NÖVÉNYVÉDELEM

47. évfolyam 9. szám, 2011. szeptember



VIROLÓGUSOK ÚJ EREDMÉNYEI

AGROINFORM

A Vidékfejlesztési Minisztérium tudományos lapja

NÖVÉNYVÉDELEM

A Vidékfejlesztési Minisztérium szakfolyóirata

Készült a Környezetbarát Növényvédelemért Alapítvány támogatásával

Megjelenik havonként

Előfizetési díj a 2011. évre ÁFÁ-val: 5200 Ft
Egyes szám ÁFÁ-val: 520 Ft + postaköltség
Diákoknak 50% kedvezmény

Szerkesztőbizottság:
Elnök: Eke István
Rovatvezetők:
Csóka György (erdővédelem)
Hartmann Ferenc (gyomszabályozási technológia)
Mészáros Zoltán (rovartan)
Mogyorósyné Szemessy Ágnes (információk, krónika)
Palkovics László (növénykórtan, virológia)
Ripka Géza (rovartan, akarológia)
Solymosi Péter (gyombiológia, gyomszabályozás)
Szeőke Kálmán (rovartan, most időszerű)
Vajna László (növénykórtan)
Vörös Géza (technológia, rovartan)
A Szerkesztőbizottság munkáját segítik:
Dancsházy Zsuzsanna (angol nyelv)
Böszörményi Ede (angol nyelv)
Palojtay Béla (nyelvi lektorálás)

Felelős szerkesztő: Balázs Klára

Szerkesztőség:
Budapest II., Herman Ottó út 15.
Postacím: 1525 Budapest, Pf. 102.
Telefon: (1) 39-18-645
Fax: (1) 39-18-655
E-mail: h10427bal@ella.hu

Felelős kiadó: Bolyki István

Kiadja és terjeszti:

AGROINFORM Kiadó
1149 Budapest, Angol u. 34.
Telefon/fax: 220-8331
E-mail: kiado@agroinform.com

Megrendelhető a Szerkesztőség címén, illetve előfizethető a Kiadó K&H 10200885-32614451 számú csekkszámláján.

ISSN 0133–0829

AGROINFORM Kiadó és Nyomda Kft.
Felelős vezető: Stekler Mária
2011/119

PLANT PROTECTION

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 2 pld.-ban kinyomtatva + CD-n, vagy 2 pld.-ban kinyomtatva és 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 (címjegyzékkel együtt) a dolgozat végére kerüljenek. Csak jó minőségű, pauszpapírra rajzolt vagy lasernyomtatóval készült ábrát, illetve fekete-fehér fotót fogadunk el. Színes diát és színes fotót csak a borítóra kérünk. Belső színes ábrák elhelyezésére közlési díj befizetése vagy szponzor anyagi támogatása esetén van lehetőség.

Az angol nyelvű összefoglaló, illetve az e célra készült magyar szöveg új oldalon kezdődjön.

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.

CÍMKÉP:

GFLV sárga mozaik törzse kezdeti tünete

Fotó: Tóbiás István

COVER PHOTO:

Early symptom caused by the yellow mosaic strain of GFLV

Photo: István Tóbiás

OLAJTÖKRŐL IZOLÁLT UBORKA MOZAIK VÍRUS MOLEKULÁRIS JELLEMZÉSE*

Kádár Katalin[2], Salánki Katalin[1], Gellért Ákos[2], Divéki Zoltán[2,3] és Balázs Ervin[2]
[1]*Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont, 2100 Gödöllő, Szent-Györgyi A. u. 4*
[2]*MTA Mezőgazdasági Kutatóintézete, 2462 Martonvásár, Brunszvik u. 2.*
[3]*Jelenlegi cím: Európai Élelmiszerbiztonsági Hivatal, 43121 Parma, Largo N. Palli 5/A*

E tanulmányunkban a cukkini sárga mozaik vírusra (ZYMV) rezisztens olajtökről Ausztriában izolált uborka mozaik vírus (CMV) teljes elsődleges szerkezetét határoztuk meg. Eredményeink alapján ez az izolátum az uborka mozaik vírus I-es alcsoportjába tartozik. Az uborka mozaik vírus különböző gazdanövényeit fertőztük a Gd-CMV-vel, és vizsgáltuk a betegségtünet kialakítását. Kísérleteinkben az Rs-CMV-izolátumot használtuk fel összehasonlításra, amely szintén ebbe az alcsoportba tartozik. Arra a kérdésre keresve választ, hogy minek tulajdonítható a Gd-CMV izolátum erősebb tünetkialakítása, és az, hogy bizonyos növényfajtákat képes fertőzni, míg a CMV-Rs izolátum nem, valamint hogy ezek a tulajdonságok köthetők-e valamelyik vírus génhez, valamint rokonsági kapcsolatát az Rs-CMV izolátummal filogenetikai törzsfán mutatjuk be.

