (*Turnip mosaic virus*, TuMV) és a Rembrandt tulipán színtörés vírus (Rembrandt tulip-breaking virus, ReTBV) okozhatja (de Best és mtsai. 2000). Mind a 4 vírus jelenleg is tagja, vagy volt tagja a *Potyviridae* családnak, ezen belül pedig a *Potyvirus* nemzetségnek (de Best és mtsai. 2000, Dekker és mtsai. 1993).

Egyéb vírusok, mint az *Arabid mosaic virus*, *Cucumber mosaic virus*, *Lily symptomless virus*, *Tobacco necrosis virus*, *Tobacco rattle virus*, *Tulip severe mosaic virus*, *Tulip virus X* is okozhatnak színtörést, de ezek tünetei jelentősen eltérnek a virágon és a levélen a potyvirusokétól (de Best és mtsai. 2000, Hámori 2006, McGovern és Elmer 2018, Némethy 1990, 1992, 1994b, Sastry és mtsai. 2019, Valverde és mtsai. 2012).

A tulipán színtöréshez köthető potyvirusok taxonómiája

A liliom foltosság vírus (LMoV) először 1993-ban, majd 1996-ban említik a szakirodalomban (Brunt 1996, Dekker és mtsai. 1993),

faj szintre 2000-ben emelték (van Regenmortel és mtsai. 2000).

A Rembrandt tulipán színtörés vírus (ReTBV) először 1995-ben emelték faj szintre (Murphy és mtsai. 1995), de az ICTV FT2003.021P.01. gyorsított javaslata alapján feltételeesen fogadták be a nemzetségbe, mert csak egy részleges köpenyfehérje gén nukleotid sorrend állt akkor rendelkezésre (ICTV Report Consortium 2003), melyet 2004-ben ratifikáltak (Mayo 2005).

A tulipán szalagos színtörés vírus (TBBV) 1995-ben emelték faj szintre (Murphy és mtsai. 1995), melyet 2000-ben eltöröltek (van Regenmortel és mtsai. 2000), a liliom foltosság vírus szinonimája lett az FT2003.020P.01. (ICTV Report Consortium 2003) gyors javaslat alapján. A javaslat szerint nem jogosult a faj minősítésre, mert nagyon magas a nukleotid sorrend azonosság a liliom foltosság vírussal. Más irodalmak a tulipán színtörés vírus liliom törzseként is említik (Horst 2013), helytelenül.

A tulipán színtörés vírus (TBV) (Brunt 1996, Mowat 1995) mechanikailag (McGovern és Elmer 2018) és levéltetvekkel nem perzisztens módon átvihető (Adams 2006, Brierley és McKay 1938, Brunt 1996, McKay és mtsai. 1929, Mowat 1995, Valverde és mtsai. 2012). Fajként 1976-ban fogadták el (Fenner 1976), de az első teljes köpenyfehérje gén nukleotid sorrendet csak 1994-ben publikálták (Ohira és mtsai. 1994).

A tulipán klorotikus folt vírus (Tulip chlorotic blotch virus) (Brunt 1996, Mowat 1995) 2000-ben beolvasztották a tarlórépa mozaik vírus fajba (van Regenmortel és mtsai. 2000).

A tulipán mozaik vírus (*Tulip mosaic virus*) (Brunt 1996) 2005-ben emelték faj szintre (Fauquet és mtsai. 2005).

A tulipán csúcs-színtörés vírus (Tulip top breaking virus) faj szintről az újabb információk alapján 1993-ban a tarlórépa mozaik vírus törzsévé nyilvánították (Dekker és mtsai. 1993). Tulipánban nem gyakori. 2002-ben Hollandiában egy 'Arma' táblában találta meg a holland hatóság. A virágokon nem a tipikus csúcs-színtörést okozta, hanem fehér csíkozottságot, a lombon keskeny, világos és sötétzöld

csíkos mozaik látszott. A tábla mellett brokkolit termesztettek, ami tarlórépa mozaik vírussal volt fertőzödéve. Feltételezések szerint levéltetvek vitték át a vírust a brokkoliról a tulipánra (Bloembollenkeuringsdienst (BKD) 2010b).

Anyag és módszer

A mintavételeket 2014-ben Hollandiában, valamint 2017–2018-ban Magyarországon vé-

geztük. A *Tulipa* Fringed 'Lambada' (704) és *Tulipa* Fringed 'Crystal Beauty' (705) minták a Budai Arborétumból kerültek begyűjtésre. Minden minta tünetes levélből származott, 1–5 g tömegű volt. A mintavétel után a minta hűtve, vagy fagyasztva (–20 °C) került beszállításra a laboratóriumba, ahol –70 °C-on tároltuk további felhasználásig. A vizsgálatokhoz gyűjtött minták fontosabb adatait az 1. táblázatban tüntetjük fel.

1. táblázat

A vizsgálatba vont minták adatai. A tulipánok fajtacsoportba történő besorolása

VAN SCHEEPEN nyomán történt (1996)

Kód-szám	Gazdanövény tudományos neve	Tünetek		Dátum	Település
		levélen	virágon		
536	<i>Tulipa</i> Rembrandt 'Zomerschoon' 1620	+	+	2014-04-26	Limmen
642	<i>Tulipa</i> Rembrandt 'Absalon' 1780	+	+	2018-01-15	Budapest
645	<i>Tulipa</i> Rembrandt 'Zomerschoon' 1620	+	+	2018-01-24	Budapest
646	<i>Tulipa</i> Rembrandt 'Insulinde' <1915	+	+	2018-01-24	Budapest
675	<i>Tulipa</i> Fringed 'Barbados'	+	+	2018-03-25	Nyársapát
696	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	+	+	2018-04-01	Püspökladány
704	<i>Tulipa</i> Fringed 'Lambada'	+	+	2018-04-16	Budapest
705	<i>Tulipa</i> Fringed 'Crystal Beauty'	+	+	2018-04-16	Budapest
707	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	+	+	2018-04-16	Balatonalmádi
712	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	+	+	2018-04-18	Deszk
713	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	+	+	2018-04-18	Murony
714	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	+	+	2018-04-22	Törökszentmiklós
716	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	+	+	2018-04-19	Miskolc
717	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	+	+	2018-04-19	Felsőtárkány
718	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	+	+	2018-04-19	Bátonyterenye
719	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	+	+	2018-04-20	Nemesböd
720	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	+	+	2018-04-20	Győrújbarát
721	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	+	+	2018-04-20	Komárom
722	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	+	+	2018-04-21	Szada
723	<i>Tulipa</i> Triumph 'Oscar'	+	+	2018-04-21	Szada
725	<i>Tulipa</i> Triumph 'First Class'	+	+	2018-04-21	Szada
726	<i>Tulipa</i> Double Late 'Blue Diamond'	+	+	2018-04-21	Szada
727	<i>Tulipa</i> Parrot 'Blue Parrot'	+	+	2018-04-21	Szada
728	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Gudoshnik'	+	+	2018-04-21	Szada
731	<i>Tulipa</i> Fosteriana 'Purissima'	+	+	2018-04-21	Szada
732	<i>Tulipa</i> Parrot 'Texas Gold'	+	+	2018-04-21	Szada
734	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	+	+	2018-04-21	Gárdony
735	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	+	+	2018-04-22	Tolna-Mözs
736	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	+	+	2018-04-22	Pécs
738	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	+	+	2018-04-22	Zalaegerszeg
739	<i>Tulipa</i> Lily-flowered 'Claudia'	+	+	2018-05-02	Mátraszentimre
A1	<i>Tulipa</i> Viridiflora 'Groenland'	+	+	2017-05-06	Gödöllő
36/3	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	+	+	2017-04-18	Gödöllő

A 707 mintát SÁRAY RÉKA, 722-732 mintákat ALMÁSI ASZTÉRIA, A1 és 36/3 mintákat SALÁNKI KATALIN gyűjtötte.

A vizsgálatokat a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Növényvédelmi Intézet, Növénykórtani Tanszékének Laboratóriumában, valamint az Eötvös Lóránd Kutatási Hálózat Agrártudományi Kutatóközpont Növényvédelmi Intézetének Virologiai Laboratóriumában végeztük.

Szerológiai vizsgálat

A potyvírus specifikus ELISA kit-et – amely MAb PTY1 monoklonális detektáló antitesten alapul (Jordan és Hammond 1991) – az Agdiától vásároltuk. Az elsődleges antitest egérben előállított anti PTY1 (potyvírus köpenyfehérje klón) IgG, míg a másodlagos antitest az alkalikus foszfatáz enzimmel (AP) konjugált nyúlból származó egér IgG-t felismerő poliklonális antitest. A pozitív kontrollt az előállító cég biztosította (burgonya Y vírus), a negatív kontroll vektormentes üvegházban nevelt *Chenopodium amaranticolor* magonc növényből származott. A mintákat két ismétlésben vizsgáltuk, a gyártó utasításai szerint eljárva. Mindkét antitest 1:100 történő hígításban került felhasználásra. Az abszorbancia értékeket Labsystems Multiskan MS spektrofotométeren detektáltuk 405 nm-en az 1 mg/ml 4-nitro-fenil-foszfátot (PNPP) tartalmazó szubsztrát oldat hozzáadása után 60 és 120 perc inkubációs idő elteltével. Az abszorbancia értékeket a csak puffert tartalmazó (blank) minta OD értékével korrigáltuk. Pozitív eredménynek a negatív kontrollok OD értékének háromszorosát, illetve az azt meghaladó értéket tekintettük.

Molekuláris azonosítás, össz-nukleinsav kivonás, RT-PCR

Az össz-nukleinsav kivonást WHITE és KAPER módszere alapján végeztük (1989). A kapott nukleinsavakat $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tároltuk további felhasználásig. A cDNS szintézis 10 μl végtérfogaton történt. Első lépésként 2 μl össz-nukleinsavat mértünk ki, majd 2 μl steril

nukleáz mentes H_2O -t adtunk hozzá, végül 1 μl 100 mM poly T_2 reverz primert ($5'$ -CGG GGATCCTCGAGAAGCTTTTTTTTTTTTTTT TTT-3') mértünk az oldatba (Salamon és Palkovics 2005). A keveréket 5 percig $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on inkubáltuk, majd 2 percre jégre állítottuk. Ez után a következő vegyszereket mértünk hozzá: 1 μl 10 mM dNTPs, 1 μl nukleáz mentes steril H_2O , 2 μl $5\times$ RT puffer (250 mM Tris-HCl (pH 8,3, $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on), 250 mM KCl, 20 mM MgCl_2 , 50 mM DTT) (Thermo Scientific), 0,5 μl RiboLock RNase Inhibitor (Thermo Scientific), 0,5 μl RevertAid Reverse Transcriptase (Thermo Scientific), majd 1 órán át $42\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on inkubáltuk, végül 2 percre jégre helyeztük, hogy a szintézis megálljon. A cDNS-t $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tároltuk felhasználásig.

A PCR reakció 50 μl végtérfogaton folyt a következő összetevőkkel: 2 μl cDNS, 5 μl $10\times$ Taq puffer + KCl (100 mM Tris-HCl (pH 8,8, $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on), 500 mM KCl, 0,8% (v/v) Nonidet P40) (Thermo Scientific), 3 μl 25 mM MgCl_2 , 2 μl 10 mM dNTPs, 1 μl poty7941 forward primer ($5'$ -GGAATTCCCCGCGNAAAYAAY AGYGGNCARCC-3') (Salamon és Palkovics 2005), 1 μl poly T_2 reverz primer, 1 μl Taq DNA Polymerase (rekombináns) (Thermo Scientific), és 35 μl steril nukleáz mentes H_2O .

A PCR program 3 perc $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os denaturálással kezdődött, majd a ciklus 30 másodperc $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os denaturálással folytatódott, amit 30 másodperc $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os anelláció követett, végül 2 perc $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os polimerizációval folytatódott. A ciklus $40\times$ ismétlődött, amit végül 10 perces $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os végső polimerizáció követett, majd $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ -ra hűtéssel zárult.

A keletkezett specifikus PCR terméket etídium-bromidos 1%-os TBE agaróz gélen tettük láthatóvá.

A fenti primerpár a potyvírus nemzetség tagjainál az RNS függő RNS polimerázának (RdRp, Nib) C-terminális végéből a konzervált GNNSGQP motívumtól kezdődően a teljes köpenyfehérje régiót, a teljes $3'$ nem transzlálódó régiót ($3'$ UTR), valamint a polyA vég első néhány bázisát szaporította fel. Vírusfajtól függően 1400–1800 bp közötti PCR termék keletkezett. A specifikus PCR terméket a

gélből kivágtuk, majd High Pure PCR Product Purification Kit-tel (Roche) tisztítottuk ki a gyártó utasításait követve.

A molekuláris azonosításnál pozitív kontrollként a burgonya Y vírus O törzsét használtuk (Basky és Almási 2005), melyet cecei típusú paprikán (*Capsicum annuum* 'Cecei') tartottunk fenn.

Laboratóriumi tesztnövények mechanikai inokulálása

Az inokuláláshoz 25–50 mg fertőzött levél-szövetet dörzsöltünk el 200 µl 2 mM SØRENSEN-féle foszfát pufferben (pH 7,0), cellit jelenlétében (Horváth és Gáborjányi 1999), majd a keverékkel inokuláltuk a következő tesztnövényeket: *Chenopodium foetidum*, *Ch. murale*, *Nicotiana benthamiana*, *N. tabacum* 'Xanthi'. Az inokulált növények vektormentes üvegházban kerültek elhelyezésre 18–24 °C közötti hőmérsékleten. A tünetek megjelenését 5 héten keresztül követtük figyelemmel, a megjelenő tüneteket feljegyeztük.

Ligálás, transzformálás, nukleotid sorrend meghatározás

A tisztított PCR termékek ligálása 10 µl végtérfogaton történt. A keverék a következő összetevőkből állt: 3 µl tisztított PCR termék, 1 µl 10× T4 DNA Ligase puffer (300 mM Tris-HCL (pH 7,8), 100 mM MgCl₂, 100 mM DTT, 10 mM ATP) (Promega), 0,2 µl pGEM®-T Easy vektor (Promega), 1 µl T4 DNA Ligase (Promega), 4,8 µl nukleáz mentes steril H₂O. A ligálás 4 °C-on, overnight történt.

Másnap reggel 100 µl *Escherichia coli* DH5α (Sambrook és Russell 2001) sejtet 10 percre jégre állítottunk, hogy kiolvadjon. A teljes ligátumot hozzámértük a kompetens sejtekhez és további 20 percen át jégen tartottuk, majd 1 percre 42 °C-on inkubáltuk, és 5 percig ismét jégen tartottuk. Ez után 400 µl LURIA-BERTANI (LB) táplevest (Atlas 2010) mértünk hozzá, és 1 órán át 37 °C-on rázatva inkubáltuk. 150 µl baktérium szuszpenziót szélesztettünk Ampicillines (100 mg/l) LB lemezre (1000 ml LB tápleves + 20 g/l bakteriológiai agar) kiegészítve 10 µl

IPTG-vel (100 mM/ml), 40 µl X-Gal-lal (20 mg/ml). A kolóniákat overnight 37 °C-on növesztettük, majd 1 órára 4 °C-ra helyeztük a kékféher szelekció előtt. A fehér kolóniákat 3-5 ml ampicillines (100 mg/l) LB táplevesbe oltottuk le, majd egy éjszakán át 37 °C-on ráztattuk. A plazmidokat GeneJET Plasmid miniprep kittel nyertük ki (Thermo Scientific). Az inzertek nukleotid sorrendjének meghatározását szolgáltató cégek végezték SANGER módszere alapján (Sanger és Coulson 1975, Walker és Lorsch 2013). A nukleotid sorrend meghatározáshoz kezdetben az M13 primereket használtunk M13-for (5'-GTAAAACGACGGCCAGT-3'), M13-rev (5'-GGAAACAGCTATGACCATG-3'), de később áttértünk az sqGMTZ-for (5'-GGGCGAATTGGGCCCGACG-3') és sqGMTZ-rev (5'-CCAACGCGTTGGGAGCTCTCCC-3') primerekre (Ágoston 2021), melyek 75-77 bázissal közelebb helyezkednek el a vektor klónozó helyéhez (Multiple Cloning Site, MCS), így a kromatogramok illesztése jobb volt.

Nukleotid sorrend elemzés

A szolgáltatóktól megkapott kromatogramok nukleotid sorrendjét az NCBI GenBank megaBLAST (Morgulis és mtsai. 2008) programjával vizsgáltuk, a fajmeghatározás végett (Adams, Antoniw, és Fauquet 2005, Wylie és mtsai. 2017). Minden vírusfaj esetében egy referencia szekvencia került kiválasztásra. A kromatogramok ez után a megfelelően homológ referenciához lettek illesztve az Unipro Ugene v1.30 (Okonechnikov és mtsai. 2012) programmal. A "trimming quality threshold" 0, a "mapping minimum similarity" 50%-nak állítottuk be. Minden egyes illesztést ellenőriztünk, a bizonytalan bázisokat a kromatogram csúcsok alapján manuálisan javítottuk, a kromatogramok javított konszenzus szekvenciáit GenBank fájlformátumba mentettük el. A szekvenciák annotációja, a kódoló régió, a poliprotein hasító helyek bejelölése, valamint a primerek adapter régióinak (5'-GGAATTCCCG-3' poty7941 esetében, és 5'-CGGGGATCCTCGAGAAGC-3' poly T₂

esetében) eltávolítása után a teljes köpenyfehérje régiót ismételtelen ellenőriztük az adatbázisban megaBLAST programmal. A keletkezett és ellenőrzött nukleotid sorrendek feltöltésre kerültek az adatbázisba.

Filogenetikai elemzés

Filogenetikai elemzéshez minden esetben a MEGA X programcsomagot használtuk (Kumar és mtsai. 2018). Először ClustalW módszerrel (Larkin és mtsai. 2007, Thompson és mtsai. 1994) összehasonlítást végeztünk az adatbázisban szereplő vírusokkal, melyek legnagyobb nukleotid sorrend azonosságot mutattak az általunk izolált vírusok teljes köpenyfehérje régiójával. Az összehasonlításhoz a program alapbeállításait használtuk, egy kivétellel, a súlyozási mátrixnál a ClustalW 1.6 verzióját választottuk ki.

Az összehasonlítás után megkerestettük a programmal a legjobban illeszkedő DNS nukleotid helyettesítési modellt. Legjobban illeszkedő modellként a legkisebb korrigált Akaike Information Criterion (AICc) értékű modellt választottuk ki (Nei és Kumar 2000) majd ezzel a modellel Maximum Likelihood (ML) filogenetikai törzsfát építettünk (Felsenstein 1981, Guindon és Gascuel 2003). A törzsfá megbízhatóságát Bootstrap módszerrel ellenőriztük (Felsenstein 1985) 1000×-es ismétlésben. Csoporton kívüli szekvenciának minden esetben a dohány karcolatos vírust (*Tobacco etch virus*, RefSeq: NC_001555) választottuk, a törzsfákat ehhez az izolátumhoz gyökeresítettük.

A tulipánról azonosított vírusokon kívül a tulipánt fertőző vírusok filogenetikai elemzéséhez a következő GenBank azonosítójú szekvenciákat használtuk fel:

- tulipán színtörés vírus: AB078007, AB090385, KF442403, KT923168, S44147, X63630,
- liliom foltosság vírus: AB053256, AF531458, AJ310203, EU267778, FJ618539, JN127341, KF553658, KJ561805, MF781080, MH360239,
- Rembrandt tulipán színtörés vírus: AB674535, JN127335,
- dohány karcolatos vírus: NC_001555.

Eredmények

A szerológiai vizsgálatok eredményeinek ismertetésekor eltekintünk a kontrollok és a minták abszorbancia eredményeinek részletes közlésétől, csak a negatív kontrollok és a minták átlagának hányadosát közöljük. A szerológiai vizsgálatok eredményeit a 2. táblázatban foglaltuk össze.

A kórokozók molekuláris azonosításának eredményei

Minden tesztelt növényből sikerült potyvírust kimutatnunk, de mintánként csak 1 potyvírus fajt tudtunk azonosítani. Eredményeinket a 3. táblázatban ismertetjük.

A tulipánt fertőző vírusok eloszlása Magyarországon, fajta preferencia

A 3. táblázatban ismertetett eredmények alapján, összevetve a minták származási helyével (1. táblázat) elmondható, hogy a Rembrandt tulipán színtörés vírus csak Rembrandt tulipánokon fordult elő Magyarországon. A liliom foltosság vírus és a tulipán színtörés vírus az ország minden régiójában előfordult (1. ábra), sőt egyazon tulipán populáción belül a kórokozók gyakorisága megegyezett. Gazdanövényük a vizsgált minták alapján tulipán, a liliom foltosság vírus esetében tulipán és liliom, valamint egyik vírushalmaz sem mutatott tulipánfajta, vagy -fajtacsoport preferenciát.

Tesztnövények mechanikai inokulálásának eredményei

Az öt hetes megfigyelési időszak alatt semmilyen tünetet nem figyeltünk meg egyetlen egy inokulált tesztnövényen sem, mely egybevág a korábbi irodalmi adatokkal (Adams 2006, Brunt 1996). Ezek alapján az izolált vírusok vélhetően csak egyszikű, a fertőzött növényekkel közeli rokon fajokat képesek megfertőzni.

2. táblázat

A szerológiai vizsgálatok eredményei. Minden hányados 3-nál magasabb, így az eredmények alapján minden vizsgált minta pozitív, tehát minden növényt valamilyen potyvírus faj fertőzött meg.

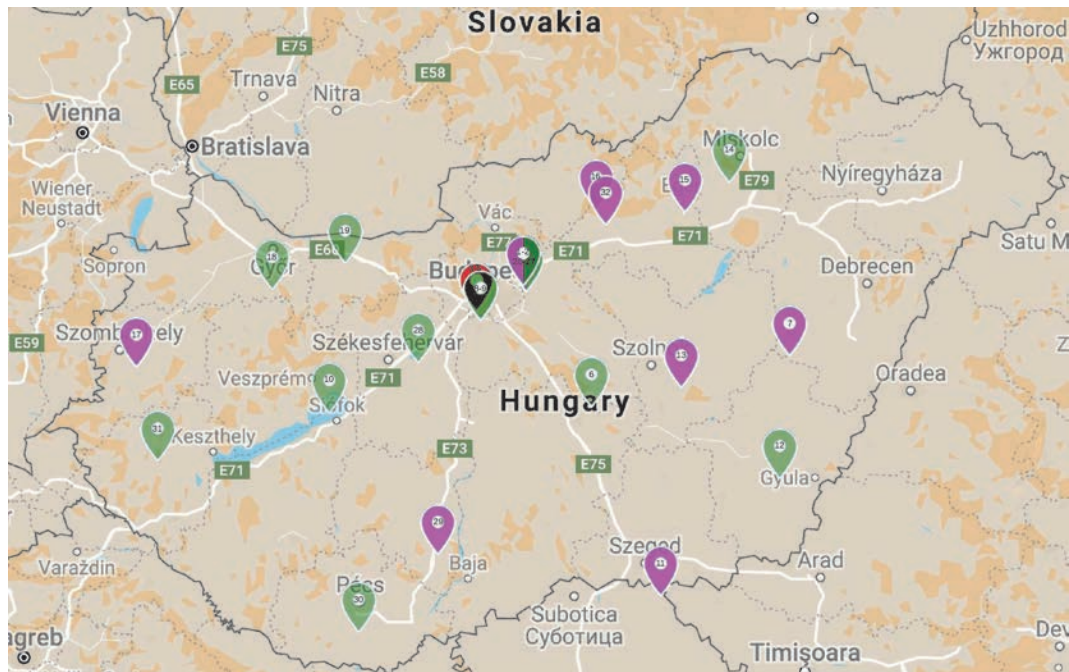
Kódszám	Gazdanövény	A negatív kontroll és a minta hányadosa
536	<i>Tulipa</i> Rembrandt ‚Zomerschoon’ 1620	11,400
642	<i>Tulipa</i> Rembrandt ‚Absalon’ 1780	13,400
645	<i>Tulipa</i> Rembrandt ‚Zomerschoon’ 1620	4,200
646	<i>Tulipa</i> Rembrandt ‚Insulinde’ <1915	11,600
675	<i>Tulipa</i> Fringed ‚Barbados’	29,642
696	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid ‚Apeldoorn’	7,605
704	<i>Tulipa</i> Fringed ‚Lambada’	51,164
705	<i>Tulipa</i> Fringed ‚Crystal Beauty’	30,200
707	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid ‚Apeldoorn’	50,970
712	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid ‚Apeldoorn’	4,984
713	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid ‚Apeldoorn’	11,000
714	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid ‚Apeldoorn’	10,200
716	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid ‚Apeldoorn’	15,600
717	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid ‚Apeldoorn’	22,200
718	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid ‚Apeldoorn’	6,200
719	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid ‚Apeldoorn’	6,600
720	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid ‚Apeldoorn’	4,600
721	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid ‚Apeldoorn’	11,030
722	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid ‚Apeldoorn’	4,700
723	<i>Tulipa</i> Triumph ‚Oscar’	37,400
725	<i>Tulipa</i> Triumph ‚First Class’	26,400
726	<i>Tulipa</i> Double Late ‚Blue Diamond’	50,910
727	<i>Tulipa</i> Parrot ‚Blue Parrot’	51,313
728	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid ‚Gudoshnik’	51,746
731	<i>Tulipa</i> Fosteriana ‚Purissima’	8,800
732	<i>Tulipa</i> Parrot ‚Texas Gold’	27,500
734	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid ‚Apeldoorn’	3,900
735	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid ‚Apeldoorn’	7,800
736	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid ‚Apeldoorn’	3,500
738	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid ‚Apeldoorn’	5,300
739	<i>Tulipa</i> Lily-flowered ‚Claudia’	68,100
A1	<i>Tulipa</i> Viridiflora ‚Groenland’	5,300
36/3	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid ‚Apeldoorn’	4,100

A vizsgálatba vont mintákban azonosított vírusok, és azok GenBank azonosítói

Kódszám	Gazdanövény	Azonosított vírusok tudományos nevei	GenBank azonosító
536	<i>Tulipa</i> Rembrandt ‚Zomerschoon’ 1620	Rembrandt tulip-breaking virus	MG637051
642	<i>Tulipa</i> Rembrandt ‚Absalon’ 1780	Rembrandt tulip-breaking virus	MK368780
645	<i>Tulipa</i> Rembrandt ‚Zomerschoon’ 1620	Rembrandt tulip-breaking virus	MK368781
646	<i>Tulipa</i> Rembrandt ‚Insulinde’ <1915	Rembrandt tulip-breaking virus	MK368782
675	<i>Tulipa</i> Fringed ‚Barbados’	<i>Tulip breaking virus</i>	MK368783
696	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid ‚Apeldoorn’	<i>Lily mottle virus</i>	MK368784
704	<i>Tulipa</i> Fringed ‚Lambada’	<i>Tulip breaking virus</i>	MK368785
705	<i>Tulipa</i> Fringed ‚Crystal Beauty’	<i>Tulip breaking virus</i>	MK368786
707	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid ‚Apeldoorn’	<i>Tulip breaking virus</i>	MK368787
712	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid ‚Apeldoorn’	<i>Lily mottle virus</i>	MK368788
713	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid ‚Apeldoorn’	<i>Tulip breaking virus</i>	MK368789
714	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid ‚Apeldoorn’	<i>Lily mottle virus</i>	MK368790
716	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid ‚Apeldoorn’	<i>Tulip breaking virus</i>	MK368791
717	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid ‚Apeldoorn’	<i>Lily mottle virus</i>	MK368792
718	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid ‚Apeldoorn’	<i>Lily mottle virus</i>	MK368793
719	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid ‚Apeldoorn’	<i>Lily mottle virus</i>	MK368794
720	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid ‚Apeldoorn’	<i>Tulip breaking virus</i>	MK368795
721	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid ‚Apeldoorn’	<i>Tulip breaking virus</i>	MK368796
722	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid ‚Apeldoorn’	<i>Tulip breaking virus</i>	MK368797
723	<i>Tulipa</i> Triumph ‚Oscar’	<i>Tulip breaking virus</i>	MK368798
725	<i>Tulipa</i> Triumph ‚First Class’	<i>Tulip breaking virus</i>	MK368799
726	<i>Tulipa</i> Double Late ‚Blue Diamond’	<i>Tulip breaking virus</i>	MK368800
727	<i>Tulipa</i> Parrot ‚Blue Parrot’	<i>Lily mottle virus</i>	MK368801
728	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid ‚Gudoshnik’	<i>Lily mottle virus</i>	MK368802
731	<i>Tulipa</i> Fosteriana ‚Purissima’	<i>Lily mottle virus</i>	MK368803
732	<i>Tulipa</i> Parrot ‚Texas Gold’	<i>Lily mottle virus</i>	MK368804
734	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid ‚Apeldoorn’	<i>Tulip breaking virus</i>	MK368805
735	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid ‚Apeldoorn’	<i>Lily mottle virus</i>	MK368806
736	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid ‚Apeldoorn’	<i>Tulip breaking virus</i>	MK368807
738	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid ‚Apeldoorn’	<i>Tulip breaking virus</i>	MK368808
739	<i>Tulipa</i> Lily-flowered ‚Claudia’	<i>Lily mottle virus</i>	MK368809
A1	<i>Tulipa</i> Viridiflora ‚Groenland’	<i>Tulip breaking virus</i>	MF983710
36/3	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid ‚Apeldoorn’	<i>Lily mottle virus</i>	MF983709

Félkövé: Magyarországról eddig nem azonosított vírus

Aláhúzott: Magyarországról már leírt vírus, de Magyarországon újnak számító gazdanövény.



1. ábra. Tulipánt fertőző vírusfajok magyarországi előfordulása.

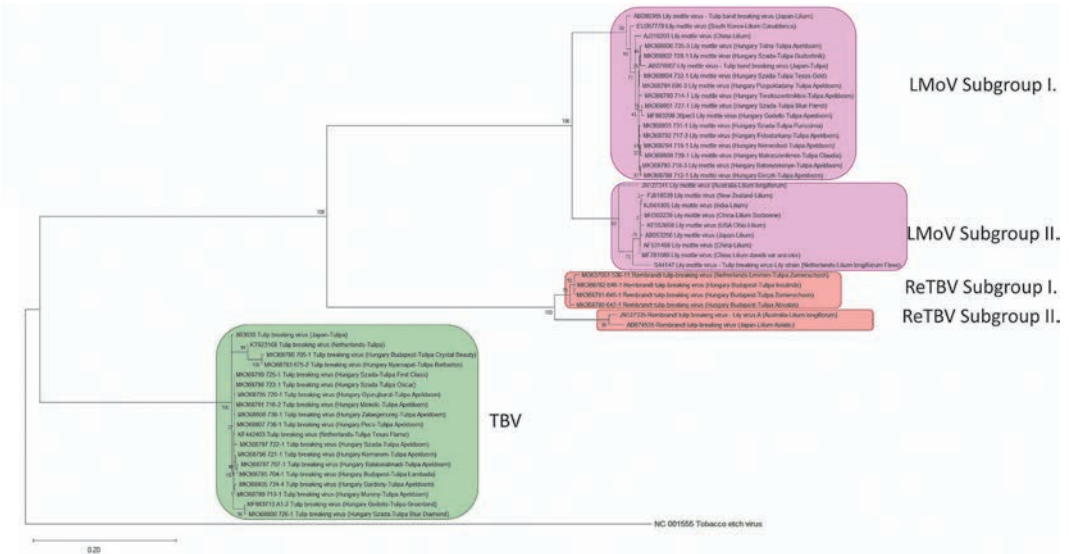
Pirossal jelölve a Rembrandt tulipán szintörés vírus, lilával a lilium foltosság vírus, zölddel a tulipán szintörés vírus, lila-zöld színnel a lilium foltosság vírus és tulipán szintörés vírus egy gazdanövény populációban való közös előfordulását jelöltük.

Filogenetikai elemzés eredményei

A teljes köpenyfehérje régió esetében a TAMURA-NEI szubsztitúciós modell (1993) Gamma disztribúcióval és invariáns helyekkel adta a legkisebb AICc értéket: 11042,30. Az elkészült és annotált törzsfát a 2. ábrán mutatjuk be.

Az ML törzsfá alapján világosan látható, hogy a három vírus – tulipán szintörés vírus, Rembrandt tulipán szintörés vírus és lilium foltosság vírus – faj szinten jól elkülönülnek, de egy közös ősrre vezethetők vissza. A tulipán szintörés vírus egy külön kládot, míg a lilium foltosság vírus és a Rembrandt tulipán szintörés vírus egy másik közös ősrre visszavezethető kládot alkot. Ebben a közös kládban mindkét vírusfaj külön ágon helyezkedik el. Ezeket a fő ágakat 100%-os Bootstrap értékek támasztják alá statisztikailag. A lilium foltosság vírus és a Rembrandt tulipán szintörés vírus esetében a faj két jól elkülöníthető alcsoportot alkot, melyet szintén 100%-os Bootstrap érté-

kek támasztanak alá. A két lilium foltosság vírus alcsoportot Z_{HENG} és munkatársai „Tulip breaking virus lily strain”-nek és „Tulip band breaking virus”-nak nevezték el (2003), de ezen csoportok nevei nem létező vírusfajokon alapulnak. Vizsgálataink RIVAS és munkatársainak eredményeit támasztják alá, akik a „Tulip band braking virus” csoportot a lilium foltosság vírus I. alcsoportjává (subgroup I.), a „Tulip breaking virus lily strain” csoportot pedig a lilium foltosság vírus II. alcsoportjává (subgroup II.) nevezték át (2016). Megjegyzendő, hogy az általunk vizsgált összes lilium foltosság vírus izolátum az I. alcsoportba tartozik. Ebben az alcsoportban 3 izolátum különböző lilium fajokról származott, egy Japánból, egy Kínából és egy Dél-Koreából, valamint volt egy tulipánról származó Japán izolátum is. Az AB078007 azonosítójú izolátum mutatja a legközelebbi rokonságot a Magyarországról azonosított izolátumokkal, azonban ez az izolátum a GenBank-ban tulipán szalagos virágszintörés vírusként szerepel, de



2. ábra. Tulipánt fertőző vírus izolátumok teljes köpenyfehérje génjének ML törzsfája. A Bootstrap értékek a törzsfá ágain %-os értékben tüntették fel.

a filogenetikai törzsfánk alapján rendszertanilag a lilium foltosság vírusához tartozik. A II. alcsoport tagjai különböző lilium fajokról és fajtákról származnak ausztrál, új-zélandi, japán, kínai, indiai, amerikai és holland izolátumok, ezek alapján ez az alcsoport az egész világon elterjedt. Az ebbe a csoportba tartozó S44147 azonosítójú izolátum – ami Hollandiából *Lilium longiflorum* 'Flevo' fajtáról származik – tulipán szintörés vírus „Lily strain”-ként került azonosításra, de a törzsfá alapján határozottan lilium foltosság vírus.

Rembrandt tulipán szintörés vírus esetén is látható, hogy a faj két kládra oszlik. A korábban liliumról leírt izolátumok a II. alcsoportba tartoznak, a JN127335 azonosítójú szekvencia Ausztráliából származik, és Lily vírus A-ként azonosították. A másik alcsoportba (I.) kizárólag tulipánról leírt izolátumok találhatók.

A tulipán szintörés vírus esetében az izolátumok egy sokkal kompaktabb kládot alkotnak, kizárólag tulipánról származó szekvenciák vannak, a holland, magyar és japán izolátumok egy fő ágon helyezkednek el.

A törzsfán lévő kládok és a CP gén nukleotid sorrend azonosságok alapján a 3 vírus önálló fajt alkot, ami összhangban van az ICTV 10.

jelentésével (Wylie és mtsai. 2017) és A_{DAMS} és munkatársainak eredményeivel (2005).

Összefoglalás

Kísérő tünetek tekintetében eredményeink jelentős mértékben megegyeztek az irodalmi adatokkal (de Best és mtsai. 2000, Bloembollenkeuringsdienst (BKD) 2010a, 2019, Némethy 1990, 1994a, 1994b). A vírus faja és a fajtákon megfigyelt tünetek között nem volt összefüggés. Egy azon tulipánfajtán azonos vírussal való fertőződés esetén is változatos tünetek jelentkeztek, valamint különböző vírussal azonos fajtán okoztak azonos tüneteket is. Ezen eredményeink alapján javasoljuk, hogy a betegség magyar neve a tulipán szintörés szindroma legyen.

Molekuláris vizsgálataink alapján három vírussal sikerült azonosítanunk (tulipán szintörés vírus, Rembrandt tulipán szintörés vírus és lilium foltosság vírus), ezek közül két faj (tulipán szintörés vírus, lilium foltosság vírus) széleskörűen elterjedt az országban (1. ábra). A populáció vizsgálatok alapján megállapítottuk, hogy a tulipán szintörés vírus és lilium foltosság vírus egy populáción belül azonos

mértékben van jelen, és nincs fajta preferenciájuk. A vírusok országos eloszlása véletlenszerű, gyakoriságuk azonos.

A filogenetikai elemzések során a törzsfán (2. ábra) a három vírusról jól elkülönült, melyet a magas Bootstrap értékek is igazoltak. Továbbá látható, hogy mindhárom faj egy közös ősről vezethető vissza (2. ábra), így eredményeink alapján a Rembrandt tulipán szintörös vírus faj szintre emelhető.

Vizsgálataink RIVAS és munkatársainak eredményeit támasztják alá (2016), a lilium foltosság vírus esetében, ahol két alcsoportot (I. és II.) sikerült azonosítani, az izolátumok filogenetikai helyzete megegyezik a korábbi eredményekkel.

Köszönetnyilvánítás

A tanulmány alapjául szolgáló kutatást az Innovációs és Technológiai Minisztérium támogatta a Tématerületi Kiválósági Program 2020-Intézményi Kiválóság Alprogram (TKP2020-IKA-12) növénynevelés, növényvédelemmel kapcsolatos kutatások tématerületi programja keretében.

IRODALOM

- Adams, M. J.** (2006): DPVweb: a comprehensive database of plant and fungal virus genes and genomes. *Nucleic Acids Research*, 34(90001): D382–D385. <https://doi.org/10.1093/nar/gkj023>
- Adams, M.J., Antoniw, J.F. and Beaudoin, F.** (2005): Overview and analysis of the polyprotein cleavage sites in the family Potyviridae. *Molecular Plant Pathology*, 6(4): 471–487. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2005.00296.x>
- Adams, M.J., Antoniw, J.F. and Fauquet, C.M.** (2005): Molecular criteria for genus and species discrimination within the family Potyviridae. *Archives of Virology*, 150(3): 459–479. <https://doi.org/10.1007/s00705-004-0440-6>
- Ágoston J.** (2021): Hagymás és gumós dísznövények Potyvirus fertőzőképességének felmérése (PhD) (2021. május 11.): Hungarian University of Agriculture and Life Sciences, Institute of Plant Protection, Department of Plant Pathology, Gödöllő, Hungary. Elérés forrás https://uni-mate.hu/sites/default/files/agoston_janos_disszertacio.pdf
- Atlas, R.M.** (2010): Handbook of microbiological media (2010): (4. kiad.). Washington, D.C. : Boca Raton, FL: ASM Press ; CRC Press/Taylor & Francis. ISBN 978-1-4398-0406-3
- Baardse, A.A. and Krabbendam, P.** (1967): *Eenvoudig leerboek voor de bloembollenteelt: algemeen gedeelte, tulp, hyacint, narcis, gladiool en boliris* (1967): (2. kiad.). Zwolle: Tjeenk Willink.
- Bálint J., Bognár S., Farkas K., Folk Gy., Glits M., Imre K., Kerényiné Nemestóthy K., Klenczner A., Mészáros F., Ördögh G., Pais I., Rédei I., Sólyom L., Terpó-Pomogyi M., Tóth Á. és Z. Kiss L.** (1978): *Kertészeti növényvédelem* (Bognár S., Szerk. 1978): Budapest: Mezőgazdasági Kiadó. ISBN 963-230-380-6
- Basky Z. and Almási A.** (2005): Differences in aphid transmissibility and translocation between PVY-N and PVY-O isolates. *Journal of Pest Science*, 78(2): 67–75. <https://doi.org/10.1007/s10340-004-0070-5>
- de Best, A.L.L.C., Zwart, M.J., van Aartrijk, J., van den Ende, J.E. and Peeters, J.M.M.** (2000): *Ziekten en afwijkingen bij bolgewassen: Liliaceae* (2000): (Köt. 1). Lisse: Laboratorium voor Bloembollenteelt.
- Bloembollenkeuringsdienst (BKD)** (2010a, április 28): Informatie TBV. Elérés 2020. január 5., forrás <https://www.bkd.eu/wp-content/uploads/2019/04/tbv-beelden-tulp.pdf>
- Bloembollenkeuringsdienst (BKD)** (2010b, április 28): Knollenmozaïekvirus in tulp, een zeldzaam verschijnsel. [official authority]. Elérés 2010. április 28., forrás http://www.bkd.eu/Pages/04_Gewasinformatie/04_Knollenmozaic3%afe
- Bloembollenkeuringsdienst (BKD)** (2014): Uitvoeringsrichtlijn *Tulipa* 2014 (2014. július 9.): (o. 9). Lisse.
- Bloembollenkeuringsdienst (BKD)** (2019, május 3): TBV beelden in nabloei – BKD. [official authority]. Elérés 2019. május 3., forrás <http://www.bkd.eu/gewassen/tulp/tbv-beelden-nabloei>
- Bos, L.** (1995): Viruses of ornamentals: historical perspectives. In **Loebenstein, G., Lawson, R. H. and Brunt, A. A.** (Eds) (1995): *Virus and virus like diseases of bulb and flower crops* (o. 15–22). Chichester: Wiley. ISBN 978-0-471-95293-0
- Brierley, P. and McKay, M.B.** (1938): Experiments with aphids as vectors of tulip breaking. *Phytopathology*, 28(2): 123–129 pp.
- Brunt, A.A.** (Ed) (1996): *Viruses of plants: descriptions and lists from the VIDE database* (1996): Wallingford, Oxon, UK: CAB International. ISBN 978-0-85198-794-1
- Bryan, J. E.** (2002): *Bulbs* (2002): (Rev. ed). Portland, Or: Timber Press. ISBN 978-0-88192-529-6
- Bryan, J.E.** (2005): *Timber Press pocket guide to bulbs* (2005): Portland, Or: Timber Press. ISBN 978-0-88192-725-2
- Byther, R.S. and Chastagner, G.A.** (1993): *Diseases. In de Hertogh, A.A. and le Nard, M.* (Eds) (1993): *The physiology of flower bulbs: a comprehensive*

- treatise on the physiology and utilization of ornamental flowering bulbous and tuberous plants (o. 71–99). Amsterdam: Elsevier. ISBN 978-0-444-87498-6
- Cayley, D.M.** (1928a): „Breaking” in tulips. *Annals of Applied Biology*, 15(4): 529–539. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1928.tb07775.x>
- Cayley, D.M.** (1928b): „Breaking” in tulips. *The Gardener’s Chronicle*, 83 435–436.
- Cayley, D.M.** (1932): „Breaking” in tulips II. *Annals of Applied Biology*, 19(2): 153–172. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1932.tb04313.x>
- Clusius, C.** (1576): *Caroli Clusii Atrebat Rariorum alioquot stirpium per Hispanias observatarum historia, libris duobus expressas ad Maximilianum II. Imperatorem* (1576): Antverpiae: Ex officina Christophori Plantini, Architypographi Regij. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.847>
- Dekker, E.L., Derks, A.F.L.M., Asjes, C.J., Lemmers, M.E.C., Bol, J.F. and Langeveld, S.A.** (1993): Characterization of potyviruses from tulip and lily which cause flower-breaking. *Journal of General Virology*, 74 881–887. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-74-5-881>
- Dennin, T.** (2019): From tulips to bitcoins: a history of fortunes made and lost in commodity markets (2019): ISBN 978-1-63299-227-7
- Dufrénoy, J.** (1931): *Mosaïque des tulipes. Comptes rendus des séances de la Société de biologie et de ses filiales*, 108 51–53.
- Fauquet, C.M., Mayo, M.A., Maniloff, J., Desselberger, U. and Ball, L.A.** (Eds) (2005): *Virus taxonomy. Eighth report of the International Committee on the Taxonomy of Virus* (2005): Amsterdam: Elsevier Academic Press. ISBN 978-0-12-249951-7
- Felsenstein, J.** (1981): Evolutionary trees from DNA sequences: A maximum likelihood approach. *Journal of Molecular Evolution*, 17(6): 368–376. <https://doi.org/10.1007/BF01734359>
- Felsenstein, J.** (1985): Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*, 39(4): 783–791. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1985.tb00420.x>
- Fenner, F.** (Ed) (1976): *Classification and Nomenclature of Viruses: Second Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses* (1976. november 23.): Basel, Switzerland: S. Karger AG. ISBN 978-3-8055-2418-6 <https://doi.org/10.1159/isbn.978-3-8055-8846-1>
- de Geuss, T.** (2017): *De teelt van tulpen* (2017): Hillegom: Stichting Bollenacademie. ISBN 8717247011509
- Gleason, M.L., Daughtrey, M.L., Chase, A.R., Moorman, G.W. and Mueller, D.S.** (2009): Diseases of herbaceous perennials (2009): St. Paul: APS Press. ISBN 978-0-89054-374-0
- Guindon, S. and Gascuel, O.** (2003): A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by Maximum Likelihood. *Systematic Biology*, 52(5): 696–704. <https://doi.org/10.1080/10635150390235520>
- Hámori Z.** (2006): *Felszedés nélkül tartott tulipánok életképessége és hosszú távú túlélési esélyei* (PhD) (2006. június 13.): Budapesti Corvinus Egyetem, Budapest.
- de Hertogh, A.A. and le Nard, M.** (1993): *Tulipa*. In **de Hertogh, A.A. and le Nard, M.** (Eds) (1993): *The physiology of flower bulbs: a comprehensive treatise on the physiology and utilization of ornamental flowering bulbous and tuberous plants* (o. 617–682). Amsterdam: Elsevier. ISBN 978-0-444-87498-6
- Hessayon, D.G.** (1997): *Hagymás növények* (Preiringer É., Ford. 1997): Budapest: Park Könyvkiadó. ISBN 963-530-221-5
- Honfi P., Kohut I., Mosonyi I. D., Ördögh M., Steiner M., Sütöriné Diószegi M. és Tillyné Mándy A.** (2014): *Modern dísznövénytermesztés és kereskedelem* (2014. szeptember 11.): Budapest: Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar, Dísznövénytermesztési és Dendrológiai Tanszék. ISBN 978-963-503-537-3
- Hoog, J.** (1933): The breaking of tulips. *The Gardener’s Chronicle*, 94 471.
- Hop, M.** (2018): *De veredeling van bloembollen* (2018): Hillegom: Stichting Bollenacademie. ISBN 8717247013442
- Horst, R.K.** (2013): *Westcott’s Plant Disease Handbook* (2013): Dordrecht: Springer Netherlands. ISBN 978-94-007-2140-1 <https://doi.org/10.1007/978-94-007-2141-8>
- Horváth J. és Gáborjányi R.** (1999): *Növényvírusok és virológiai vizsgálati módszerek* (1999): Budapest: Mezőgazda Kiadó. ISBN 978-963-9239-37-1
- ICTV Report Consortium** (2003): *Fast track proposals from the Potyviridae SG - 2003.P016-029.* (2003): <https://talk.ictvonline.org/ictv/proposals/2003.P016-029.Potyviridae.pdf>
- International Association of Horticultural Producers (AIPH)** (2018): *International statistics: flowers and plants 2018* (2018. december 5.): (Köt. 66). Hannover: International Association of Horticultural Producers (AIPH). ISBN 978-1-916480-70-4
- Jelitto, L., Schacht, W., Epp, M.E., Baumgardt, J.P. and Fessler, A.** (1995): *Hardy herbaceous perennials* (1995): Portland, Or: Timber Press. ISBN 978-0-88192-159-5