Kulcsszavak: olajtök, uborka mozaik vírus, elsődleges szerkezet

Az uborka mozaik vírus (Cucumber mosaic virus, CMV) a növénypatogén vírusoknak az egyik legváltozatosabb genetikai állománnyal rendelkező vírusa. Ezt támasztja alá az a tény is, hogy a nemzetközi adatbankokban található CMV-szekvenciák száma megközelíti a százat. Változékonyságának köszönhetően több mint 1000 növényfajt képes fertőzni világszerte (Edwardson és Christie 1991), ezért az általa okozott gazdasági veszteségek is nagymértékűek.

Az uborka mozaik vírus a *Cucumovirus* nemzetségbe és a *Bromoviridae* családba tartozik. Az ismert CMV törzsek két fő alcsoportba sorolhatók patológiai, szerológiai, és nukleinsav-sorrendjük hasonlósága alapján ((Marrou és mtsai 1974, Devergne és Cardin, 1973, Gonda és Symons 1978). Napjainkban az I és II alcsoportokba sorolják őket a nukleinsav homológia alapján, (Owen és Palukaitis 1988, Palukaitis és mtsai 1992) de ezek megfelelnek a régebbi DTL és ToRS szerotípusoknak (Wahyuni és mtsai 1992, Szilassy és mtsai 1999), valamint a C és B patotípusoknak. Roossinck és mtsai (1999) az I alcsoportot tovább bontották IA és IB csoportokra a vírustörzsek RNS3 molekulájának 5'nem kódoló régióinak összehasonlítása alapján. Az I-es alcsoportba tartozó izolátumok hőmérsékleti optimuma magasabb, mint, a II-es alcsoportba tartozóké (Daniels és Campbell 1992), ami a földrajzi elterjedésüket befolyásolja. Például az IB alcsoportba tartozó vírustörzseket leginkább Ázsiában izolálták, a másik csoportba tartozókat pedig a világ különböző részein.

A morfológiáját tekintve a virion 29 nm átmérőjű és csonkolt csúcsú ikozaéder formájú. (Smith és mtsai 2000)

A CMV genetikai állományát három egyszálú pozitív orientációjú RNS-molekula alkot-

*Szerzők e munkájukat **Gáborjányi Richard** professzor úrnak 70. születésnapjára dedikálják, kívánva további sikereket és jó egészséget.

ja, amelyek öt fehérjét kódolnak. Az RNS1 kódolja az 1a fehérjét, amelynek funkciója a vírus replikációjához köthető (Nitta és mtsai, 1988). Az RNS2 két fehérjét kódol, a 2a-t és 2b-t. Kísérletekkel igazolták, hogy a 2a fehérjének RNS-függő RNS polimeráz funkciója van (Bruenn 1991), és a vírus replikáz komplexének alkotórésze (Quadt és Jaspars 1991). A 2b fehérje szubgenomi RNS4A-ről expresszálódik és először Ding és mtsai írták le 1994-ben. Legfontosabb funkciója kísérleti eredmények szerint, hogy gátolja a növény természetes géncsendesítési védekező mechanizmusát (Guo és Ding 2002). Az RNS3 szintén két nyílt leolvasási keretet hordoz, a 3a fehérjét, amely a vírus mozgási fehérjéje (Movement Protein, MP), és a 3b fehérjét, amely a vírus köpenyfehérje alegysége (Coat Protein, CP). Az MP a vírus mozgásához nélkülözhetetlen, de nincs szükség rá annak replikációjához (Boccard és Baulcombe 1993).

A köpenyfehérje a CMV szerkezeti fehérjéje (Davies és Symons 1988). A köpenyfehérje azon kívül, hogy szerkezeti funkciót tölt be, részt vesz a vírus egyéb biológiai funkcióiban is, mint például a rovar vektor átvihetőségében (Perry és mtsai 1998). A vírus genomját 180 CP alegység veszi körül ikozaéder formát alkotva (Finch és mtsai 1967). Ezenfelül mindegyik vírusfehérjéről kimutatták, hogy részt vesz a nagyon széles skálát mutató betegségtünetek kialakításában (Palukaitis és mtsai 1992)

Az általunk vizsgált uborka mozaik vírust egy olajtöktermesztéssel foglalkozó ausztriai gazdaságban izolálta Martin Pachner és Lelley Tamás. Környezetkímélő, organikus gazdaság lévén a vírusokat terjesztő vektorok ellen permetezéssel korlátozottan védekezhetnek. Az izolátum cukkini sárga mozaik vírusra (zucchini yellow mosaic virus, ZYMV) rezisztens olajtökről származik, és egy olyan patotípus, amely súlyos betegségtüneteket okoz, ez által óriási termésveszteséget is (Pachner és Lelley 2008-2009).