- Jordan, R.** and **Hammond, J.** (1991): Comparison and differentiation of potyvirus isolates and identification of strain-, virus-, subgroup-specific and potyvirus group-common epitopes using monoclonal antibodies. *Journal of General Virology*, 72(1): 25–36. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-72-1-25>
- Komiszár L.** (2003): *Virághagymatermesztés* (2003): Budapest: Szent István Egyetem, Kertészettudományi Kar, Dísznövénytermesztés és Dendrológia Tanszék.
- Koninklijke Algemeene Vereeniging voor Bloembollencultuur (KAVB)** (2021): *Ornamental Plant Database* (2021): Hillegom: Koninklijke Algemeene Vereeniging voor Bloembollencultuur (KAVB). <https://www.kavb.nl/siergewassen>
- Krabendam, P.** and **Baardse, A.A.** (1966): *Bloembollenteelt / 2, De tulp.* (1966): (15. kiad.). Zwolle: Tjeenk Willink.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C. and Tamura, K.** (2018): MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6): 1547–1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Larkin, M.A., Blackshields, G., Brown, N. P., Chenna, R., McGettigan, P.A., McWilliam, H., Valentin, F., Wallace, I.M., Wilm, A., Lopez, R., Thompson, J.D., Gibson, T.J. and Higgins, D.G.** (2007): ClustalW and ClustalX version 2.0. *Bioinformatics*, 23(21): 2947–2948. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm404>
- van der Lee, H.** (2019): *Bollenrevolutie start op Mechanisatiebeurs.* *Greenity*, 32 50.
- Lesnaw, J.A.** and **Ghabrial, S.A.** (2000): Tulip breaking: Past, present, and future. *Plant Disease*, 84(10): 1052–1060. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2000.84.10.1052>
- Lippay J.** (1753): *Posoni Kert. Mellyben minden Kerti Munkák, Rendelések, Virágokkal, Veteményekkel, Fákkel, Gyümölcsökkel, és Kerti Csemetékkel való bajmólódások: azonak Nemek, Nevek, hasznok, bé-csinálások bőségesen Magyar nyelven nagy haszonnal le-irattatnak, kiváltképen azok, a'mellyek Esztergami Érsek Urnak Lippai György Hertzeg Ur Ó Nagyságának Kertében akkori údóben találtattak.* (1753): Győrött: Striebig Gergely János, Királyi, Püspöki és Városi privil. Könyv-nyomatató.
- Mayo, M.A.** (2005): Changes to virus taxonomy 2004. *Archives of Virology*, 150(1): 189–198. <https://doi.org/10.1007/s00705-004-0429-1>
- McGovern, R.J.** and **Elmer, W.H.** (2018): Diseases of Tulip. In **McGovern, R.J.** and **Elmer, W.H.** (Eds) (2018): *Handbook of Florists' Crops Diseases* (o. 1313–1337). Cham: Springer International Publishing. ISBN 978-3-319-39668-2 https://doi.org/10.1007/978-3-319-39670-5_49
- McKay, M.B., Brierley, P. and Dijkstra, T.P.** (1929): Tulip „breaking” is proved to be caused by mosaic infection. In **Eisenhower, M.S.** and **Chew, A.P.** (Eds) (1929): *Yearbook of Agriculture 1928* (o. 596–597). Washington: United States Department of Agriculture.
- Moelling, K.** (2016): Tulipomania - the first financial crisis by viruses. *Revue Roumaine De Chimie*, 61(8–9): 637–645.
- Morgulis, A., Coulouris, G., Raytselis, Y., Madden, T.L., Agarwala, R. and Schäffer, A.A.** (2008): Database indexing for production MegaBLAST searches. *Bioinformatics*, 24(16): 1757–1764. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btn322>
- Mowat, W.P.** (1995): Tulip. In **Loebenstein, G., Lawson, R.H.** and **Brunt, A.A.** (Eds) (1995): *Virus and virus like diseases of bulb and flower crops* (o. 352–383). Chichester: Wiley. ISBN 978-0-471-95293-0
- Mowat, W.P., Duncan, G.H. and Dawson, S.** (1988): Narcissus late season yellows potyvirus – symptoms, properties and serological detection. *Annals of Applied Biology*, 113(3): 531–544. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1988.tb03330.x>
- Murphy, F.A., Fauquet, C.M., Bishop, D.H.L., Ghabrial, S.A., Jarvis, A.W., Martelli, G.P., Mayo, M.A. and Summers, M.D.** (Eds) (1995): *Virus Taxonomy. Sixth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses.* (1995): Vienna: Springer Vienna. ISBN 978-3-211-82594-5 <https://doi.org/10.1007/978-3-7091-6607-9>
- Nei, M.** and **Kumar, S.** (2000): *Molecular evolution and phylogenetics* (2000): Oxford; New York: Oxford University Press. ISBN 978-0-19-513584-8
- Némethy Zs.** (1990): A tulipán színtörés vírus (tulip breaking virus) előfordulása és tünetei tulipánon. In (1990. november 8.): *Lippay János Tudományos Ülésszak* (o. 197). Budapest, Hungary: Kertészeti és Élelmiszeripari Egyetem.
- Némethy Zs.** (1992): Tulipán vírusbetegségeinek hazai előfordulása. In (1992. február 26.): *Növényvédelmi Tudományos Napok 1992* (Köt. 38, o. 98). Budapest, Hungary.
- Némethy Zs.** (1994a): Survey on virus diseases of bulbous flowers in Hungary. *Acta Horticulturae*, 377 267–274. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1994.377.45>
- Némethy Zs.** (1994b): Vírusos tulipánok. *Kertészet és Szőlészet*, 49(12): 5–6.
- Ohira, K., Namba, S., Miyagawa, M., Kusumi, T. and Tsuchiaki, T.** (1994): Nucleotide-sequence of

- the coat protein-coding region of Tulip breaking virus. *Virus Genes*, 8(2): 165–167. <https://doi.org/10.1007/BF01703074>
- Okonechnikov, K., Golosova, O. and Fursov, M.** (2012): Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics*, 28(8): 1166–1167. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts091>
- Polder, G., van der Heijden, G.W.A.M., van Doorn, J., Clevers, J.G.P.W., van der Schoor, R. and Baltissen, T.A.H.M.C.** (2010): Detection of the tulip breaking virus (TBV) in tulips using optical sensors. *Precision Agriculture*, 11(4): 397–412. <https://doi.org/10.1007/s11119-010-9169-2>
- Polder, G., van der Heijden, G.W.A.M., van Doorn, J. and Baltissen, T.A.H.M.C.** (2014): Automatic detection of Tulip breaking virus (TBV) in tulip fields using machine vision. *Biosystems Engineering*, 117 35–42. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2013.05.010>
- Polder, G., van der Heijden, Gerie, G.W.A.M., van Doorn, Joop, J. and Baltissen, T.A.H.M.C.** (2012): Automatic detection of tulip breaking virus (TBV) in tulip fields using machine vision (2012): <http://edepot.wur.nl/244613>
- Polder, G., Westeringh, N. van de, Kool, J., Khan, H.A., Kootstra, G. and Nieuwenhuizen, A.** (2019): Automatic Detection of Tulip Breaking Virus (TBV) Using a Deep Convolutional Neural Network. *IFAC-PapersOnLine*, 52(30): 12–17. <https://doi.org/10.1016/j.ifacol.2019.12.482>
- Pollan, M.** (2001): *The botany of desire a plant's eye view of the world* (2001): New York: Random House. ISBN 978-1-58836-008-3
- van Regenmortel, M.H.V., Fauquet, C.M., Bishop, D.H.L., Carstens, E.B., Estes, M.K., Lemon, S.M., Maniloff, J., Mayo, M.A., McGeoch, D.J., Pringle, C.R. and Wickner, R.B.** (Eds) (2000): *Virus taxonomy. Seventh report of the International Committee on Taxonomy of Viruses* (2000): San Diego: Acad. Press. ISBN 978-0-12-370200-5 <https://doi.org/10.1007/s007050170203>
- van Rijn, R.** (1634): *Flora* [Oil paint]
- Rivas, E.B., de Almeida Bôdi, E.C., Harakava, R., Gregori, F. and Gonçalves, M.C.** (2016): Occurrence and molecular analysis of quarantine virus in lily cultivation areas in Brazil. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 51(5): 615–622. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2016000500023>
- Salamon P. és Palkovics L.** (2005): Occurrence of Colombian datura virus in *Brugmansia* hybrids, *Physalis peruviana* L. and *Solanum muricatum* Ait. in Hungary. *Acta Virologica*, 49(2): 117–122.
- Sambrook, J. and Russell, D.W.** (2001): *Molecular cloning: a laboratory manual* (2001): (3. kiad., Köt. 1–3). Cold Spring Harbor, N.Y: Cold Spring Harbor Laboratory Press. ISBN 978-0-87969-577-4
- Sanger, F. and Coulson, A.R.** (1975): A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. *Journal of Molecular Biology*, 94(3): 441–448. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(75\)90213-2](https://doi.org/10.1016/0022-2836(75)90213-2)
- Sastry, K.S., Mandal, B., Hammond, J., Scott, S.W. and Briddon, R.W.** (2019): *Encyclopedia of Plant Viruses and Viroids* (2019): New Delhi: Springer India. ISBN 978-81-322-3911-6 <https://doi.org/10.1007/978-81-322-3912-3>
- van Scheepen, J.** (1996): *Classified list and international register of Tulip names* (1996): Hillegom: Koninklijke Algemeene Vereeniging voor Bloembollencultuur (KAVB). ISBN 978-90-73350-02-1
- Schmidt G., Boróczky M., Gerzson L., Hámori Z., Imre Cs., Jámborné Benczúr E., Komiszár L., Nagy T., Neményi A., Szafián Zs., Szántó M., Szóriné Zielińska A., Tillyné Mándy A., Tóth I. és Turiné Farkas Zs.** (2000): *Növényházi dísznövények termesztése* (Schmidt G., Szerk. 2000): Budapest: Mezőgazda Kiadó. ISBN 978-963-9358-63-8
- Tamura, K. and Nei, M.** (1993): Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution*. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040023>
- Thompson, J.D., Higgins, D.G. and Gibson, T.J.** (1994): CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 22(22): 4673–4680. <https://doi.org/10.1093/nar/22.22.4673>
- Valverde, R.A., Sabanadzovic, S. and Hammond, J.** (2012): Viruses that enhance the aesthetics of some ornamental plants: beauty or beast? *Plant Disease*, 96(5): 600–611. <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-11-0928-FE>
- van der Veer, R.** (2019): *In het spoor van Tesla en Google: Bollenrevolutie 4.0 brengt nieuwe technologieën samen*. Greenity, 34 36–38.
- Walker, S.E. and Lorsch, J.** (2013): *Sanger Dideoxy Sequencing of DNA*. In (2013): *Methods in Enzymology* (Köt. 529, o. 171–184). Elsevier. ISBN 978-0-12-418687-3 <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-418687-3.00014-8>
- WCSP** (2020): *World checklist of selected plant families* (2020): Kew: Royal Botanic Gardens. <http://wcsp.science.kew.org/>

- White, J.L. and Kaper, J.M.** (1989): A simple method for detection of viral satellite RNAs in small plant tissue samples. *Journal of Virological Methods*, 23(2): 83–93. [https://doi.org/10.1016/0166-0934\(89\)90122-5](https://doi.org/10.1016/0166-0934(89)90122-5)
- Wylie, S.J., Adams, M.J., Chalam, C., Kreuze, J., López-Moya, J.J., Ohshima, K., Praveen, S., Rabenstein, F., Stenger, D., Wang, A., Zerbini, F.M. and ICTV Report Consortium** (2017): ICTV Virus Taxonomy Profile: *Potyviridae*. *Journal of General Virology*, 98(3): 352–354. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000740>
- Zevenbergen, G.** (2019): Robot op bollenbeurs. *Landbouwmecanisatie : vakblad voor akkerbouwers, veehouders en loonwerkers*, 70(2): 16–17.
- Zheng, H.Y., Chen, J., Zhao, M.F., Lin, L., Chen, J.P., Antoniw, J. F. and Adams, M.J.** (2003): Occurrence and sequences of Lily mottle virus and Lily symptomless virus in plants grown from imported bulbs in Zhejiang province, China. *Archives of Virology*, 148(12): 2419–2428. <https://doi.org/10.1007/s00705-003-0207-5>

IDENTIFICATION AND PHYLOGENETIC RELATIONS OF VIRUSES CAUSING TULIP BREAKING SYNDROME BASED ON HUNGARIAN AND DUTCH SAMPLES

J. Ágoston¹, A. Almási², K. Salánki² and L. Palkovics³

¹John von Neumann University, Faculty of Horticulture and Rural Development, Department of Agriculture, H-6000 Kecskemét, Mészöly Gyula square 1-3. Hungary

²Eötvös Lóránd Research Network, Centre for Agricultural Research, Plant Protection Institute, Department of Plant Pathology, H-1022 Budapest, Herman Ottó road 15. Hungary

³Széchenyi István University, Faculty of Agriculture and Food Sciences, Department of Plant Sciences, H-9200 Mosonmagyaróvár, Vár square 2. Hungary

Tulips are economically the most important bulbous ornamental plants. Tulips – as all bulbous ornamental plants – are propagated vegetatively under open-field conditions. Cultivars are propagated only vegetatively to keep them true to name and uniform – but this propagation method is slow – the cultivation is suffering by the accumulation of pathogens, especially deterioration by viruses. Our samples were collected in 2014 in the Netherlands, and in 2017 and 2018 in Hungary. First samples were subjected to potyvirus group specific ELISA tests, simultaneously laboratory test plants have been sap-inoculated (*Chenopodium foetidum*, *Ch. murale*, *Nicotiana benthamiana*, *N. tabacum* 'Xanthi'), symptoms were observed during a 5-week period. After nucleic acid extraction Potyvirus genus specific RT-PCR tests were carried out. The resulting PCR products were isolated from gel and then ligated into pGEM®-T Easy vector, then they were cloned, and the nucleotide sequences of the inserts were determined, after annotation the sequences were uploaded to GenBank. For phylogenetic analysis, we used the MEGA X program. First, we aligned the complete coat protein region of the identified viruses, then we built Maximum Likelihood tree. The reliability of the tree was tested with the Bootstrap method. As a result of our investigations, we were able to identify 3 virus species: *Tulip breaking virus*, *Lily mottle virus* and Rembrandt tulip-breaking virus. When examining the relationships between species and isolates in the case of *Lily mottle virus* we were able to confirm the existence of the two subgroups, which coincides with the reporting of RIVAS et al., moreover we were able to identify two subgroups in the case of Rembrandt tulip-breaking virus.

Keywords: tulip, *Tulipa*, Rembrandt tulip-breaking virus, *Tulip breaking virus*, *Lily mottle virus*, *Potyvirus*, Hungary

Érkezett: 2021. szeptember 27.

A KÖLES, MINT VÍRUSREZERVOÁR GYOMNÖVÉNY*

Pásztor György, Nagyné Galbács Zsuzsanna, Kossuth Tamás, Demián Emese, Nádasy Erzsébet, Takács András Péter és Várallyay Éva

Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Növényvédelmi Intézet, 1118 Budapest, Ménesi út 44.
e-mail: varallyay.eva@uni-mate.hu

A köles a vetemények veszélyes gyomnövénye. Magja dormancia nélkül is csírázásra képes, ezért könnyen terjed és bukkann fel kukorica, búza és más gabona ültetvényeken is. Korábbi felméréseink, melyben DAS-ELISA tesztekkel vizsgáltuk a gyomként kelő kölesek vírusfertőzöttségét azt mutatták, hogy a köles vírusrezervoár szereppel is bírhat. Azokban a tanulmányokban a vírusok jelenlétére jellemző tünetek megjelenésére koncentráltunk, a használt szerológiai tesztek pedig csak arra adhat- tak választ, hogy a vizsgált patogén jelen van-e a vizsgált mintában. Jelen kutatásunkban egy másik, metagenomikai módszert, a kis RNS-ek (sRNS-ek) nagy-áteresztőképességű szekvenálását (high-throughput sequencing – HTS) használtuk vírusdiagnosztikai céllal. Ehhez két kukoricatáblában gyűjtöttünk mintákat az ott árvelésként növő törpülést, klorózist, levélcsikosságot mutató, vagy tünetmentes köleseről. Eredményeink három vírus jelenlétét mutatták ki, amit független módszerrel, RT-PCR-rel is visszaigazoltunk, nemcsak az adott területre, hanem az összes mintázott növényre vonatkozóan. A búza csíkos mozaik vírus (WSMV) jelenlétén kívül két olyan vírust: az árpa sárga csíkos mozaik vírus (BYSMV) és az árpa G vírus (BVG) is azonosítottunk, melyek jelenléte Magyarországon eddig nem volt ismert.

Eredményeink megerősítik korábbi megállapításainkat és felhívják a figyelmet arra, hogy a köles, mint gyom vírusrezervoárként megjelenve fokozott fertőzési kockázatot jelent, ezért gabona- földéken való növekedését s megjelenését szigorúan kontrollálni kell.

Kulcsszavak: köles, gyom, vírus, kis RNS HTS

A termesztett kölest (*Panicum miliaceum*) világszerte nagy mennyiségben termesztik, állati takarmánycént, illetve alternatív gabona- növényként hasznosítják. A növénytermesztés intenzívvé válásának eredményeként a termesztett változatok kivadultak, valamint felszapo- rodtak a gyomként megjelenő fajok is, melynek következtében a fajcsoport az utóbbi évtize- dekben veszélyes gyomnövényé vált (Ryves és mtsai 1996; Van De Wouw és mtsai 2008; Novák és mtsai 2009; Moravcová és mtsai 2010).

Jelenleg a kölesfajok közül a *Panicum miliaceum* subsp. *miliaceum*-ot termesztik, de közel 50 gyomosító fajt tartanak számon

(*P. capillare*, *P. ruderales*, *P. dichotomiflorum*) (Novák és mtsai 2011).

A kölest több vírus is fertőzheti. Annak érdekében, hogy meg tudjuk határozni a köles vírusrezervoár szerepét, korábbi munkáinkban DAS ELISA módszer segítségével vizsgáltunk 45 kölesmintát. A teljes mintamennyiségből 19 mintából tudunk búza csíkos mozaik vírust (*Wheat streak mosaic virus* – WSMV), búza törpülés vírust (*Wheat dwarf virus* – WDV), árpa csíkos mozaik vírust (*Barley stripe mosaic virus* – BSMV), árpa sárga törpülés vírust (*Barley yellow dwarf virus* – BYDV) valamint rozsnok csíkos mozaik vírust (*Brome streak mosaic virus* – BStMV) önmagában, vagy

*A közleményt Gáborjányi Richardnak ajánljuk 80. születésnapja alkalmából.

komplex fertőzősként kimutatnunk (Pásztor és mtsai 2017).

Míg a szerológiai vizsgálatok csak a vizsgált kórokozó jelenlétét tárják fel, az új, metagenomikai alapú vizsgálatok leírhatják az összes jelenlévő vírust, még akkor is, ha jelenlétük nem volt egyértelmű (a vizsgált minta nem mutatott tüneteket, a szerológiai módszerek nem voltak képesek kimutatni a vírust) (Roosinck és mtsai 2015). A nagy áteresztőképességű szekvenálás (HTS) biztosítja a technikai háttérrel az ilyen típusú vizsgálatokhoz. A vírusfertőzés során a növények RNS-alapú védelmi rendszere kis, a fertőző vírusokkal azonos szekvenciájú interferáló RNS-eket (siRNS) állít elő (Pooggin, 2018). Ennek eredményeként a kis RNS (sRNS) HTS széles körben elterjedt vírusdiagnosztikai módszerré vált (Massart és mtsai 2018). Bár a gazdaszervezet RNS interferencia folyamatai hatékonyan működnek a behatoló vírusok ellen, kimutatták, hogy a siRNS-ek túlnyomórészt a nagymértékben strukturált egyszálú vírus RNS-ből (Molnár és mtsai 2005) származnak, és az sRNS megközelítés nem mindig képes teljes mértékben és megbízhatóan rekonstruálni a fertőző vírus teljes genomját, különösen, ha az komplex fertőzésben van jelen. A búza és az árpa sRNS HTS viromjának elemzése számos vírus első leírásához vezetett (Golyaev és mtsai 2019; Singh és mtsai 2020), kiemelve az ilyen típusú vizsgálatok fontosságát.

Míg a kultúrnövények vírusfertőzöttségét széles körben vizsgálják, a természetes flóra viromjaival kapcsolatos ismeretek korlátozottak. Egy úttörő metagenomikai tanulmány, amely a mezőgazdaságnak a vírusok eloszlására és elterjedtségére gyakorolt hatását vizsgálta, arra a következtetésre jutott, hogy a művelésbe vont területeken nagyobb a vírusok előfordulása, és hogy a mezőgazdaságilag fontos vírusok a nem kultúrfajokat is megfertőzik (Bernardo és mtsai 2018). Ugyan széles körben elfogadott az őshonos, vagy invazív gyomok jelentősége a vírusok eloszlásában, elterjedésében és sokféleségében, ezt a kérdést kísérletesen nem vizsgálták részleteiben.

A WSMV, a *Potyviridae* család *Tritimovirus* nemzettségéhez tartozó faj, világszerte pusztító kórokozó a búzatermesztő régiókban. Magyarországon az 1980-as években diagnosztizálták (Nyitrai és Gáborjányi, 1988). Maggal történő átvitele nem jelentős, de könnyen terjedhet a polifág *Aceria tosichella* vektorral (Navia és mtsai 2013). A vírus és a vektor gazdanövényköre széles, beleértve a kölest és a fűféléket, még az évelőket is, amelyeken áttelelhetnek (Chalupniková és mtsai 2017; Singh és mtsai 2018).

Az árpa sárga csíkos mozaik vírus (*Barley yellow striate mosaic virus* – BYSMV) *Cytorhabdovirus*, amelynek negatív egyszálú RNS genomja van. Elsőként a *Laodelphax striatellus* fajból mutatták ki (Conti, 1969). Bár létezését már sok évvel ezelőtt bizonyították, a BYSMV teljes genomját csak 2015-ben határozták meg sRNS HTS és RT-PCR segítségével (Yan és mtsai 2015). Elsőként Olaszországban és Franciaországban írták le (Conti, 1969), a BYSMV főként Ázsiában, Törökországban (Makkouk és mtsai 1996), Iránban (Almasi és mtsai 2010; Izadpanah és mtsai 1991), Szíriában (Makkouk és mtsai 2004), valamint Kínában (Di és mtsai, 2014) és Marokkóban (Lockhart és mtsai, 1986) okoz komoly problémát, azonban a mai napig nem írták le Magyarországon. A BYSMV azonosítása elsősorban tüneteken és szerológiai vizsgálatokon alapul. A szekvenciainformációk lehetővé tették, hogy megállapítsák, hogy a BYSMV nagyon magas szekvencia-egyezőséssel rendelkezik a kukorica steril törpülés vírussal (*Maize sterile stunt virus* – MSSV) szemben, így ugyanazon vírus különböző törzseinek tekinthetők. A BYSMV-t kölesből is leírták (Izadpanah és mtsai, 1991).

Az árpa G vírust (*Barley virus G* – BVG), egy nemrég leírt polerovírust először Dél-Koreában találták meg árpában (Zhao és mtsai 2016). Ezt követően termesztett (*P. miliaceum*) (Park és mtsai, 2016) és olasz kölesben (*Setaria italica*) (Oh és mtsai, 2017), valamint Ausztráliában árpában és zabban (Nancarrow és mtsai, 2019) találták meg. Hollandiában is kimutatták, ahol egy importált, tüneteket mutató *Panicum*

virgatum növényben azonosították (Kumar és mtsai 2017).

Munkánkban tovább vizsgáltuk a természetes köles gyomosító változatának lehetséges vírusrezervoár szerepét két területről, az sRNS HTS-t használva diagnosztikai módszerként annak érdekében, hogy a mintákban jelenlevő összes vírust kimutassuk. Az eredmények megerősítették a WSMV fokozott jelenlétét. Továbbá Magyarországon elsőként diagnosztizáltuk a BYSMV-t és a BVG-t.

Anyag és módszer

Növényanyag és mintaelőkészítés

A növényi mintákat két magyarországi helyszínről gyűjtöttük 2019 augusztusában. Mindkét helyszínen, „Büdös-árok” (BÁ) és „Újmajor-susnyás” (ÚS), 10–10 növényegyedet mintáztunk meg véletlenszerűen. A leveleket a gyökérrel és köles maggal együtt gyűjtöttük, amennyiben ez lehetséges volt. A köles mintákból az RNS-t fenol kloroformos módszerrel izoláltuk. (White és Kaper, 1989). Az izolált össznukleinsavat felhasználásig $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tároltuk.

sRNS könyvtár készítés és szekvenálás

Az egyedekre jellemző RNS keverékeket úgy készítettük, hogy egy növény különböző szerveiből azonos mennyiségű RNS-t kevertünk össze. Az összegyűjtött mintákból a mintavételi hely szerinti keverékeket ugyanazzal a stratégiával állítottuk elő, egyenlő mennyiségű RNS-t kevertünk össze az adott helyen lévő megmintázott növényegyedből.

Ezeket a keverékeket használtuk az sRNS könyvtár készítéshez. Az sRNS frakciók poliakrilamid-gélelektroforézissel történő izolálása után, saját, módosított protokollunk alapján, amely TruSeq Small RNA Library Preparation Kit (Illumina) leírásán alapul, két sRNS könyvtárat készítettünk. (Czotter és mtsai 2018) A sRNS könyvtárak szekvenálását HiScanSQ-val végeztettük, UD-Genomed által (Debrecen, Hungary) (50-bp, single-end

szekvenálás). FASTQ file-ok bekerültek a GEO adatbázisába és a GSE147185 hozzáférési számon elérhetőek.

A HTS eredmények bioinformatikai elemzése

A HTS eredmények bioinformatikai elemzését CLC Genomic Workbench (Qiagen) segítségével végeztük.

Az olvasatok minőségellenőrzése után a nem redundáns sRNS olvasatokból hosszabb szakaszokat, kontigokat építettünk. Azon vírusok esetében, amelyeket legalább egy kontig reprezentált, az olvasatokat közvetlenül a referenciagenomhoz térképeztük, és megállapítottuk a normalizált redundáns readok számát (read/millió read) A térképezés során konszenzus szekvenciát is készítettünk, amelyet a vírus genom lefedettségének (%) kiszámítására használtunk. Ha a következők közül i/vírus specifikus kontig jelenlét, ii/a normalizált vírus specifikus redundáns olvasatok száma >200 , iii/ a vírus genom lefedettsége $>60\%$, legalább két paraméter teljesült, akkor tovább vizsgáltuk a vírus jelenlététegy független módszerrel, RT-PCR-rel.

Vírus diagnosztika RT-PCR-rel

Az sRNS HTS-hez használt, a mintavételi területet és a mintázott növényeket reprezentáló RNS keverékeket templátként használva, random primerekkel, RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Fisher Scientific, USA) segítségével cDNS-t szintetizáltunk a gyártó leírásait követve. A vírus jelenlétét RT-PCR-rel igazoltuk vissza, az amplifikációhoz Phire Hot Start II DNA polimerázt (Thermo Fisher Scientific) és vírusspecifikus primereket (Pasztor és mtsai, 2020) használtunk. A Sanger szekvenáláshoz, az egyedek RNS keverékéből készült cDNS-eket használtuk templátként. Az amplifikációt Q5 Hot Start High-Fidelity DNS Polimerázzal (New England Biolabs, UK) végeztük. PCR termék tisztításához a GeneJET Gel Extraction Kit-et (Thermo Fisher Scientific) használtuk, ezeket pJET vektorba klónoztuk, majd nukleotid sorrendjüket meg-

határoztattuk. A szekvenciákat feltöltöttük az NCBI GenBankba.

Eredmények

Két különböző területről származó köles populáció viromjának megállapítása sRNS HTS-sel

2019 augusztusában két területről gyűjtöttünk köles mintát Nyugat-Magyarországon, a Balaton közelében. A mintákat kukoricatáblák gyommal borított szélein gyűjtöttük, ahol több évelő egyszikű gyomnövény is fellelhető volt. A B_A mintavételi helyszínen burgonyát, az ÚS területen pedig búzát termesztettek előző évben. Mindkét helyszínen 10–10 növényegyetet mintáztunk meg véletlenszerűen, olyan növényeket választva, melyeken különböző tüneteket figyeltünk meg, vagy tünetmentesek voltak (*1a és 1b ábra*). Az RNS-t levelekből, gyökerekből és fejlődő magokból vontuk ki. Területenként egy-egy sRNS könyvtárat készítettünk és szekvenáltattunk meg Illumina platformon, melynek eredményeül 19,5 és 31,7 millió sRNS olvasatot kaptunk. A bioinformatikai analízis során 3 vírus jelenlétét mutattuk ki. WSMV, BYSMV vírusok mindkét területen, amíg a BVG vírus csak az ÚS helyszínen volt jelen.

A gyomköles WSMV-vel erősen fertőzött

A WSMV jelenléte mindkét mintavételi helyszínen kimutatható volt, és a mintázott egyedek WSMV fertőzöttségét az RT-PCR analízis is alátámasztotta. A két mintavételi területen hét, illetve kilenc fertőzött egyedet találtunk (*2. ábra*).

A két területről származó 13–13 klón szekvenciájának elemzése azt mutatta, hogy a hazánkban levő variánsok a vírus „B” kládjába tartoznak (*3. ábra*). A „B” és a „D” klád közötti különbség alapja, egyetlen kódon hiánya a CP cisztronon belül. Ez jellemző a megszekvenált „magyar”, valamint az Európa különböző részein leírt törzsekre is: Csehország, Ausztria (Rabenstein és mtsai 2002), Németország (Schubert és mtsai 2015), Szlovákia (Kúdela

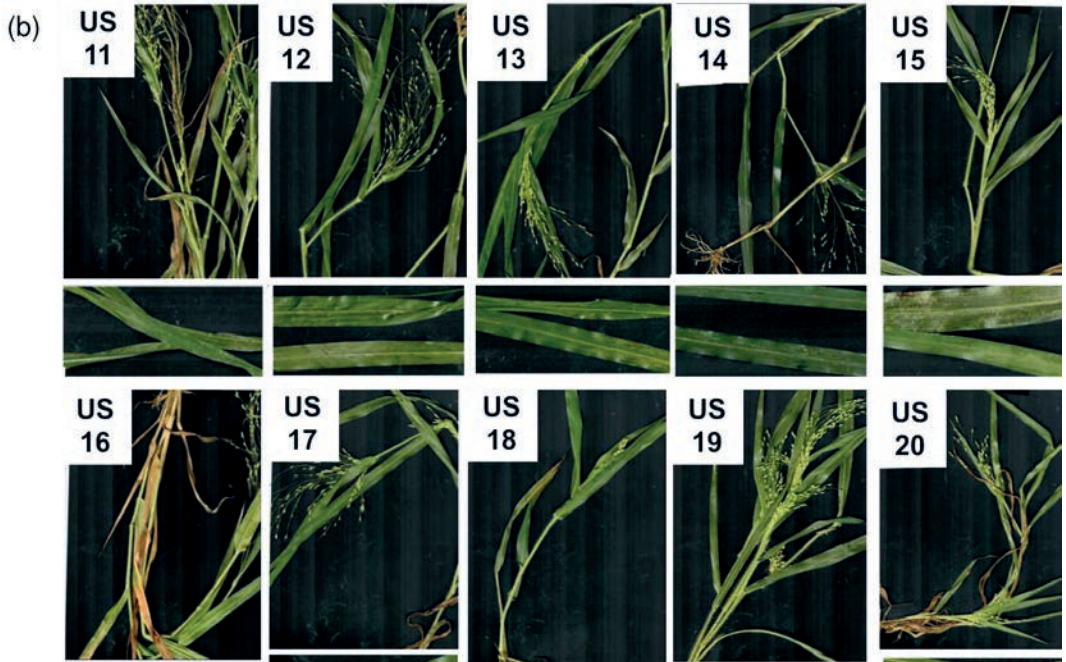
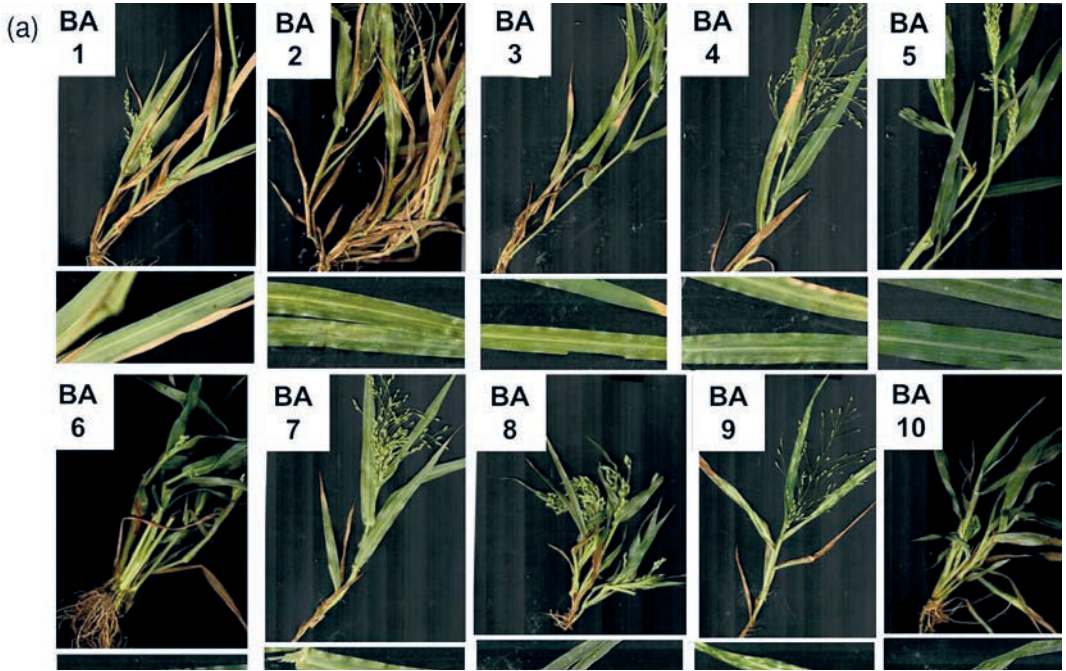
és mtsai 2008) és Lengyelország (Trzmiel és mtsai 2015). A közelmúltban kimutatták, hogy a WSMV Csehországban évelő füveket is megfertőzi, az árpa és a zab termőföldek szélein azonosított vírustörzsek is a „B” kláddhoz tartoznak (Chalupniková és mtsai 2017; Schubert és mtsai 2015). A „B” kláddal ellentétben a „D” klád, beleértve a török és az amerikai törzseket, kevésbé tűnik variábilisnak. Feltételezések szerint a WSMV atka vektorával együtt kerülhetett Amerikába a múlt században (Rabenstein és mtsai 2002). Az ÚS területen magasabb volt a fertőzöttségi arány, egy növény kivételével valamennyi egyedben kimutattuk a WSMV jelenlétét. Ezen a területen burgonyát termesztettek az előző években, így itt feltételezhetőleg az áttelelő növények és évelő füvek, míg az ÚS esetében az előző évben ott termesztett búza szolgálhatott a WSMV fertőzési forrásként. Sajnos az előző évben ott termesztett búza fajtát nem ismerjük, így ezt a hipotézist nem tudjuk alátámasztani.

A kölesről, mint WSMV gazdaszervezetről szóló ismereteink hiányosak, ugyanis az eddigi, gazdaszervezetre vonatkozó vizsgálatok a kölesre és az évelő füvekre nem terjedt ki (Coutts és mtsai 2014; Rabenstein és mtsai 2002). A magas fertőzöttségi arány viszont a köles WSMV rezervoár szerepére enged következtetni. Sajnos jelenleg nincs hatékony megelőzési módszer sem a vírus, sem az atka vektor terjedésének megelőzésére (Singh és mtsai 2018), ezért az egyetlen megoldás a rezisztenciára nemesítés, amely a különböző variánsok egyidejű jelenléte miatt akadályokba ütközhet.

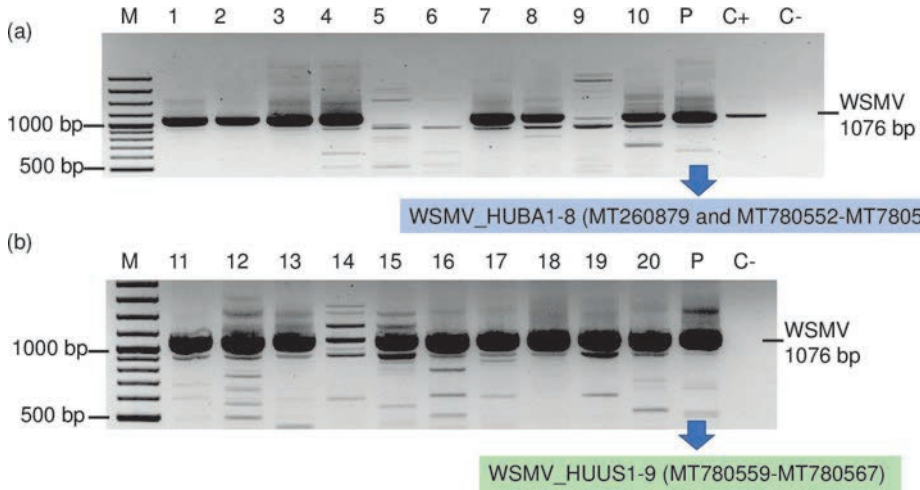
A két mintavételi helyszínen két különböző BYSMV törzset azonosítottunk

Az sRNS HTS eredményei alapján a BYSMV jelenlétét mindkét mintavételi területen kimutattuk. Az RT-PCR során a vírus CP (coat protein, köpenyfehérja) kódoló régióját sokszoroztuk meg és a vírus jelenlétét a B_A mintavételi területen három, míg az ÚS területen egy növényben mutattuk ki (*4. ábra*).

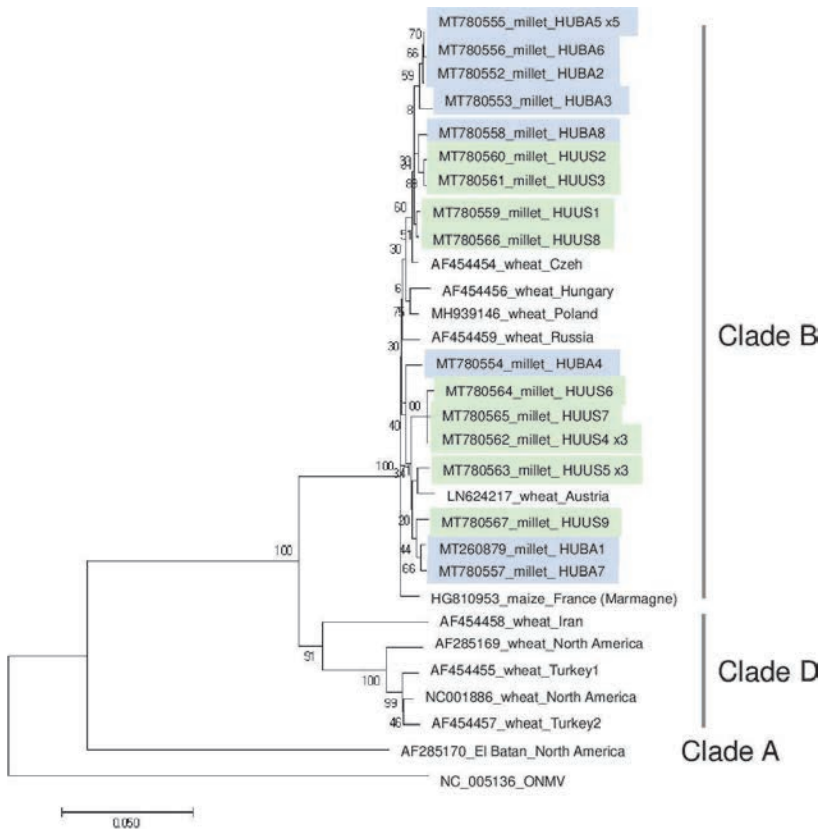
Az azonosított törzsek filogenetikai elemzése sajnos nem engedi meg, hogy a törzsek



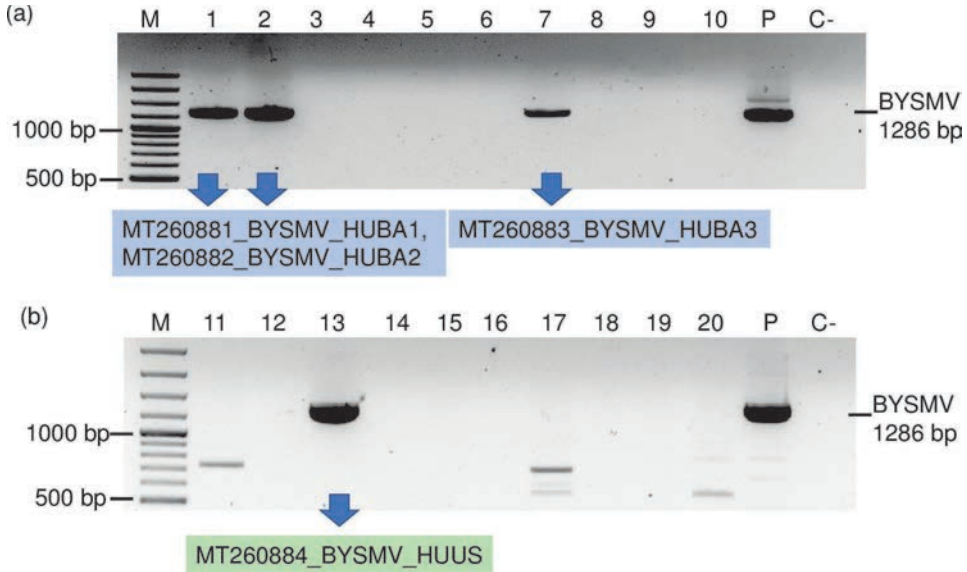
1a és 1b ábra. A kísérletekhez gyűjtött minták a/BA és b/US fényképe



2. ábra. A WSMV jelenlétének igazolása RT-PCR technikával az a/BA és b/US mintavételi pontokról (M méretmarker, P az ültetvény összes egyedét reprezentáló mintakeverék – pool, C+ pozitív, C- negatív kontrol)



3. ábra. A BA (kék kiemelés) és US (zöld kiemelés) mintaterületekről származó mintákból kimutatott WSMV törzsek filogenetikai elemzése (ONMV-*Oat necrotic mottle virus*). A kódok mellett a törzsek GenBanki azonosítóját is feltüntettük



4. ábra. A BYSMV jelenlétének igazolása RT-PCR technikával az a/ BA és a b/ US mintavételi pontokról. (M méretmarker, P az ültetvény összes egyedét reprezentáló mintakeverék – pool, C+ pozitív, C- negatív kontrol)

eredetére következtessünk, mivel a CP kódoló régióra vonatkozó szekvenciainformációk csak a referenciagenomból érhetők el (5. ábra). A BYSMV_HUUS és a BYSMV_HUBA3 azonosnak bizonyult, míg a BYSMV_HUBA1 és a BYSMV_HUBA2-től különbözött. Ez a különbség arra utal, hogy egymástól kissé eltérő változatok vannak jelen, egy adott helyen, vagy minimális távolságra egymástól. Bár az sRNS olvasatok egyenesen oszlanak el a genomon, a lefedettség adatok nem tették lehetővé, hogy az új „magyar” BYSMV törzsek filogenetikai eredetének részletesebb elemzését közvetlenül elvégezzük. A jövőben szükség van ezeknek a törzseknek az RdRp (RNA dependent RNA polymerase, RNS függő RNS polimeráz) kódoló régió nukleotid sorrendjének meghatározására, ami talán segíthet abban, hogy információt kapjunk e variánsok eredetéről.

A Magyarországon eddig nem leírt BVG fertőzését is kimutattuk az Újmajor-susnyásban

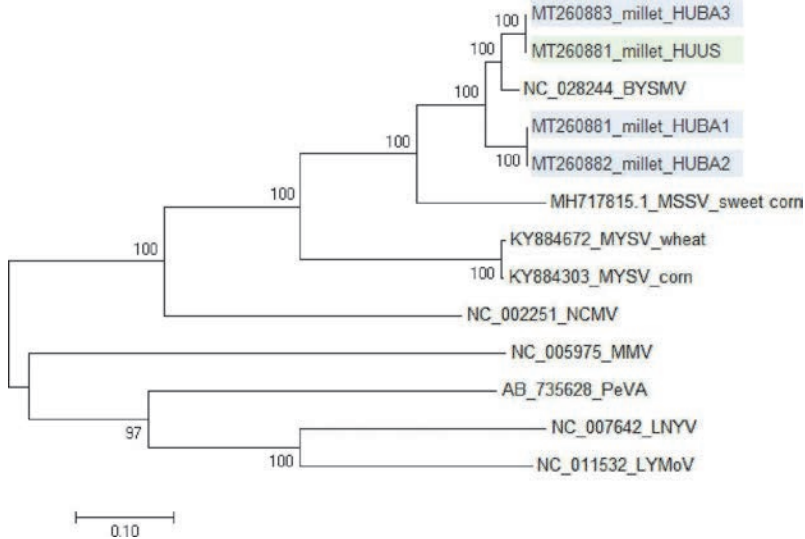
Az ÚS sRNS könyvtárban nagyszámú BVG eredetű sRNS-t azonosítottunk, amelyek egyenesen fedték le a vírusgenomot.

A vírusspecifikus primerekkel indított RT-PCR reakció egy növényben igazolta a BVG jelenlétét (6. ábra).

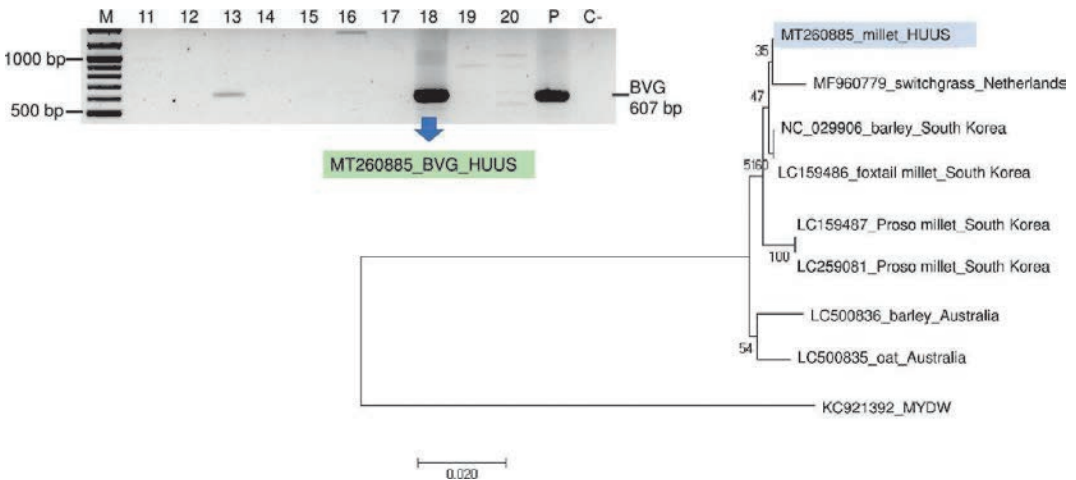
A filogenetikai vizsgálatok az mutatják, hogy a BVG_HUUS izolátumból leírt vírustörzs távoli rokonságot mutat az Ausztráliában és a Dél-Koreában leírt izolátumokhoz képest. Filogenetikailag leginkább a Hollandiában a *P. virgatum*-ból leírt BVG izolátumhoz hasonlít (6. ábra). Ezen kívül a BVG-t Görögországban írták le, ahol kukoricában találták meg (Gavrili és mtsai 2021). Különös, hogy a vírus jelenlétét éppen gyomként növekvő kölesben azonosítottuk, így eredetének meghatározása további vizsgálatokat igényel. Bár a fertőzött növény nem mutatott semmiféle jellegzetes, vírusfertőzésre utaló tünetet, nem kizárható hogy hatással van a gabona- és biomassza termelésre (Kumar és mtsai 2017).

Következtetések

sRNS HTS alapú vírusdiagnosztikai felmérésünk eredménye rámutatott arra, hogy még ilyen kevés mintaszámú felmérés is segítheti a hazai ültetvények vírusfertőzöttségének meg-



5. ábra. A BA (kék kiemelés) és US (zöld kiemelés) mintaterületekről származó mintákból kimutatott *Barley yellow striate mosaic virus* törzsek filogenetikai elemzése (MSSV-Maize sterile stunt virus, MYSV-Maize yellow striate virus, NCMV-Northern cereal mosaic virus, MMV-Maize mosaic virus, PeVA- Persimmon virus A, LNYV-Lettuce necrotic yellows virus, LNYMoV-Lettuce yellow mottle virus). A kódok mellett a törzsek GenBanki azonosítóját is feltüntettük



6. ábra. Az US mintaterületről származó *Barley virus G* törzs kimutatása RT-PCR-rel és filogenetikai elemzése (MYDV-Maize yellow dwarf virus). A kódok mellett a törzsek GenBanki azonosítóját is feltüntettük. (M méretmarker, P az ültetvény összes egyedét reprezentáló mintakeverék – pool, C+ pozitív kontroll, C– negatív kontroll)

állapítását és akár hazánkban eddig nem leírt vírusok azonosításához vezethet. A WSMV fertőzöttségének elterjedtsége alátámasztja Schubert és munkatársai (2015) hipotézisét arról, hogy a vírusok, az ültetvények szélein áttelelő

évelő füvekben áttelelve elterjedtek lehetnek a gabonatermesztés során. Éppen ezért alapvető fontosságú, hogy átfogó, a jelenlévő vírusokat és azok variánsait azonosítani tudó felmérések készüljenek, amelyek nélkül a rezisztenciára

nemesítés eredményessége sem lesz biztosított. Eredményeink rávilágítanak arra, hogy a köles nemcsak, mint egy, a levéltetvek táplálékául szolgáló kompetitív gyom, hanem mint vírus-rezervoár is növényegészségügyi kockázatot jelent, így az áttelelése és az árvakelése ellen feltétlenül védekezni kell. Viromjának meghatározása és elemzése új eredmény, ami segíthet minket abban, hogy felderítsük a segítségével terjedő vírusokat és segítsen minket az ellenük való hatékony védekezés stratégiájának kidolgozásában.

Köszönetnyilvánítás

Munkánkat a GINOP-2.3.2-15-2016-00054 projekt támogatta. Demián Emese a MATE BTDI PhD hallgatója. Pásztor György a SZIE Fesztetics doktori iskola, Kossuth Tamás a SZIE Növényorvos MSc hallgatója volt. Kutatásainkban nagy szerepet játszott részvételünk a COST FA 1407-DIVAS pályázatban.

IRODALOM

- Almasi, R., Afsharifar, A., Niazi, A., Pakdel, A. and Izadpanah, K.** (2010): Analysis of the Complete Nucleotide Sequence of the Polymerase Gene of Barley Yellow Striate Mosaic Virus–Iranian Isolate. *Journal of Phytopathology*, 158: 351–356.
- Bernardo, P., Charles-Dominique, T., Barakat, M., Ortet, P., Fernandez, E., Filloux, D., Hartnady, P., Rebelo, T.A., Cousins, S.R., Mesleard, F. et al.** (2018): Geometagenomics illuminates the impact of agriculture on the distribution and prevalence of plant viruses at the ecosystem scale. *ISME J*, 12: 173–184.
- Chalupniková, J., Kundu, J.K., Singh, K., Bartaková, P. and Beoni, E.** (2017): Wheat streak mosaic virus: incidence in field crops, potential reservoir within grass species and uptake in winter wheat cultivars. *Journal of Integrative Agriculture*, 16: 523–531.
- Conti, M.** (1969): Investigations on a Bullet-shaped Virus of Cereals Isolated in Italy from Planthoppers. *Journal of Phytopathology*, 66: 275–279.
- Coutts, B.A., Banovic, M., Kehoe, M.A., Severtson, D.L. and Jones, R.A.C.** (2014): Epidemiology of Wheat streak mosaic virus in wheat in a Mediterranean-type environment. *European Journal of Plant Pathology*, 140: 797–813.
- Czotter, N., Molnár, J., Pesti, R., Demián, E., Baráth, D., Varga, T. et al.** (2018): Use of siRNAs for Diagnosis of Viruses Associated to Woody Plants in Nurseries and Stock Collections. In: *Viral Metagenomics: Methods and Protocols*. (Pantaleo, V. and Chiumenti, M., eds.). New York, NY: Springer New York, pp. 115–130.
- Di, D. P., Zhang, Y. L., Yan, C., Yan, T., Zhang, A. H., Yang, F. et al.** (2014): First Report of Barley yellow striate mosaic virus on Wheat in China. *Plant Disease*, 98: 1450–1450.
- Gavrili, V., Lotos, L., Mollov, D., Grinstead, S., Tsialtas, I.T., Katis, N.I. and Maliogka, V.** (2021): First report of barley virus G infecting corn in Greece. *J Plant Pathol*, <https://doi.org/10.1007/s42161-021-00903-4>
- Golyaev, V., Candresse, T., Rabenstein, F. and Pooggin, M.M.** (2019): Plant virome reconstruction and antiviral rna1 characterization by deep sequencing of small rnas from dried leaves. *Sci Rep*, 9: 19268.
- Hunyadi K.** (1988): Szántóföldi gyomnövények és biológiájuk. Mezőgazdasági kiadó, Budapest
- Izadpanah, K., Ebrahim-Nesbat, F. and Afsharifar, A.R.** (1991): Barley Yellow Striate Mosaic Virus as the Cause of a Major Disease of Wheat and Millet in Iran. *Journal of Phytopathology*, 131: 290–296.
- Kúdela, O., Kúdelová, M., Nováková, S. and Glasa, M.** (2008): First Report of Wheat streak mosaic virus in Slovakia. *Plant Disease*, 92: 1365–1365.
- Kumar, L.M., Foster, J.A., McFarland, C. and Malapi-Wight, M.** (2017): First Report of Barley virus G in Switchgrass (*Panicum virgatum*). *Plant Disease*, 102: 466–466.
- Lockhart, B.E.L., El-Maataoui, M., Carroll, T.W., Lennon, A.M. and Zaske, S.K.** (1986): Identification of barley yellow striate mosaic virus in Morocco and its field detection by enzyme immune assay. *Plant Disease*, 70: 1113–1117.
- Makkouk, K.M., Bertschinger, L., Conti, M., Bolay, N. and Dusunceli, F.** (1996): Barley Yellow Striate Mosaic Rhabdovirus Naturally Infects Cereal Crops in the Anatolian Plateau of Turkey. *Journal of Phytopathology*, 144: 413–415.
- Makkouk, K.M., Kumari, S.G., Ghulam, W. and Attar, N.** (2004): First Record of Barley yellow striate mosaic virus Affecting Wheat Summer-Nurseries in Syria. *Plant Disease*, 88: 83–83.
- Massart, S., Chiumenti, M., De Jonghe, K., Glover, R., Haegeman, A., Koloniuk, I., Komínek, P., Kreuze, J., Kutnjak, D., Lotos, L. et al.** (2018): Virus detection by high-throughput sequencing of small rnas: Large-scale performance testing of

- sequence analysis strategies. *Phytopathology*, 109: 488–497.
- Molnár, A., Csorba, T., Lakatos, L., Várallyay, É., Lacomme, C. and Burgyán, J.** (2005): Plant virus-derived small interfering RNAs originate predominantly from highly structured single-stranded viral mas. *J Virol* 79: 7812.
- Moravcová, L., Pysek, P., Jarosik, V., Havlicková, V. and Záknavsky, P.** (2010): Reproductive characteristics of neophytes in the Czech Republic, traits of invasive and non-invasive species. *Preslia*, 82: 365–390.
- Nancarrow, N., Aftab, M., Zheng, L., Maina, S., Freeman, A., Rodoni, B. et al.** (2019): First Report of Barley virus G in Australia. *Plant Disease*, 103: 1799.
- Navia, D., de Mendonça, R. S., Skoracka, A., Szydło, W., Knihinicki, D., Hein, G. L. et al.** (2013): Wheat curl mite, *Aceria tosichella*, and transmitted viruses: an expanding pest complex affecting cereal crops. *Experimental and Applied Acarology*, 59: 95–143.
- Novák R., Dancza I., Szentey L. és Karamán J.** (2009): Magyarország szántóföldjeinek gyomnövényzete. *Ötödik Országos Szántóföldi Gyomfelvételezés. FVM* Budapest, 71–75.
- Novák R., Dancza I., Szentey L. és Karamán J** (2011): Az ötödik országos gyomfelvételezés Magyarországon szántóföldjein. Vidékfejlesztési Minisztérium Élelmiszerlánc-felügyeleti Főosztály, Növény- és Talajvédelmi Osztály, Budapest
- Nyitrai, Á. and Gáborjányi, R.** (1988): Wheat streak mosaic a new virus disease of wheats in Hungary. *Cereal Research Communications*, 16: 261–263.
- Oh, J., Park, C.Y., Min, H.G., Lee, H.K., Yeom, Y.A., Yoon, Y. et al.** (2017): First Report of Barley virus G in Foxtail Millet (*Setaria italica*) in Korea. *Plant Disease*, 101: 1061.
- Park, C.Y., Oh, J.H., Min, H.G., Lee, H.K. and Lee, S.H.** (2016): First Report of Barley virus G in Proso Millet (*Panicum miliaceum*) in Korea. *Plant Disease*, 101: 393–393.
- Pásztor, G., Szabó, R., Takács, A., Henézi, Á. and Nádas, E.** (2017): The natural viral infections of the weedy *Panicum miliaceum* (L.). *Columella-Journal of Agricultural and Environmental Sciences*, 4: 35–38.
- Pásztor, G., Galbacs N.Z., Kossuth, T., Demian, E., Nádas, E., Takacs, A.P. and Várallyay, E.** (2020): Millet Could Be both a Weed and Serve as a Virus Reservoir in Crop Fields. *Plants*, 9: 954. <https://doi.org/10.3390/plants9080954>
- Pooggin, M.M.** (2018): Small RNA-Omics for Plant Virus Identification, Virome Reconstruction, and Antiviral Defense Characterization. *Front. Microbiol.* 9: 2779.
- Rabenstein, F., Seifers, D. L., Schubert, J., French, R. and Stenger, D.C.** (2002): Phylogenetic relationships, strain diversity and biogeography of tritimo-viruses. *Journal of General Virology*, 83: 895–906.
- Roossinck, M.J., Martin, D.P. and Roumagnac, P.** (2015): Plant virus metagenomics: Advances in virus discovery. *Phytopathology*, 105: 716–727.
- Ryves, T. B., Clement, E.J. and Foster, M.C.** (1996): Alien grasses of the British Isles. BSBI, London.
- Saitou, N. and Nei, M.** (1987): The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol*, 4: 406–425.
- Schubert, J., Ziegler, A. and Rabenstein, F.** (2015) First detection of wheat streak mosaic virus in Germany: molecular and biological characteristics. *Archives of Virology*, 160: 1761–1766.
- Singh, K., Wegulo, S.N., Skoracka, A. and Kundu, J.K.** (2018) Wheat streak mosaic virus: a century old virus with rising importance worldwide. *Molecular Plant Pathology*, 19: 2193–2206.
- Singh, K., Jarosova, J., Fousek, J., Chen, H. and Kundu, J.K.** (2020) Virome identification in wheat in the Czech Republic using small RNA deep sequencing. *J Integr Agric*, 19: 1825–1833.
- Trzmiel, K., Szydło, W., Zarzyńska-Nowak, A. and Jeżewska, M.** (2015) First Report of Brome mosaic virus (BMV) and Wheat streak mosaic virus (WSMV) Co-infection in Triticale Plants in Poland. *Plant Disease*, 99: 1290–1290.
- Van De Wouw, M., Jorge, M.A. and Bierwirth, J.H.** (2008) Characterization of a collection of perennial *Panicum* species. *Tropical Grasslands*, 42: 40–53.
- White, J.L. and Kaper, J.M.** (1989) A simple method for detection of viral satellite RNAs in small plant tissue samples. *Journal of Virological Methods*, 23: 83–93.
- Yan, T., Zhu, J.-R., Di, D., Gao, Q., Zhang, Y., Zhang, A., Yan, C., Miao, H., and Wang X.-B.** (2015) Characterization of the complete genome of Barley yellow striate mosaic virus reveals a nested gene encoding a small hydrophobic protein. *Virology*, 478: 112–122.
- Zhao, F., Lim, S., Yoo, R. H., Igori, D., Kim, S.-M., Kwak, D. Y. et al.** (2016) The complete genomic sequence of a tentative new polerovirus identified in barley in South Korea. *Archives of Virology*, 161: 2047–2050.

MILLET AS A WEED CAN SERVE AS A VIRUS RESERVOIR

Gy. Pásztor, Zs. N. Galbács, T. Kossuth, E. Demián, E. Nádasy, A. P. Takacs and É. Várallyay

Hungarian University of Agriculture and Life Sciences, Institute of Plant Protection, Ménesi road 44, H-1118 Budapest, Hungary

Millet is a dangerous weed in crop fields. Lack of seed dormancy helps it to spread easily and be present at maize, wheat and other crop fields. Our previous report, based on virus specific DAS-ELISA tests revealed the possibility that millet can also play a role as a virus reservoir. In that study we focused on visual symptoms and detected the presence of several viruses in millet using serological methods, which can only detect the presence of the investigated pathogen. In this current work we used sRNA HTS as an unbiased virus diagnostic method to uncover presenting viruses in randomly sampled millets grown as a volunteer weed at two maize field, showing stunting, chlorosis, striped leaves. We have found hits for three viruses which results were validated with an independent method: RT-PCR not only for the fields, but also for the individuals. Our result confirmed the widespread presence of wheat streak mosaic virus at both locations. Moreover, barley yellow striate mosaic virus and barley virus G, none of them have been described from Hungary before were also identified. As these viruses can cause severe diseases on wheat and other cereals their presence on a weed means a potential infection risk. Our study indicates that the presence of millets on the fields needs a special control in order to prevent emergence of new virus diseases at crop fields.

Keywords: millet, weed, virus infection, small RNA HTS

Érkezett: 2021. szeptember 27.

FIGYELEM!

Coragen 20 SC rovarölő szer, ún. szükséghelyzeti engedélyt kapott a nyugati dióburok-fúrólégy ellen

<https://magyarovenyorvos.hu/coragen-20-sc-rovarolo-szer-un-szukseghelyzeti-engedelyt-kapott-a-nyugati-dioburok-furolegy-ellen-2021-08-17>

2021. augusztus hónapban a NÉBIH megjelentetett új, eseti, származtatott, párhuzamos, módosított, illetve visszavont növényvédőszer-engedélyek

<https://magyarovenyorvos.hu/novenyvedo-szer-engedelyek-szukseghelyzeti-engedelyek>

AZ UBORKA MOZAIK VÍRUS ÉS A FÖLDIMOGYORÓ SATNYULÁS VÍRUS MOZGÁSI FEHÉRJE SZEREPE A VÍRUSTÜNETEK ÉS A GAZDANÖVÉNYKÖR MEGHATÁROZÁSÁBAN*

Pinczés Dóra^{1,2}, Sáray Réka^{1,2}, Fábrián Attila³, Palkovics László⁴ és Salánki Katalin¹

¹Eötvös Loránd Kutatási Hálózat, Agrártudományi Kutatóközpont, Növényvédelmi Intézet, Növénykórtani Osztály, 1022 Budapest, Herman Ottó út 15.

²Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Kertészettudományi Doktori Iskola, 1118 Budapest, Villányi út 29–43.

³Eötvös Loránd Kutatási Hálózat, Agrártudományi Kutatóközpont, Mezőgazdasági Intézet, Biológiai Erőforrások Osztálya, 2462 Martonvásár, Brunszvik utca 2.

⁴Széchenyi István Egyetem, Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Kar, Növénytudományi Tanszék, 9200 Mosonmagyaróvár, Vár tér 2.

e-mail: salanki.katalin@atk.hu

A Cucumovirus nemzetség tagjai közül uborka mozaik vírus (Cucumber mosaic virus, CMV) széles, változatos gazdanövénykörrel rendelkezik és egyike a legjelentősebb gazdasági károkat okozó vírusoknak, míg a földimogyoró satnyulás vírus (Peanut stunt virus, PSV), lényegesen szűkebb gazdanövénykörrel rendelkezik és az általa indukált betegségi tünetek is lényegesen gyengébbek. Korábbi vizsgálatok alapján a cucumovírusok genomjáról átíródó mind az öt fehérjeje esetében bizonyították, hogy szerepet játszik a patológiai jellemzők meghatározásában. Ilyen vonatkozásban jelenleg a mozgási fehérjéről (MP) érhető el a legkevesebb információ.

Kísérleteink során bizonyítottuk a MP módosításának hatását a patológiai tulajdonságok megváltozásában, illetve összehasonlítottuk a CMV MP és a PSV MP szerepét a tünetek és a gazdanövénykör meghatározásában *Nicotiana benthamiana*, *Nicotiana tabacum cv. Xanthi*, *Chenopodium murale* és *Cucumis sativus* növényeken. A MP fő funkciója a vírus sejtről-sejtre terjedésének elősegítése, sejten belüli lokalizációja elsősorban a plazmodezmáknál figyelhető meg. Vizsgálataink során megállapítottuk, hogy a MP lokalizáció változásának kulcsszerepe van a vírustünetek és a gazdanövénykör meghatározásában.

Kulcsszavak: uborka mozaik vírus, földimogyoró satnyulás vírus, mozgási fehérje, gazdanövénykör

A növényvírusok világszerte súlyos természetveszteségeket okoznak a mezőgazdaságban. A fertőzések fellépését csakis preventív védekezéssel akadályozhatjuk meg, többek között egészséges szaporítóanyag használatával, az állomány rendszeres monitorozásával és a tünetes növények azonnali eltávolításával, a vírusvektorok (levéltetvek, tripszek, kabócák) elleni kémiai védekezéssel, illetve rezisztens fajták termesztésével. Máig megoldásra váró probléma a növényvédelem és a növénynevelés számára a kultúrnövényeinket fertőző vírusok visz-

szaszorítása, amihez fontos, hogy minél jobban megismerjük a vírusok alapvető működését, így a gazdanövénykört meghatározó vírusgenetikai tényezőket, növény és a patogén között fellépő kölcsönhatások sokféleségét.

Az uborka mozaik vírus (*Cucumber mosaic virus*, CMV), a földimogyoró satnyulás vírus (*Peanut stunt virus*, PSV) és a paradicsom magtalanság vírussal (*Tomato aspermy virus*, TAV) a *Bromoviridae* család *Cucumovirus* nemzetségébe tartoznak. A CMV széles gazdanövényköre és súlyos kártétele miatt az egyik

*A közleményt Gáborjányi Richárdnak ajánljuk 80. születésnapja alkalmából.

legnagyobb gazdasági jelentőséggel bíró vírusként tartják számon. Az egyik legszélesebb gazdanövénykörrel rendelkező növénypatogén vírus, legalább 100 növény családból, több mint 1200 egyszikű és kétszikű növényfaj esetén bizonyították, hogy képes fertőzést kialakítani (Edwardson és Christie, 2018). Főként paprikán, paradicsomon, kabakosokon, zelleren és számos természetett dísnövényfajon okoz kárt. A cucumovírusok hasonló genomszerkezete és fehérjéinek azonos funkciói ellenére a PSV jóval szűkebb és eltérő gazdanövénykörrel rendelkezik. Főként pillangós virágúakat fertőz, illetve CMV-vel közös gazdanövényein is eltérő, rendszerint sokkal enyhébb tüneteket alakít ki. A *Cucumovirus* nemzetségbe tartozó fajok osztott genomja három pozitív egyszálú RNS-ből és két szubgenomi RNS-ből áll. Az RNS1 és RNS2 a vírus replikációhoz szükséges fehérjék kódolásáért felelős (1a és 2a fehérje), míg a mozgási fehérje (MP) és a köpenyfehérje (CP) az RNS3-ról íródik át. A cucumovírusok ötödik, legkisebb fehérjéje a 2b, amelyet szubgenomi RNS kódol és fő feladatáért az RNS géncsen-desítés szuppresszióért felel.

A gazdanövénykört és tüneteket meghatározó folyamatok a vírus és a növény komplex kölcsönhatásainak, fehérje-fehérje interakcióinak eredménye. A CMV mindegyik fehérjéje esetében igazolták már, hogy szerepet játszanak a patogenitás kialakításában, ugyanakkor a PSV és a TAV esetén lényegesen kevesebb információ áll rendelkezésünkre. Bizonyították a CMV RNS1-ről átíródó 1a fehérje szerepét a betegség tünetek kialakulásában cukkini növényeken (Roossinck és Palukaitis, 1990, Gal-On és mtsai 1994), illetve egyetlen aminosav változásnak (461. aminosav) a szerepét különleges lokális nekrotikus tünetek kialakításában *Nicotiana tabacum* cv. Xanthi és *Nicotiana glutinosa* teszt növényeken (Divéki és mtsai 2004; Salánki és mtsai 2007). A CMV RNS2-ről átíródó 2a fehérje szerepét is több esetben igazolták, például az CMV-Fny törzse nekrotikus léziókat okoz tehénborsó növényen (*Vigna unguiculata*), de két aminosav megváltoztatása után (631. fenilalanin és a 641. alanin) szisztemikus tünetek alakulnak ki (Kim és Palukaitis, 1997; Hu

és mtsai 2012). Szintén a 2a fehérjéhez, mégpedig a 276. aminosavhoz köthető a szisztemikus mozaik, vagy a klorotikus tünetek kialakítása cukkini növényeken (CMV-Fny és CMV-Pf törzseket felhasználva) (Choi és mtsai 2005). A 2b fehérje patológiai szerepét is több esetben igazolták a gazdanövény specifitásban és a vírus hosszútávú mozgásában is (Ding és mtsai 1995). PSV esetében a 2b fehérje szerepét bizonyították a vírus virulenciájában *Nicotiana benthamiana* és *N. tabacum* növényeken (Netsu és mtsai 2008). CMV 2b fehérje mutációi leggyakrabban a géncsen-desítés szuppresszió hatékonyságának változásán keresztül van hatással a tünetek kialakítására (Xu és mtsai 2013).

Az RNS3 kódolja az ún. 3a fehérjét, ami a vírus mozgási fehérjéje (movement protein, MP). A CMV MP szerepét tünetek kialakításában két esetben bizonyították, a ciklikus tünetek kialakulásában dohány növényeken (CMV-Fny, 51 as aszparagin/lizin; 240 as izoleucin/fenilalanin) (Gal-On és mtsai 1996), valamint a szisztemikus tünetek jellegének meghatározásában tök növényeken (168 as) (Kaplan és mtsai 1997, Choi és mtsai 2005). A köpenyfehérje esetén sokkal több patológiai adat áll rendelkezésre, így bizonyították szerepét uborka növényeken a szisztemikus tünetek kialakulásában (Taliany és Garcia-Arenal 1995) amiben a $\beta\text{B}-\beta\text{C}$ loop három aminosava kulcsfontosságú (Salánki és mtsai 2011), nekrotikus léziók kialakulásában *Arabidopsis* C24-es ökotípusán (Takahashi és mtsai 2001), a kialakított tünetek változatosságában a 129. aminosavnak van fontos szerepe (Mochizuki és Ohki 2012).

A vírusfertőzés összetett folyamat, először egyetlen növényi sejt fertőződik meg, a cucumovírusok esetén leggyakrabban levéltetvek közvetítésével. A megfertőzött sejtekben a vírus RNS kiszabadul a köpenyfehérje burkából, a fehérjéi a növény transzlációs rendszerét használva átíródnak, majd a vírus szaporodása (replikációja) következik. A fertőzött sejtekből a vírusnak át kell jutnia a szomszédos sejtekbe. A cucumovírusok esetén ehhez feltétlenül szükséges a MP, aminek fő funkciója a vírus sejt-ről-sejtre terjedésének elősegítése. A fertőzött sejteken belül elsősorban a plazmodezmáknál

lokalizálódik. A plazmodezma szerkezetének megváltoztatásával lehetővé teszi, hogy a vírus RNS a megfertőzött sejtből átjusson a szomszéd sejtekbe. A vírus RNS sejtről-sejtre terjedéséhez a köpenyfehérje is nélkülözhetetlen. Ezeknek a folyamatoknak következtében alakul ki a lokális fertőzés. A vírus szisztémikus terjedése során a növény távolabbi részei is megfertőződnek, ez virion formájában a szállítószöveteken keresztül történik.

Anyag és módszer

A kísérlet során használt mindkét vírusizolátumot korábban jellemeztük (Rs-CMV, Divéki és mtsai 2004, Rp-PSV, Kiss és mtsai 2008). A tesztnövényeket fitotronban neveltük hosszú nappalos körülmények között (16 h világos és 8 h sötét periódus, 20–23 °C-on). *Nicotiana benthamiana*, *Nicotiana tabacum* cv. Xanthi és *Chenopodium murale* növényeket 4 leveles korukban fertőztük, míg a *Cucumis sativus* cv. Szenzáció növényeket szikleves korban.

A rekombináns (PSV3CP-RNS3 CMV-MP és PSV-CP kombinációját tartalmazza) és pontmutációt tartalmazó (S28A) CMV RNS3 vírusmutánsokat PCR-alapú módszerekkel készítettük. Az elkészített konstrukciókat pGEM T-Easy vektorba klónoztuk és *Escherichia coli* baktériumba transzformáltuk, majd ellenőriztük a nukleotid sorrend helyességét. A tesztnövények fertőzését *in vitro* transzkriptumokkal végeztük el. A CMV1, CMV2, CMV3, PSV3, PSV3CP, S28A fertőzőképes klónokról készült *in vitro* transzkriptumait különböző kombinációkban kevertük hozzá 40 µl inokuláló pufferhez úgy, hogy az inokulum azonos mennyiségben tartalmazzon 1-es, 2-es és 3-as RNS-nek megfelelő transzkriptumot. Minden tesztnövény 2–2 fiatal levelére 20–20 µl inokuláló pufferbe kevert transzkriptumot juttattunk steril üvegspatula segítségével.

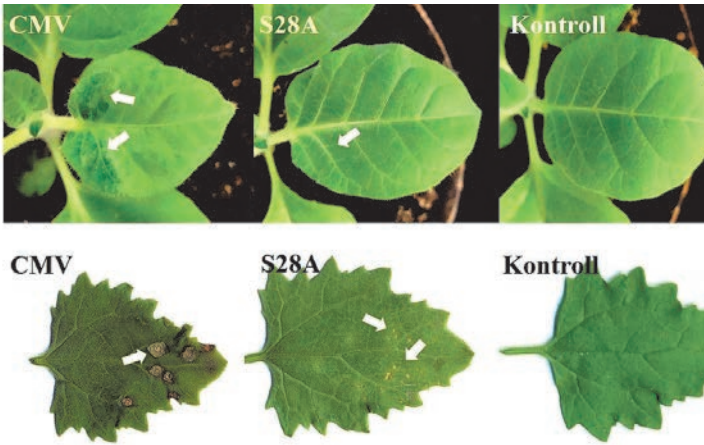
A vad típusú és mutáns MP-eket zöld fluoreszcens fehérjéhez (green fluorescent protein, eGFP) kapcsoltuk overlap PCR segítségével. A különböző MP-eket tartalmazó génszakaszokat bináris vektorba klónoztuk és *Agrobacterium*

tumefaciens baktériumba transzformáltuk. A baktériumtörzsek koncentrációját az optikai denzitás (optical density, OD) alapján határoztuk meg. Spektrofotométer segítségével 600 nm-en megállapítottuk a vad típusú és mutáns MP-eGFP-t tartalmazó szuszpenziók értékét, majd az agroinfiltráláskor a baktériumelegyhez 0,5-ös, míg a p14 szupresszor fehérjét 0,2-es koncentrációval adtuk hozzá. Az *Agrobacterium* szuszpenziót fecskendő segítségével injektáltuk 4–5 leveles dohánynövények (*N. tabacum* cv. Xanthi, *N. benthamiana*) levélfonákjába (Nemes és mtsai 2014). A plazmodezmák specifikus jelölését anilinkék festékekkel végeztük. A fluoreszcens jelek detektálását Leica SP8 konfokális lézer pásztázó mikroszkóp segítségével végeztük. Az alkalmazott fluorokrómok a következők voltak: anilinkék (gerjesztés 405 nm, detekció 410–480 nm), GFP (gerjesztés 488 nm, detekció 490–540 nm).

Eredmények

A CMV a legtöbb növényt szisztémikusan fertőzi, mint például az egyik leggyakrabban használt teszt növényt, a dohányt (*N. tabacum* cv. Xanthi), míg különböző libatop féléken csak lokális fertőzésre képes, így a *Ch. murale* növényen is (*l. ábra*). A vírusfehérjék működésének szabályozásában a fehérje átíródás utáni módosításoknak (posttranslational modification) fontos szerepe van. Ilyen módosítás történhet a CMV MP 28-as szerin aminosaván is. A MP-nek ezt az aminosavát megváltoztattuk, és vizsgáltuk az így kialakított vírus fertőzési sajátságait. *N. tabacum* cv. Xanthi növényeket inokulálva megfigyeltük, hogy a fertőzést követő pár napban eltérés tapasztalható a kialakult tünetek jellegében és a fertőzés dinamikájában (*l. ábra*). Öt nappal a fertőzés után, amikor a vad típusú CMV már erős szisztémikus tüneteket okozott (erős levél deformáció, klorózis), az S28A mutáns esetében csak halvány ér menti klorózist figyeltünk meg. Hosszabb idő elteltével a S28A mutáns vírus is képes volt erősebb szisztémikus tüneteket indukálni. A tünetek kialakulását *Ch. murale* tesztnövényeken is vizsgáltuk, amely a CMV lokál léziós gazda-

növénye. A CMV-vel fertőzött leveleken 5 nappal a fertőzést követően nagyméretű léziókat figyeltünk meg. Az S28A mutánsal történő fertőzéskor jól látható volt a különbség, csak nagyon apró, pontszerű léziók alakultak ki (1. ábra). Ennek a kísérletünknek az eredményét összefoglalva megállapíthatjuk, hogy a CMV MP egyetlen aminosavának megváltoztatása döntő hatással lehet a tünetek kialakítására mind szisztemikus fertőzést mind lokális lézió kialakulása esetén.



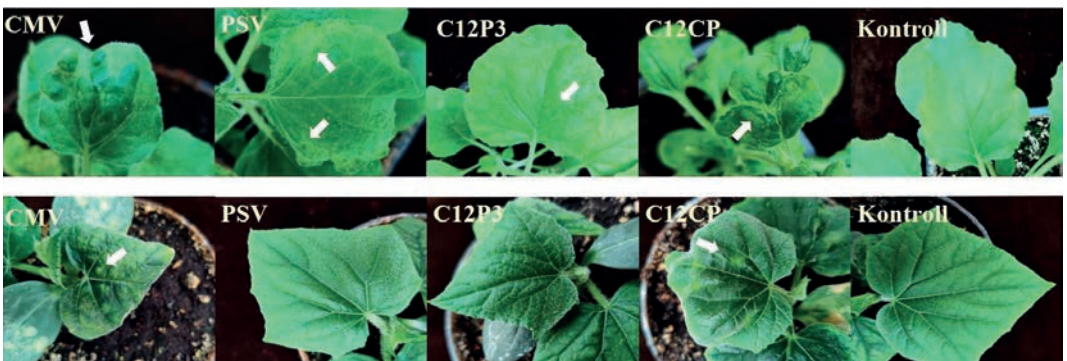
1. ábra. CMV és 28A MP mutáns vírusok tünetei *N. tabacum* Xanthi és *Ch. murale* növényeken. A nyilak jelölik a jellegzetes tüneteket.

A CMV és a PSV által okozott tünetek számos gazdanövényen eltérnek, például *N. benthamiana* tesztnövényen a CMV erős levéldeformációt és mozaikot okoz, míg PSV

fertőzés esetén gyenge mozaik tünetek figyelhetők meg levéldeformáció nélkül (2. ábra). Az a reasszortáns vírus, amelyik a CMV RNS1 és 2 mellett a PSV RNS 3-t tartalmazza (C12P3), a PSV-hez nagyon hasonló tüneteket okoz. Ha a PSV RNS3-ban kicseréljük a PSV MP-t a CMV MP-re (C12CP), akkor kialakulnak a CMV-re jellemző tünetek, levél deformáció és erős mozaik tünetek jelennek meg (2. ábra, felső sor).

Uborka növényeket a CMV szisztemikusan fertőzi, míg a PSV fertőzés után tünetek nem alakulnak ki, és RT-PCR módszerrel sem mutatható ki a vírus a nem fertőzött felső levelekből, még három héttel a fertőzés után sem. A CMV RNS1 és 2 mellett PSV RNS3-t tartalmazó reasszortáns (C12P3) sem képes szisztemikusan mozogni, azonban a CMV MP-t tartalmazó rekombináns vírus (C12CP) mozaik tüneteket okoz a nem fertőzött felső leveleken és RT-PCR módszerrel kimutatható (2. ábra, alsó sor).

Kísérleteink alapján a CMV MP felelős az erősebb tünetek kialakításáért *N. benthamiana* tesztnövényen és az uborka szisztemikus fertőzéséért is (CMV, C12CP), míg a PSV MP jelenlétében gyengébb szisztemikus tünetek alakulnak ki,



2. ábra. CMV, PSV, reasszortáns és rekombináns vírusok tünetei *N. benthamiana* (felső sor) és *C. sativus* (alsó sor) növényeken. A nyilak jelölik a jellegzetes tüneteket.

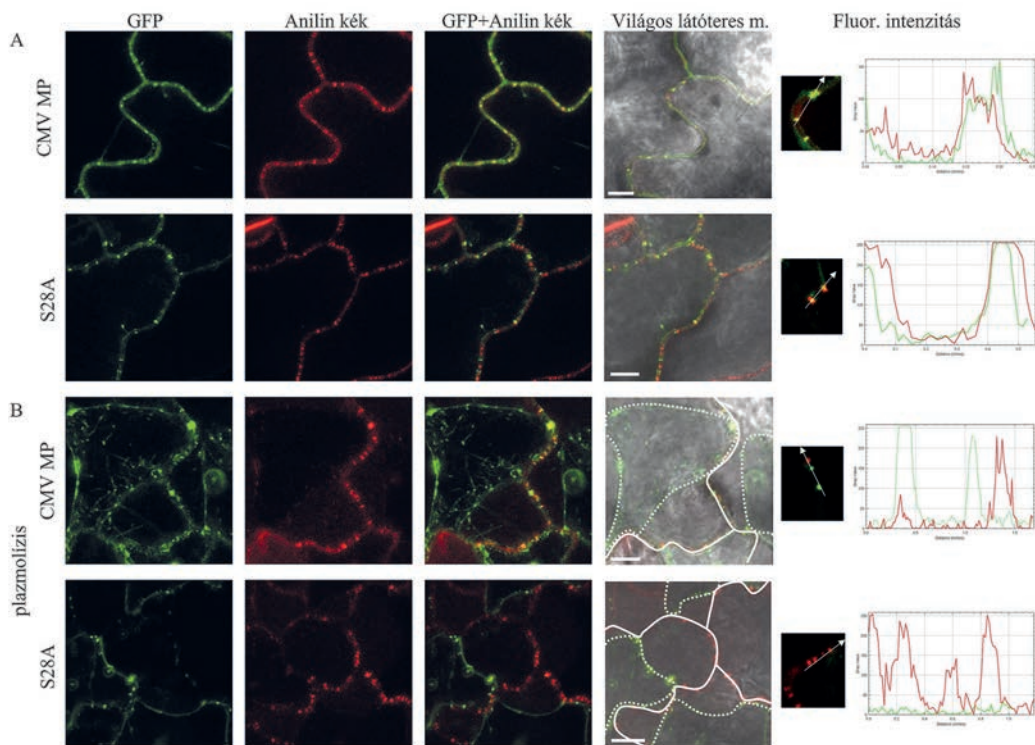
illetve a PSV MP jelenléte nem teszi lehetővé az uborka növények szisztémikus fertőződését (PSV, C12P3, C12RP).

Mivel a különböző gazdanövényeken végzett fertőzéses kísérletek során a mozgási fehérjét (illetve a mozgási fehérje egy aminosavát) azonosítottuk, mint a tüneteket vagy a gazdanövényt meghatározó faktort, megvizsgáltuk a MP sejten belüli lokalizációját *N. benthamiana* és *N. tabacum* cv. Xanthi teszt növényeken. A CMV MP-hez illetve a PSV MP-hez kapcsoltuk a GFP fehérjét (CMV MP-eGFP, PSV MP-eGFP, CMV S28A-eGFP), majd az így jelölt MP-eket expresszáltuk agrobaktériumos infiltrálással a különböző teszt növények levelében.

A CMV MP minden esetben a plazmodezmáknál lokalizálódott, a GFP-vel jelölt MP (zöld szín) a sejtfalon ugyanott volt megfigyel-

hető, mint az anilin késsel (piros szín) jelölt plazmodezmák (3. és 4. ábra). Plazmolízis után, amikor a sejtfal és a plazmamembrán elválik egymástól, a CMV MP döntő többsége továbbra is a plazmodezmáknál lokalizálódott, bizonyítva, hogy beépült a plazmodezmákba (3. és 4. ábra).

A CMV MP S28A konstrukciók sejten belüli lokalizációját *N. tabacum* cv. Xanthi növényeken vizsgáltuk. Megállapítottuk, hogy a vad típusú CMV-vel ellentétben a vírusmutáns jóval kisebb mértékben lokalizálódik a plazmodezmáknál, ezért az S28A-eGFP zöld fluoreszcens jelei szignifikánsan kevesebbszer estek egybe az anilinkék piros jelével (3/A ábra). Ezt a megfigyelést a plazmolízises vizsgálatok is igazolták: a mutáns fehérje nem volt képes kapcsolódni a plazmodezmákhoz, ezért



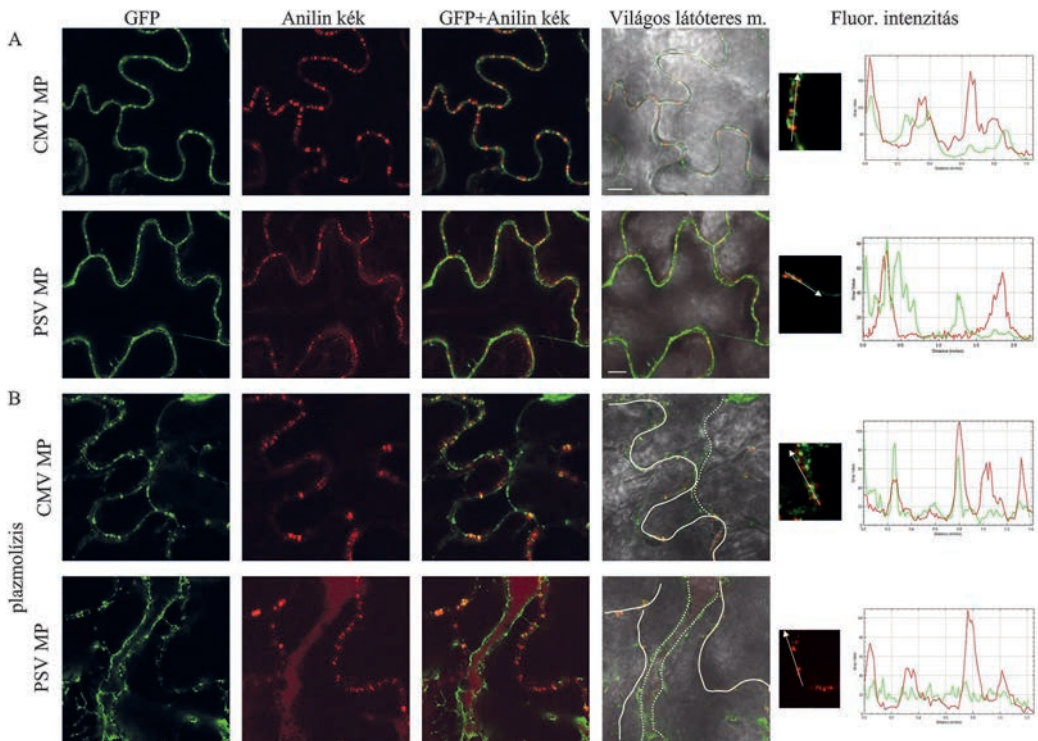
3. ábra. A) CMV MP-eGFP, S28A MP-eGFP növényi sejten belüli lokalizációja *N. tabacum* cv. Xanthi növényeken, plazmodezma kolokalizáció mérése fluoreszcencia intenzitás diagrammokkal. Anilin késsel festett plazmodezmákat piros színnel jelöltük, eGFP-vel jelölt MP-eket pedig zöld színnel. B) CMV MP-eGFP, S28A MP-eGFP plazmolizált növényi sejten belüli lokalizációja *N. tabacum* cv. Xanthi növényeken, plazmodezma kolokalizáció mérése fluoreszcencia intenzitás diagrammokkal, piros függvény plazmodezmákat jelzi, míg a zöld függvény az eGFP-vel jelölt MP-eket.

a plazma membránnal együtt visszahúzódtott a citoplazmába (3/B ábra). Kísérletünk bizonyította, hogy a CMV MP 28. aminosavának fontos szerepe van a MP plazmodezma lokalizációjában, valószínűleg a MP foszforilációján keresztül szabályozódik a vírus RNS átjutása a szomszédos sejtekbe (Sáray és mtsai 2021).

Hasonló módszerekkel hasonlítottuk össze a CMV MP és a PSV MP lokalizációját *N. benthamiana* sejtekben. Míg a CMV MP a plazmodezmáknál lokalizálódik, a PSV MP kisebb hatékonysággal lokalizálódott a plazmodezmáknál és a citoplazmában is homogénen jelen volt (4/A ábra). A plazmodezmákhoz való kötődés pontosabb vizsgálatához plazmolízist végeztünk. CMV esetében a GFP-vel jelölt MP továbbra is a plazmodezmáknál a sejtfalban volt megfigyelhető, azonban a PSV

MP a plazmolízis során a plazma membránnal együtt elvált a sejtfaltól és az anilinkékkel festett plazmodezmáktól (4/B ábra). Kísérletünk bizonyította, hogy a PSV MP nem képes teljesen integrálódni a plazmodezmák szerkezetébe.

A MP-k plazmodezma kolokalizációját fluoreszcencia intenzitás diagrammokkal is megjelenítettük (3. és 4. ábra). CMV MP esetén *N. benthamiana* és *N. tabacum* cv. Xanthi növényen az ép és a plazmolizált sejteken piros színnel jelölt plazmodezma és zölddel jelölt GFP-fúziós MP függvények csúcsai egybe esnek, ezzel jelezve a kolokalizációt. A PSV MP-eGFP és a CMV S28A-eGFP fluoreszcencia intenzitás függvény bizonyítja, hogy a plazmolizált sejtekben a fehérje nem kolokalizál a plazmodezmákkal, a két függvénynek nincsenek közös csúcsai.



4. ábra. A) CMV MP-eGFP, PSV MP-eGFP növényi sejten belüli lokalizációja *N. benthamiana* növényeken, plazmodezma kolokalizáció mérése fluoreszcencia intenzitás diagrammokkal. Anilin kékkel festett plazmodezmákat piros színnel jelöltük, eGFP-vel jelölt MP-eket pedig zöld színnel. B) CMV MP-eGFP, PSV MP-eGFP plazmolizált növényi sejten belüli lokalizációja *N. benthamiana* növényeken, plazmodezma kolokalizáció mérése fluoreszcencia intenzitás diagrammokkal, piros függvény plazmodezmákat jelzi, míg a zöld függvény az eGFP-vel jelölt MP-eket.

Kísérleteink bizonyították, hogy a CMV MP-nek és a PSV MP-nek fontos szerepe van a tünetek jellegének és a gazdanövénykörnek a meghatározásában, nagy valószínűséggel plazmodezma lokalizáció és integráció hatékonyságán keresztül.

A CMV egyik potenciális foszforilációs helyére bevitt pontmutáció meghatározó tényezőnek bizonyult a tünetek kialakításának ütemében és a fehérje sejten belüli lokalizációjában. Azzal, hogy a CMV S28A MP-mutánsban a mozgási fehérje kevésbé hatékonyan lokalizálódik a plazmodezmákhoz, a vírus lassabban képes áttérjedni a szomszédos sejtekbe. Emiatt figyelhetünk meg a *Ch. murale* esetében kisebb léziókat, *N. tabacum* növényeken pedig lassabb szisztemizálódást. Így a CMV MP 28. aminosava alapvetően szabályozza a plazmodezma lokalizációt. Az aminosav pontos szerepét még nem ismerjük, akár egy növény-patogén közötti fehérje-fehérje kölcsönhatásban van szerepe, akár két vírusfehérje közötti interakcióért felel, a mostani eredményünk további kísérleteknek adhat teret a vírus mozgási fehérjék kutatásában.

A PSV esetében korábban semmilyen adat nem állt rendelkezésünkre a MP lokalizációról és funkciójáról, így a jelenlegi eredményeink fontos, hiánypótló adatokkal szolgálnak a vírus mozgási fehérjéről és a vírus tünetek kialakításáról, a gazdanövénykör meghatározásáról. A PSV MP esetén megállapítottuk, hogy ugyan a PSV MP plazmodezma lokalizációja kimutatható, de nem kötődik azokhoz olyan hatékonyan, mint a CMV MP, ez okozza *C. sativus* esetében a két vírus közti gazdanövény különbséget, illetve *N. benthamiana* növényen a CMV és PSV által indukált tünetek eltérő jellegét. Továbbiakban PSV legfontosabb gazdanövényein, a pillangós virágú növényeken (pl. akác, bab) fogjuk meghatározni a MP lokalizációt, és a fehérje-fehérje kölcsönhatások részletes vizsgálatával még pontosabb képet kaphatunk a vírusfertőzések folyamatáról.

IRODALOM

Choi, S.K., Palukaitis, P., Min, B.E., Lee, M.Y., Choi, J.K. and Ryu, K.H. (2005): Cucumber mosaic virus 2a polymerase and 3a movement proteins inde-

pendently affect both virus movement and the timing of symptom development in zucchini squash. *Journal of General Virology*, 86(4): 1213–1222.

- Ding, S.W., Li, W.X. and Symons, R.H. (1995): A novel naturally occurring hybrid gene encoded by a plant RNA virus facilitates long distance virus movement. *The EMBO Journal*, 14(23): 5762–5772.
- Divéki, Z., Salánki, K. and Balázs, E. (2004): The necrotic pathotype of the Cucumber mosaic virus (CMV) Ns strain is solely determined by amino acid 461 of the 1a protein. *Molecular plant-microbe interactions*, 17(8): 837–845.
- Edwardson, J. R. and Christie, R. G. (2018): CRC handbook of viruses infecting legumes. CRC Press.
- Gal-On, A., Kaplan, I.B. and Palukaitis, P. (1996): Characterization of Cucumber mosaic virus: II. Identification of movement protein sequences that influence its accumulation and systemic infection in tobacco. *Virology*, 226(2): 354–361.
- Gal-On, A., Kaplan, I., Roossinck, M.J. and Palukaitis, P. (1994): The kinetics of infection of zucchini squash by cucumber mosaic virus indicate a function for RNA 1 in virus movement. *Virology*, 205(1): 280–289.
- Hu, Z., Zhang, T., Yao, M., Feng, Z., Miriam, K., Wu, J., Zhou, X. and Tao, X. (2012): The 2a protein of Cucumber mosaic virus induces a hypersensitive response in cowpea independently of its replicase activity. *Virus Research*, 170(1-2): 169–173.
- Kaplan, I.B., Gal-On, A. and Palukaitis, P. (1997): Characterization of cucumber mosaic virus. III. Localization of sequences in the movement protein controlling systemic infection in cucurbits. *Virology*, 230(2): 343–349.
- Kim, C.H. and Palukaitis, P. (1997): The plant defense response to cucumber mosaic virus in cowpea is elicited by the viral polymerase gene and affects virus accumulation in single cells. *The EMBO Journal*, 16(13): 4060–4068.
- Kiss, L., Sebestyén, E., László, E., Salamon, P., Balázs, E. and Salánki, K. (2008): Nucleotide sequence analysis of peanut stunt virus Rp strain suggests the role of homologous recombination in cucumovirus evolution. *Archives of Virology*, 153(7): 1373–1377.
- Mochizuki, T. and Ohki, S.T. (2012): Cucumber mosaic virus: viral genes as virulence determinants. *Molecular plant pathology*, 13(3): 217–225.
- Nemes, K., Gellért, Á., Balázs, E. and Salánki, K. (2014): Alanine scanning of Cucumber mosaic virus (CMV) 2B protein identifies different positions for cell-to-cell movement and gene silencing suppressor activity. *Plos One*, 9(11): e112095.
- Netsu, O., Hiratsuka, K., Kuwata, S., Hibi, T., Ugaki, M. and Suzuki, M. (2008): Peanut stunt virus 2b cistron plays a role in viral local and systemic accu-

- mulation and virulence in *Nicotiana benthamiana*. Archives of Virology, 153(9): 1731–1735.
- Roossinck, M. J. and Palukaitis, P.** (1990): Rapid induction and severity of symptoms in zucchini squash (*Cucurbita pepo*) map to RNA 1 of cucumber mosaic virus. Mol. Plant-Microbe Interact, 3(1): 188–192.
- Salánki, K., Gellért, Á., Náray-Szabó, G. and Balázs, E.** (2007): Modeling-based characterization of the elicitor function of amino acid 461 of Cucumber mosaic virus 1a protein in the hypersensitive response. Virology, 358(1): 109–118.
- Salánki, K., Kiss, L., Gellért, Á. and Balázs, E.** (2011): Identification a coat protein region of cucumber mosaic virus (CMV) essential for long-distance movement in cucumber. Archives of Virology, 156(12): 2279–2283.
- Sáray, R., Fábíán, A., Palkovics, L. and Salánki, K.** (2021): The 28 Ser Amino Acid of Cucumber Mosaic Virus Movement Protein Has a Role in Symptom Formation and Plasmodesmata Localization. Viruses 13: 222.
- Takahashi, H., Suzuki, M., Natsuaki, K., Shigyo, T., Hino, K., Teraoka, T., Daijiro, H. and Ehara, Y.** (2001): Mapping the virus and host genes involved in the resistance response in cucumber mosaic virus-infected Arabidopsis thaliana. Plant and cell physiology, 42(3): 340–347.
- Taliansky, M.E. and Garcia-Arenal, F.** (1995): Role of cucumovirus capsid protein in long-distance movement within the infected plant. Journal of Virology, 69(2): 916–922.
- Xu, A., Zhao, Z., Chen, W., Zhang, H., Liao, Q., Chen, J., John, P. and Du, Z.** (2013): Self-interaction of the cucumber mosaic virus 2b protein plays a vital role in the suppression of RNA silencing and the induction of viral symptoms. Molecular Plant Pathology, 14(8): 803–812.

THE ROLE OF CUCUMBER MOSAIC VIRUS AND PEANUT STUNT VIRUS MOVEMENT PROTEIN IN SYMPTOM FORMATION AND HOST RANGE DETERMINATION

D. Pinczés^{1,2}, R. Sáray^{1,2}, A. Fábíán³, L. Palkovics⁴ and K. Salánki¹

¹Eötvös Lóránd Research Network, Centre for Agricultural Research, Plant Protection Institute, Department of Plant Pathology, H-1022 Budapest, Herman Ottó road 15. Hungary

²Hungarian University of Agriculture and Life Sciences, Doctoral School of Horticultural Sciences H-1118 Budapest, Villányi road 29-43. Hungary

³Eötvös Lóránd Research Network, Centre for Agricultural Research, Agricultural Institute, Department of Biological Resources, H-2462 Martonvásár, Brunszvik street 2.

⁴Széchenyi István University, Faculty of Agriculture and Food Sciences, Department of Plant Sciences, 9200 Mosonmagyaróvár, Vár square 2. Hungary

Among the members of the genus *Cucumovirus*, *Cucumber mosaic virus* (CMV) has an extremely wide and variable host range and one of the economically most important viruses, while *Peanut stunt virus* (PSV) has a much limited host range and its symptoms are significantly weaker as well. Previous studies proved that all of the five proteins transcribed from the genome of cucumoviruses have a role in determining pathological characteristics. In this respect, the least information is currently available on the movement protein (MP).

In our experiments, we demonstrated the effect of MP modification on pathological properties and compared the role of CMV MP and PSV MP in the determination of symptom formation and host range on *Nicotiana benthamiana*, *Nicotiana tabacum* cv. Xanthi, *Chenopodium murale* and *Cucumis sativus*. The main function of the MP is to promote cell-to-cell movement of the virus, and its intracellular localization can be observed primarily at the plasmodesmata. In the present study we demonstrated that changes in MP localization play a key role in determining viral symptoms and host range.

Keywords: *Cucumovirus*, *Cucumber mosaic virus*, *Peanut stunt virus*, movement protein, host range

Érkezett: 2021. szeptember 27.

SZENTESEEN ÜVEGHÁZBAN TERMESZTETT PAPRIKAMINTÁK VIROLÓGIAI VIZSGÁLATA A 2019–2021 KÖZÖTTI IDŐSZAKBAN*

Sáray Réka^{1,2}, Pinczés Dóra^{1,2}, Salánki Katalin¹, Bulecza Csaba³, Csilléry Gábor⁴, Tóbiás István¹ és Almási Asztéria¹

¹Eötvös Loránd Kutatási Hálózat, Agrártudományi Kutatóközpont, Növényvédelmi Intézet, Növénykórtani Osztály, 1022 Budapest, Herman Ottó út 15.

²Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Kertészettudományi Doktori Iskola, 1118 Budapest, Villányi út 29–43.

³Árpád-Agrár Zrt., 6600 Szentes, Apponyi tér 12.

⁴Budakert Kft., 1114 Budapest, Bartók Béla út 41.

E-mail: almasi.aszteria@atk.hu

A szentesi paprika termesztő régióból, üvegházból származó paprika minták (hajtás, levél, bogyó) vírusfertőzöttségét vizsgáltuk a 2019–2021 közötti időszakban. A minták döntő többségében paradicsom bronzfoltosság vírus (Tomato spotted wilt virus, TSWV) jelenlétét mutattuk ki. Gyakori volt még az uborka mozaik vírus (Cucumber mosaic virus, CMV) és a paprika enyhe tarkulás vírus (Pepper mild mottle virus, PMMoV) előfordulása is, míg a burgonya Y vírus (Potato virus Y, PVY) egyetlen mintában volt kimutatható. Érdekes megfigyelés volt, hogy a CMV az esetek felében a TSWV-vel kevert fertőzésben fordult elő. A vizsgált üvegházakban jelenleg $L^{1,2}$ rezisztenciát hordozó paprika fajtákat termesztenek, azonban vizsgálataink szerint a $L^{1,2,3}$ rezisztenciát áttörő PMMoV izolátum előfordulása továbbra is gyakori.

Kulcsszavak: paprika, paradicsom bronzfoltosság vírus, uborka mozaik vírus, paprika enyhe tarkulás vírus, burgonya Y vírus, $L^{1,2,3}$ rezisztencia

A paprika (*Capsicum annuum* L.) a világon az egyik legelterjedtebb termesztett zöldség-növény, amely mind gazdasági mind élelmezési szempontból jelentős. Magyarországon az 1500–1550 hektár felületű hajtató berendezésből, zárttérből származó frisspiaci paprikatermés évi 180–185 ezer tonna, ami az európai termelés kb. 5%-a. A klímaváltozás és az ezzel együtt járó invazív kártevők és kórokozók terjedése, megjelenése miatt az üvegházi és fóliasátorban történő termesztés kedvezőbb körülményeket biztosít a paprika, illetve egyéb melegkedvelő zöldség-növények számára. A modern termesztéstechnológia alkalmazása ellenére időről időre kialakulnak vírusfertőzések az üvegházi paprika állományokban is, amelyek monitorozása, azonosítása elengedhetetlen a megfelelő védekezési, növényvédelmi stratégia kialakításához.

A 2019–2021 időszakban a hazai paprikatermesztés egyik legjelentősebb régiójából, Szentes és környékéről származó közel 100 tünetes paprika minta virológiai vizsgálatát végeztük el. A tesztnövény és molekuláris vizsgálatok eredményeit összegezve megállapítottuk, hogy az utóbbi időben mely vírusok fordulnak elő nagyobb gyakorisággal a zárttéri termesztésben, illetve a tobamovírusok közül milyen rezisztenciátörő törzsek vannak jelen.

A paprika számos növényvírus gazdanövénye, a világon több mint 50 vírus fertőzi (Green és Kim 1991, Gáborjányi és mtsai 1997, 1998). Hazánkban a legfontosabb vírusok az uborka mozaik vírus (CMV), a paradicsom bronzfoltosság vírus (TSWV), a tobamovírus nemzetség tagjai, a potyvírusok közül elsősorban a burgonya Y vírus (PVY). Az egyes vírusok jelentő-

*A közleményt Gáborjányi Richárdnak ajánljuk 80. születésnapja alkalmából.

sége azonban időszakonként változik bizonyos körülmények hatására. A szabadföldi termesztés esetében, amely régen túlsúlyban volt az üvegházi és fóliasátorban történő termesztéssel szemben például a levéltetű által terjesztett PVY, CMV igen nagy termésveszteségeket okozott, és a mechanikai úton terjedő dohány mozaik vírus (TMV), paradicsom mozaik vírus (ToMV) szintén gyakori kórokozónak számított.

A CMV elsősorban levéltetű átvitelrel terjed, számos levéltetűfaj képes a vírus átvitelére. Két fő alcsoportba (I. és II) osztották a vírustörzseket eltérő erősségű tünetek és nukleinsav sorrend homológia viszonyaik alapján, és hazánkban is mindkét alcsoportba tartozó törzsek jelen vannak (Szilassy és mtsai 1999). Szabadföldi körülmények között a CMV napjainkban is az egyik legfontosabb patogén a zöldségnövény termesztésben. Rezisztens paprika fajtát nagyon nehéz előállítani, valószínűleg a rezisztencia tulajdonság kialakításában több faktor, illetve gén vesz részt.

A PVY-t is levéltetvek terjesztik hatékonyan, azonban kialakultak olyan törzsei is, amelyek nem képesek levéltetű átvitelre. A CMV-hez hasonlóan jelentősége a szabadföldi termesztésben nagyobb, mint zárt termesztés esetén.

A TSWV fertőzés tripsz fajok által terjed, a szabadban, hazánkban a dohánytripsz (*Thrips tabaci* Lindeman) a vektora. Magyarországon először 1972-ben írták le előfordulását (Ligeti és Nagy 1972), a dohány földeken okozott nagyobb járványokat. Üvegházi paprikatermesztésben a másik fontos vektora, a virágtripsz (*Frankliniella occidentalis*) behurcolásával és terjedésével vált jelentőssé a szentesi paprika-és paradicsom termesztő régióban (Gáborjányi és mtsai 1995). Miután *Capsicum chinense* vonalából sikerült nemesítéssel rezisztenciagént (*Tsw gén*) átvinni termesztett paprikába, világszerte ezeket a fajtákat kezdték termesztésbe vonni, aminek következtében a szelekciós nyomás hatására kialakultak a rezisztenciatoró (RB) törzsek. Ezután nálunk is széles körben elterjedtek a *Tsw* rezisztenciagént hordozó fajták, és megjelent az RB törzs. Hazánkban először 2010–2012 között észlelték ezek előfordulását (Bese és mtsai

2012, Csilléry és mtsai 2012), molekulárisan jellemezték, majd a rezisztenciatorósért felelős pontmutációkat is azonosították (Almási és mtsai 2015, 2017). A TSWV továbbra is gondot okoz az üvegházakban.

A tobamovírusok elsősorban mechanikai úton terjednek, a növényen belüli magas víruskoncentráció miatt a talajban, a termesztő felületeken, a növénynevelés során érintkezéssel nagyon könnyen átvihetők, ezért súlyos gazdasági károkat okoznak. Bár a maggal terjedés pontos mechanizmusa nem teljesen bizonyított, a mag felületén, tehát külsőleg nem megfelelő fertőtlenítés (csávázás) által is kialakulhat fertőzés (Tóbiás és mtsai 2016). A legismertebb tobamovírusok, a TMV és ToMV fertőzéssel szemben régóta folyik rezisztencianemesítés. A paprika L rezisztenciagénnek különböző fokú rezisztenciát biztosító alléljait tartalmazó ellenálló fajtákat sikerült előállítani, azonban a szelekciós nyomás hatására mindig megjelennek és dominánssá válnak az adott területen jellemző víruspopulációban az újabb, magasabb rezisztencia fokot áttörő vírustörzsek, vírusfajok. Az eredeti vad TMV P0 patotípusú törzse nem képes az L¹ allélt hordozó paprikafajtákat szisztemikusan fertőzni, itt a lokális hiperszenzitív reakció (HR) gátolja a vírus hosszútávú terjedését a növényben. Azonban a P₁ és annál magasabb patotípusú törzsek áttörik ezt a rezisztenciát, és szisztemikus tüneteket okoznak a gazdanövény fertőzése során. A paprika-tobamovírus közötti L génen alapuló rezisztenciaviszonyokat részletesen vizsgálták és összegezték korábban (Boukema és mtsai 1980, Tóbiás és mtsai 1982). A P₂ patotípusú Óbuda paprika vírust (ObPV) Magyarországon írták le először (Csilléry és mtsai 1983), majd az L2 rezisztens paprika fajták elterjedésével hazánkban is megjelent a paprika enyhe tarkulás vírus (PMMoV) P_{1,2} patotípusú törzse (Kálmán és mtsai 2001). Ahogy az L³ magasabb rezisztenciát hordozó fajtákat termesztésbe vonták, Olaszországban egy P_{1,2,3} rezisztenciatoró törzs vált dominánssá egyes üvegházakban és fóliasátrakban. Magyarországon is leírták az L³ rezisztenciát áttörő patotípus előfordulását (Kiss és mtsai 2007). Ma már több országból

közölték a P_{1,2,3,4} patotípusú PMMoV törzsek megjelenését is (Antignus és mtsai 2008).

Anyag és módszer

Növényminták, tesztnövény vizsgálatok

A növényi szövetekből foszfát pufferrel mechanikai fertőzést végeztünk tesztnövényekre: *Nicotiana tabacum* cv. Xanthi-nc, *N. t.* cv. Samsun, *N. benthamiana*, *Chenopodium quinoa*, *Ch. amaranticolor* és *Capsicum annuum* cv. Bravia, illetve *C. a.* cv. Etele növényekre. A fertőzést követően 2-3 hétig a növényeket fitotronban tartottuk, és nyomonkövettük a lokális és/vagy szisztemikus tünetek megjelenését.

Molekuláris vizsgálatok

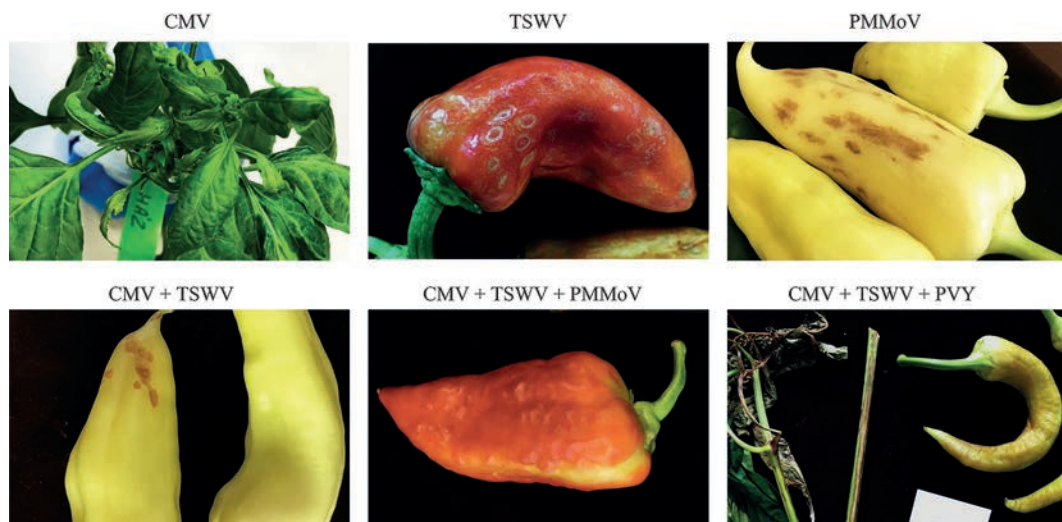
A növényekből össz-nukleinsavat vontunk ki (White és Kaper 1989) és multiplex RT-PCR-t végeztünk specifikus primerpárokkal (Nemes és Salánki 2020). A PCR reakciónál a következő paramétereket alkalmaztuk: 5 perc kezdő denaturálás 95 °C-on, majd 30 ismétlés a következő ciklusból: 30 másodperc 95 °C-on, 1perc 30 másodperc 60 °C-on és 1 perc 72 °C-on; végül 10 perc 72 °C-on. Egyes ese-

tekben a kapott PCR termék, illetve p-Gem T Easy vektorba klónozott PCR termék nukleotid sorrendjét meghatároztuk (Biomi).

Az aminosav sorrend összehasonlítást és a filogenetikai elemzést a MEGA X programmal végeztük (Kumar és mtsai 2018).

Eredmények

A szentesi paprika termesztő régióból 2019–2021 közötti időszakban 98 tünetes paprika mintát kaptunk (hajtást, levelet, vagy bogyót). A paprika mintákon megfigyelhető betegségi tünetek (1. ábra) változatosak voltak, ezek alapján a vírus nem identifikálható. A tesztnövény- és PCR vizsgálatok alapján a 98 paprika makroszkópos tüneteket mutató mintából 57 bizonyult vírus fertőzöttnek, azaz a minták több, mint a fele (58%). A pozitív minták legnagyobb része TSWV fertőzött volt (67%), 11 minta (19%) tartalmazott valamilyen tobamovírust, 7 minta (12%) CMV-t, míg egy esetben azonosítottunk potyvírust, amely specifikus primerpárral végzett további PCR alapján PVY-nak bizonyult (2. ábra). Nyolc esetben kevert fertőzés állt fenn, ebből leggyakoribb a TSWV+CMV kettes fertőzés volt (6 eset), míg két alkalommal hármas fertőzést is detektáltunk: az egyikben a TSWV mellett PVY és tobamovírus jelenlétét



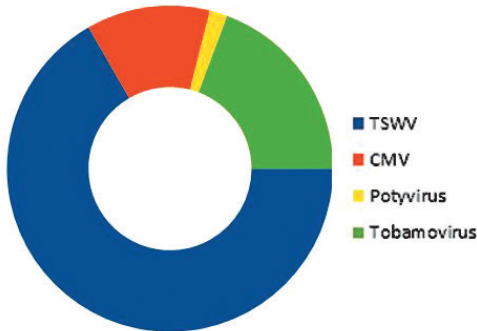
1. ábra. Makroszkópos tünetek vírusfertőzött paprika mintákon

igazoltuk, míg a másik növény TSWV+CMV mellett még tobamovírussal is fertőzött volt (1. táblázat).

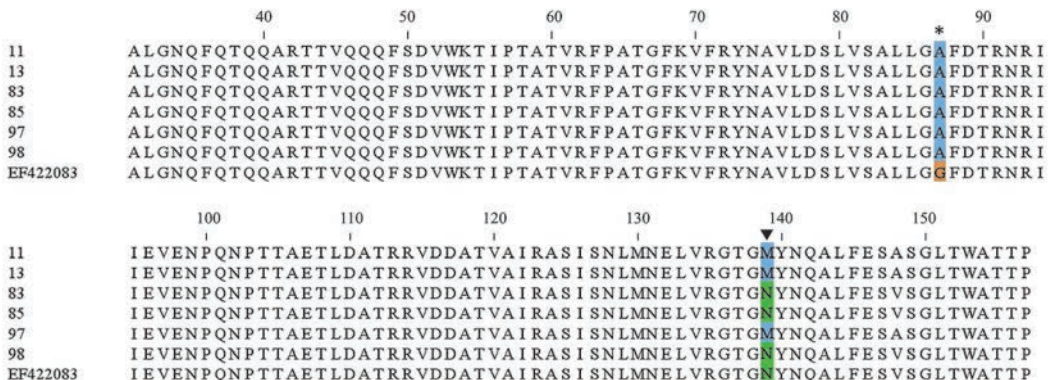
1. táblázat

A paprikamintákban detektált vírusok előfordulása. A számok a fertőzött minták számát mutatják

TSWV		38
CMV		7
Potyvirus		1
Tobamovirus		11
Ebből kevert	TSWV+CMV	6
	Potyvirus+Tobamovirus+TSWV	1
	CMV+TSWV+Tobamo	1



2. ábra. A fertőzött paprika mintákban detektált vírusok megoszlása. A vizsgált vírusokat különböző színnel jelöltük.



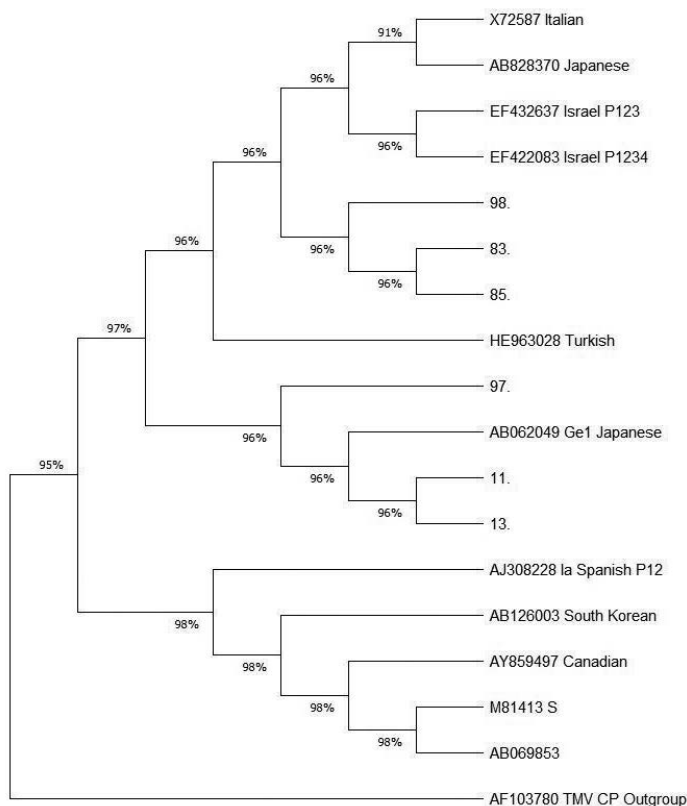
3. ábra. A paprikamintákban azonosított PMMoV törzsek és egy L^4 rezisztencia törő izraeli törzs (acc. szám EF422083) aminosav sorrendjének összehasonlítása a köpenyfehérje patogénitást meghatározó szakaszában. A □ a $P_{1,2,3}$ patotípusra jellemző aminosav pozícióját jelöli, míg a ▼ a $P_{1,2,3,4}$ patotípust kialakító aminosav cseréjét mutatja.

$P_{1,2}$ patotípusra jellemző metionin volt megtalálható (83., 85., 98). A $P_{1,2,3,4}$ patotípusú izraeli törzsben az L^4 rezisztencia áttöréséért felelős A87G aminosav csere is jelen van, míg a magyar törzsek ebben a pozícióban alanint tartalmaznak (3. ábra), tehát az L^4 rezisztencia áttörésére nem képesek. Filogenetikai analízis bizonyította, hogy a vizsgált, Magyarországon található PMMoV törzsek nem egy homogén csoportot alkotnak, hanem a törzsfák különböző ágain helyezkednek el (4. ábra). Érdekes megemlíteni, hogy az $L_{1,2,3}$ rezisztenciatoró törzsek a törzsfák egyik ágán helyezkednek el, míg a $P_{1,2}$ patotípusba tartozók egy másik ágon találhatók (4. ábra).

Megvitatás

Az üvegházban termesztett paprika állományban az utóbbi három év alatt a TSWV okozta a legsúlyosabb vírusfertőzést, a minták 2/3-nál fordult elő. Szintén gyakori volt a CMV és a PMMoV fertőzés is. Érdekes, hogy a CMV gyakran a TSWV-vel együtt, kevert fertőzésben fordul elő, míg a PMMoV az esetek többségében önállóan volt jelen. Három vírus együttes jelenlétét két esetben detektáltuk (TSWV+PMMoV+PVY, TSWV+CMV+PMMoV), és itt kell megjegyezni, hogy a PVY fertőzés egyetlen esetben, és akkor is kevert fertőzésben volt jelen, így komoly növényvédelmi problémát nem okozott az elmúlt években.

A tobamovírus fertőzés minden esetben PMMoV törzsének bizonyult, érdekes, hogy egyéb, a paprikán előforduló és súlyos károkat okozó tobamovírus (pl. TMV, ToMV, TMGMV, BePMV, PaMMV, ObPV, PMMoV) a vizsgált mintákban nem fordult elő. Az irodalmi adatokkal összevetve a köpenyfehérje régiójában található 138-as aminosav pozíció alapján a vizsgált minták közül négy a $P_{1,2,3}$ patotípusba sorolható, míg három $P_{1,2}$ patotípushoz tartozott. Magyarországon éppen a szentesi körzetben írták le korábban a P_{12} törzset (Kálmán és mtsai 2001), ezért az L^3 rezisztenciájú paprikafajták termesztésére tértek át az L^2 rezisztenciájú fajták helyett. Hamarosan megjelent Magyarországon az L^3 rezisztenciát áttörő, $P_{1,2,3}$ patotípusú PMMoV izolátum, amit először a szentesi paprikatermesztő régióban azonosítottak (Kiss és mtsai 2007). Az utóbbi években, azokban az üvegházakban,



4. ábra. Filogenetikai törzsfák a PMMoV köpenyfehérje patogenitást meghatározó régiójának nukleotid sorrendje alapján. A munka során izolált törzseket számokkal jelöltük (11, 13, 83, 85, 98), az összehasonlításban szerepelnek a génbankból (NCBI) származó izolátumok nukleinsav sorrend adatai. Az ismert patotípusba tartozó törzsek típusát jelöltük.

ahonnan a vizsgált minták származtak, csak L^{1,2} rezisztenciát hordozó paprika fajtákat termesztene. Ennek ellenére a L^{1,2,3} rezisztenciát törő PMMoV izolátumok továbbra is jelen vannak, sőt a vizsgált izolátumok többsége P₁₂₃ patotípushoz tartozik.

Köszönetnyilvánítás

Sáray Réka munkáját az Innovációs és Technológiai Minisztérium ÚNKP-21-3-II-MAT kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapja támogatta.

IRODALOM

- Almási, A., Csilléry, G., Csömör, Z., Nemes, K., Palkovics, L., Salánki, K. and Tóbiás I. (2015): Phylogenetic analysis of Tomato spotted wilt virus (TSWV) NSs protein demonstrates the isolated emergence of resistance-breaking strains in pepper. *Virus Genes*, 50: 71–78.
- Almási, A., Nemes, K., Csömör Z., Tóbiás, I., Palkovics, L. and Salánki, K. (2017): A single point mutation in Tomato spotted wilt virus NSs protein is sufficient to overcome Tsw-gene-mediated resistance in pepper. *J. Gen. Virol.*, 98: 1521–1525.
- Antignus, Y., Lachman, O., Pearlsman, M., Maslenin, L. and Rosner, A. (2008): A New Pathotype of Pepper mild mottle virus (PMMoV) Overcomes the L4 Resistance Genotype of Pepper Cultivars. *Plant Disease*, 92(7): 1033–1037.
- Berzal-Herranz, A., de la Cruz, A., Tenllado, F., Díaz-Ruiz, J.R., López, L., Sanz, A.I., Vaquero, C., Serra, M.T. and García-Luque, I. (1995): The Capsicum L3 gene-mediated resistance against the tobamovirus is elicited by the coat protein. *Virology*, 209(2): 498–505.
- Bese, G., Krizbai, L., Horváth, J. and Takács, A. (2012): Resistance breaking strain of Tomato spotted wilt virus (TSWV) on resistant pepper cultivars in Hungary. In International Symposium: Current Trends in Plant Protection-Proceedings. Institute for Plant Protection and Environment, Belgrade (Serbia).
- Boukema, I. W., Jansen, K. and Hofman, K. (1980): Strains of TMV and genes for resistance. *Capsicum*, Eucarpia Working Group. Synopses of the 4th Meeting, Wageningen, 44 pp.
- Csilléry, G., Almási, A. and Tóbiás, I. (2012): Occurrence of resistance breaking strain of Tomato spotted wilt virus on resistance pepper cultivars in Hungary. The 21st International Pepper Conference, Florida, November 4-6 2012, pp 27.
- Csilléry, G., Tóbiás, I. and Ruskó, J. (1983): A new pepper strain of tomato mosaic virus. *Acta Phytopath. Hung.* 18: 195–200.
- Green, S.K. and Kim, J.S. (1991): Characteristics and Control of Viruses Infecting Peppers: A Literature Review. Technical Bulletin No. 18, Asian Vegetable Research and Development Centre, 60 p.
- Gáborjányi R., Vasdinyei R., Almási A., Csilléry G. és Ekés M. (1995): A paradicsomot, a paprikát és a dohányt fertőző paradicsom bronzfoltosság vírus hazai izolátumainak tünettanai és szerológiai jellemzése. *Növényvédelem*, 31: 533–540.
- Gáborjányi R., Pogány M. és Horváth J. (1997): A vírusok szerepe a paprika pusztulásban. *Növényvédelem*, 33: 181–185.
- Gáborjányi, R., Horváth, J., Kovács, J. and Kazinczi, G. (1998): Role of virus- and phytoplasma infections in pepper decline in Hungary: An overview. *Acta Phytopathol. Entomol. Hung.*, 33: 261–268.
- Kálmán, D., Palkovics, L. and Gáborjányi, R. (2001): Serological, Pathological and Molecular Characterisation of Hungarian Pepper Mild Mottle Tobamovirus (PMMoV) Isolates, *Acta Phytopathol. Entomol. Hung.*, 36: 31–42.
- Kiss L., Salánki K., Csilléry G. és Palkovics L. (2007): A paprika enyhe tarkulás vírus (Pepper mild mottle virus, PMMoV) L3 rezisztenciát áttörő patotípusának előfordulása Magyarországon, a kórokozó molekuláris jellemzése. *Növényvédelem*, 43(11): 509–514.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Nuyaz, C. and Tamura, K. (2018): MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6): 1547–1549.
- Ligeti L. és Nagy Gy. (1972): A *Lycopersicum* virus 3 dohányültetvényeink új, veszedelmes kórokozója. *Dohányipar*, 1: 41–43.
- Nemes, K. and Salánki, K. (2020): A multiplex RT-PCR assay for the simultaneous detection of prevalent viruses infecting pepper (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Virological Methods*. 278:113838.
- Szilassy, D., Salánki, K. and Balázs, E. (1999): Molecular evidence for the existence of two distinct subgroups in cucumber mosaic cucumovirus. *Virus Genes*, 18(3):221–227.
- Tóbiás, I., Csilléry, G., Nemes, K., Almási, A. és Salánki, K. (2016): Visszatérő kérdés: Vajon a tobamovírusok terjednek paprikamagokkal? *Növényvédelem*, 77: 353–357.
- Tóbiás, I., Rast, A.T.B. and Maat, D.Z. (1982): Tobamoviruses of pepper, eggplant and tobacco: comparative host reactions and serological relationships. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 88: 257–268.
- White, J.L. and Kaper, J.M. (1989): A simple method for detection of viral satellite RNAs in small plant tissue samples. *Journal of Virological Methods*, 23: 83–93.

VIROLOGICAL SURVEY OF GREENHOUSE PEPPER SAMPLES IN THE PERIOD OF 2019–2021

R. Sárany^{1,2}, D. Pinczés^{1,2}, K. Salánki¹, Cs. Bulecza³, G. Csilléry⁴, I. Tóbiás¹ and A. Almási¹

¹Eötvös Lóránd Research Network, Centre for Agricultural Research, Plant Protection Institute, Department of Plant Pathology, H-1022 Budapest, Herman Ottó road 15. Hungary

²Hungarian University of Agriculture and Life Sciences, Doctoral School of Horticultural Sciences H-1118 Budapest, Villányi road 29–43. Hungary

³Árpád-Agrár Zrt., 6600 Szentés, Apponyi tér 12.

⁴Budakert Kft., 1114 Budapest, Bartók Béla út 41.

Viral infection of pepper samples (stems, leaves, fruits) was investigated from the Szentés pepper growing region and greenhouse in the period of 2019–2021. The presence of tomato spotted wilt virus (TSWV) was detected in the vast majority of the samples. Cucumber mosaic virus (CMV) and pepper mild mottle virus (PMMoV) was also frequent, while potato Y virus (Potato virus Y, PVY) was detected in a single sample. It was an interesting observation that CMV occurred in mixed infection with TSWV in half of the cases. Even if pepper varieties with L^{1,2} resistance are currently grown in greenhouses, the occurrence of L^{1,2,3} resistance breaking isolates of PMMoV is still frequent.

Keywords: pepper, *Tomato spotted wilt virus*, *Cucumber mosaic virus*, *Pepper mild mottle virus*, *Potato virus Y*, L^{1,2,3} resistance

Érkezett: 2021. szeptember 27.

A NÖVÉNYVÉDELMI KLUB

2021. november 8-án 14,30 órától várja az érdeklődőket a Növény-, Talaj- és Agrárkörnyezet-védelmi Igazgatóság (1112 Budapest, Budaörsi út 141–145.) előadótermében tartjuk.

A klubdélutánon **Magyar Donát PhD.** aerobiológus
Nemzeti Népegészségügyi Központ

**A GLOBÁLIS MEGATRENDEK – VILÁGJÁRVÁNYOK
ÉS GLOBALIZÁCIÓ, TECHNOLÓGIAI FEJLŐDÉS
ÉS KLÍMAVÁLTOZÁS – HATÁSA A MIKROSZKOPIKUS
GOMBÁK TERJEDÉSÉRE MAGYARORSZÁGON**

címen tart előadást.

VÁRJUK A FIATAL ÉRDEKLŐDŐKET AZ ÖSSZEJÖVETELEINKEN!

Dr. Tarjányi József és **Zsigó György**
a Klub elnöke a Klub titkára

A RENDELETALKOTÓ, A HELYI HATÓSÁG, A FEJLŐDÉS ÉS A SZAKEMBER ÖRÖKÖS VITÁJA (...pedig a cél ugyanaz lenne)

A m. kir. földművelésügyi miniszter 1927. évi 76.349. számú rendelete,

*az almamoly, gyümölcspenész, varasodás és bábaszilva elleni
védekezésről.*

A 96.950/1924. F. M. számú rendelettemmel (Magy. Rend. Tára 1924. évf. 680. o.) az almamoly, gyümölcspenész, varasodás és a bábaszilva elleni védekezést hatósági felügyelet alá helyeztem. Ezzel módot kívántam nyújtani az illetékes hatóságoknak arra, hogy ott, ahol azt a helyi viszonyoknál fogva sürgősnek és végrehajthatónak találják, a védekezést kötelezővé tegyék. A védekezés sikeres végrehajtását elsősorban a közönség megfelelő széleskörű felvilágosításától várom.

Ezekben az új körzetekben a közönség megfelelő felvilágosítása, egyúttal a védekezés végrehajtásánál és ellenőrzésénél közreműködő közegek kioktatása céljából ismertető előadások tartása iránt külön fogok intézkedni.

Különleges eszközöket igénylő védekező eljárásokat, amelyek alkalmazásáról és hatásáról a gazdaközönség kellően felvilágosítva még nincs — mint pl. a permezést — ezidőszere még nem lehet kötelezővé tenni.

3. A köztulajdont képező fákon a védekezésről a községi előjáróság (a város tanácsa), az utak mentén, valamint az úttesteden levő fákon pedig az útfenntartó köteles gondoskodni.

4. A védekezés végrehajtását a mező- vagy hegyőrök ellenőrizni, és mulasztás esetén erről a községi előjáróság (város tanácsa) által a növényvédelmi rendelkezések végrehajtásának ellenőrzésével egyébként is megbízott előjárósági tagnak vagy felelős tisztviselőnek jelenteni kötelesek.

Lecsupaszítva a kérdést: meszeljük le a gyümölcsfa törzsét és az elegendő, vagy használjuk az új eszközöket eljárásokat ez eredményesebb védekezésért? A rendelet hagy egy kiskaput, vagy előre védi magát a várható támadásokért? („Ne rendeljünk el olyat, amit sokan/többen nem tudnak végrehajtani!”). A helyi hatóság a miniszteri rendeletben megfogalmazott lehetőséget kihasználja.

Az ellenőrzést végzők felkészültsége nincs a csúcson.

A szakember bosszankodik, figyelmeztet, javaslatot készít.

Van megoldás? Az idő megoldja...

NÖVÉNYVÉDELEM

1927 november 15.

A gyümölcsvédelmi rendeletek végrehajtása

Ha az 1925. évi gyümölcsvédelmi rendelet alapján, a község határozottan előírta volna hogy pl. a méz helyett 15%-os karbolineum oldattal kell rügyjakadás előtt a gyümölcsfák törzseit bekenni, a koronát pedig 10%-os hasonló oldattal bepermetezni, hát ezt is pontosan elvégezték volna és ezzel egyúttal már meg is tették volna a nagyjelentőségű első lépést a helyes irányú gyümölcsvédelem általánosítása felé.

A már elismert helyes védekezési módokat az arra alkalmas szakembernek kellene a helyszínen bemutatni, aki jóindulatú türelmes tanácsaival és az egyes helyeken végzett gyakorlati példaadásaival kedveltetné meg a védekezést és keltené fel a bizalmat az új védekező szerek és eszközök iránt. Aztán gondoskodni kellene arról, hogy a szükséges védekező szerek a község házában *jutányos árban* a termelők rendelkezésére álljanak, a védekező eszközök pedig ugyancsak ott, valami *csekély használati díj fejében* kölcsönvehetőek legyenek.

Egyelőre ezek volnának a legszükségesebb kezdeti intézkedések, olyan helyen, ahol a sok apró gyümölcstermelő önállóan nem tudja magát elhatározni a szakszerű védekezés bevezetésére. Ezek a kistermelők, a védekezés gyakorlati kivitelezés tekintetében határozott irányításra szorulnak és ezt okvetlenül felülről kell megkapniok.

A gyümölcsvédelmi rendelet kiadása, a bírságok és büntetések kiszabása, meg a meszelés, mint látható még egyáltalán nem oldják meg a szakszerű gyümölcsvédelemnek nagyjelentőségű kérdését.

Gubányi Károly.

Eke István

NÖVÉNYVÉDELEM FOLYÓIRAT MEGRENDELÉS

Megrendelés hosszabbítása a 2021. évre

Előfizetési díj a 2021. évre: 9400 Ft/év. Példányonkénti ár: 940 Ft

Növényorvosi Kamara és a Magyar Növényvédelmi Társaság tagjainak: 8800 Ft/év

Diákoknak kedvezményesen 7000 Ft/év!

Megrendelem a Növényvédelem folyóiratot példányban.

Kamara tag vagyok , regisztrációs számom: MNT tag vagyok

Diák vagyok , diákigazolvány számom:

Az előfizetési díjat a Környezetbarát Növényvédelemért Alapítvány

K&H 10400054-00502306-00000000 számlájára **legkésőbb 2021. február 5-ig befizetem**

Az előfizetési díjhoz csekket kérek

Megrendelő adószáma: **Kézbesítés helye**

Neve:

Név:

Számlázási címe:

Cím:

Ügyintéző neve:

Telefon: Fax:

E-mail:

Dátum:

Aláírás:

Növényvédelem Szerkesztősége

1022 Budapest, Herman Ottó út 15. Postai cím: 1525 Budapest Pf. 102.

e-mail: balazs.klara@atk.hu

JOGSZABÁLYFIGYELŐ MOLNÁR JÁNOSTÓL

NÖVÉNYVÉDELEMMEL KAPCSOLATOS

– 2021. SZEPTEMBERBEN KIHIRDETETT – JOGSZABÁLYOK

- A Bizottság (EU) 2021/1449 végrehajtási rendelete (2021. szeptember 3.) az 540/2011/EU végrehajtási rendeletnek a 2-fenilfenol (beleértve sóit is, mint például a nátriumsóját), a 8-hidroxikinolin, az amidoszulfuron, a bifenox, a klórmekvát, a klórtoluron, a klofentezin, a klomazon, a cipermetrin, a daminozid, a deltametrin, a dikamba, a difenokonazol, a diflufenikan, a dimetaklór, az etofenprox, a fenoxaprop-P, a fenpropidin, a fludioxonil, a flufenacet, a fosztiazát, az indoxakarb, a lenacil, az MCPA, az MCPB, a nikoszulfuron, a paraffinolajok, a paraffinolaj, a penkonazol, a pikloram, a propakizafop, a proszulfokarb, a kizalofop-P-etil, a kizalofop-P-tefuril, a kén, a tetrakonazol, a triallát, a trifluszulfuron és a tritoszulfuron hatóanyagok jóváhagyási időtartamának meghosszabbítása tekintetében történő módosításáról
<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HU/TXT/?uri=CELEX%3A32021R1449&qid=1632155431754>
- A Bizottság (EU) 2021/1448 végrehajtási rendelete (2021. szeptember 3.) a kis kockázatú kalcium-karbonát hatóanyagok a növényvédő szerek forgalomba hozataláról szóló 1107/2009/EK európai parlamenti és tanácsi rendelet szerinti jóváhagyása meghosszabbításáról, továbbá az 540/2011/EU bizottsági végrehajtási rendelet mellékletének módosításáról
<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HU/TXT/?uri=CELEX%3A32021R1448&qid=1632155431754>
- A Bizottság (EU) 2021/1452 végrehajtási rendelete (2021. szeptember 3.) a kálium-hidrogén-karbonát hatóanyagok mint kis kockázatú hatóanyagok a növényvédő szerek forgalomba hozataláról szóló 1107/2009/EK európai parlamenti és tanácsi rendelet szerinti jóváhagyása meghosszabbításáról, továbbá az 540/2011/EU bizottsági végrehajtási rendelet mellékletének módosításáról
<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HU/TXT/?uri=CELEX%3A32021R1452&qid=1632155431754>
- A Bizottság (EU) 2021/1450 végrehajtási rendelete (2021. szeptember 3.) az 540/2011/EU végrehajtási rendeletnek az akrinatrinn és a prokloraz hatóanyag jóváhagyási időtartama tekintetében történő módosításáról
<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HU/TXT/?uri=CELEX%3A32021R1450&qid=1632155431754>
- A Bizottság (EU) 2021/1446 végrehajtási rendelete (2021. szeptember 3.) az 540/2011/EU és az 563/2014/EU végrehajtási rendeletnek a kitozán-hidroklorid egyszerű anyag CAS-száma tekintetében történő helyesbítéséről
<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HU/TXT/?uri=CELEX%3A32021R1446&qid=1632155431754>
- A Bizottság (EU) 2021/1451 végrehajtási rendelete (2021. szeptember 3.) a dimetil-szulfid egyszerű anyagként történő jóváhagyásának a növényvédő szerek forgalomba hozataláról szóló 1107/2009/EK európai parlamenti és tanácsi rendelet szerinti megtagadásáról
<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HU/TXT/?uri=CELEX%3A32021R1451&qid=1632155431754>
- A Bizottság (EU) 2021/1455 végrehajtási rendelete (2021. szeptember 6.) a Bacillus amyloliquefaciens AH2 törzs kis kockázatú hatóanyagok a növényvédő szerek forgalomba hozataláról szóló 1107/2009/EK európai parlamenti és tanácsi rendelet szerinti jóváhagyásáról, valamint az 540/2011/EU bizottsági végrehajtási rendelet módosításáról
<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HU/TXT/?uri=CELEX%3A32021R1455&qid=1632156013671>
- A Bizottság (EU) 2021/1531 rendelete (2021. szeptember 17.) a 396/2005/EK európai parlamenti és tanácsi rendelet II., III. és IV. mellékletének a bizonyos termékekben, illetve azok felületén található aktonifin, akrinatrinn, Bacillus pumilus QST 2808, etirimol, pentiopirád, pikloram és Pseudomonas sp. DSMZ 13134 törzs megengedett szermaradék-határértékei tekintetében történő módosításáról
<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HU/TXT/?uri=CELEX%3A32021R1531&qid=1632156519021>
- A Bizottság (EU) 2021/1688 végrehajtási rendelete (2021. szeptember 20.) az (EU) 2020/1201 végrehajtási rendeletnek a gazdanövények és a meghatározott növények jegyzéke, valamint a Xylella fastidiosa azonosítására szolgáló vizsgálatok tekintetében történő módosításáról
<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HU/TXT/?uri=CELEX%3A32021R1688&qid=1633021777980>
- Helyesbítés a 396/2005/EK európai parlamenti és tanácsi rendelet II. és III. mellékletének a bizonyos termékekben, illetve azok felületén található ametoktradin, bixafen, fenazakin, spinetoram, teflutrin és tienkarbazonmetil maradékanyag-határértéke tekintetében történő módosításáról szóló, 2021. július 6-i (EU) 2021/1110 bizottsági rendelethez
<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HU/TXT/?uri=CELEX%3A32021R1110R%2801%29&qid=1633023112705>