Célkitűzésünk volt ennek az izolátumnak az elsődleges szerkezetét meghatározni és erős patogenitásának genetikai hátterét tisztázni.

Anyag és módszer

Vírus: A vírus izolátum fertőzött Gleisdorfer olajtökfajta levelén érkezett laboratóriumunkba., Ezt eldörzsölve és 1 ml 20 mM K-Na-foszfát puffert (pH: 8,0) hozzáadva *Nicotiana tabacum* L. cv. Xanthi növények 3–3 levelét inokuláltuk. A tesztnövényeken felszaporított vírust Lot és mtsai (1972) módszerével tisztítottuk. Ezekből a víruspartikulumokból fenol/SDS módszerrel megkaptuk a cucumovírusokra jellemző három genomi és egy szubgenomi RNS-t.

Az adatbankokban található CMV nukleinsavsorrendek alapján megfelelő primereket terveztünk az RNS1, az RNS2 és az RNS3 molekulák kiemeléséhez.

Primerek: Az RNS1 és RNS2 molekulák kiemeléséhez használt primerek: forward primer: 5'-GGGGGCCCTAATACGACTCACTATAG TTTATTTACAAGAGCG-3', reverz primer: 5'-GCGGATCCTGGTCTCCTTT-3'. Az RNS3 molekula kiemelésekor használt primerek: forward primer: 5'GGGGGCCCTAATACGA CTCACTATAGTAATCTTACCACTGTGTGT G-3', a reverz primer megegyezik az RNS1 és RNS2-nél használttal.

Mindegyik forward primer tartalmazta a T7 bakteriofág RNS polimeráz promóterét, hogy a későbbiekben *in vitro* RNS átírást végezhessünk a tesztnövények fertőzéséhez.

Klónozás: Az előbbi reverz primerek alkalmazásával a vírus RNS-ről cDNS-t készítettünk, cDNA Synthesis Kit felhasználásával (Amersham). A kapott cDNS-t polimeráz láncreakció PCR (Polymerase Chain Reaction, PCR) segítségével felszaporítottuk.

Ezt követően a PCR termékeket 1%-os agarózgélen detektáltuk, elválasztottuk, majd tisztítottuk (High Pure Purification Kit, Roche). Az így izolált DNS fragmenteket különböző vektorplazmidokba ligáltuk. Az RNS1-ről kapott DNS-fragmentet pGem-T Easy (Promega) vektorba építettük be, az RNS2 és RNS3-ról kapott DNS fragmenteket pedig *Eco*RV restrikciós endonukleázzal hasított pBluescriptII SK+ plazmidba ligáltuk.

Az elkészült Gd-CMV RNS1, RNS2, RNS3 klónjait az *Esherichia coli* DH5α és TOP10

(Invitrogen) törzseiben szaporítottuk fel és tartottuk fent. A nukleotidsorrend meghatározást szubklónok és belső primerek felhasználásával végeztük, automatizált fluoreszcens stopnukleotida módszer alkalmazásával. A részleges nukleotidsorrendek szekvenciaadatait a Clone manager 7 (Sci-Ed Software) program segítségével illesztettük össze, majd a GenBank nemzetközi adatbankban helyeztük el.

In vitro RNS transzkripció előtt minden esetben linearizáltuk a cDNS klónokat a PCR során beépített *BamHI* restrikciós endonukleázzal, majd 10 µl végtérfogatú elegyet mértünk össze, amely tartalmazott: RNS T7 polimeráz transzkripciós pufferből 2µl-t, 1U RNS T7 polimerázt, 10mM ATP-t, CTP-t, UTP-t és 1,25 mM GTP-t, 10 mM CAP-t (7metildiguanozin sapka), 1 U RNáz inhibitort és 200 µg linearizált DNS templátot. A reakcióelegyet 37 °C-on inkubáltuk 15 percig, majd a GTP koncentrációját is 10 mM-ra egészítettük ki. A 37 °C-os inkubálást további egy órán át folytattuk. A transzkripció hatékonyságát ellenőriztük 1%-os agaróz gélen.

A tesztnövények fertőzése: A fertőzéshez használt inokulum azonos mennyiségben tartalmazta a cDNS klónokról készített 1-es, 2-es, 3-as RNS *in vitro* transzkriptumokat. A transzkriptumok elegyét 1:1 arányban hígítottuk 50 mM Na-foszfát pufferrel kevés cellittel és bentonittal majd mechanikai úton a tesztnövények levelére vittük fel. A vírusok akkumulációját és jelenlétét a nem fertőzött levelekből össz-RNS tisztítás után RT-PCR-rel ellenőriztük.

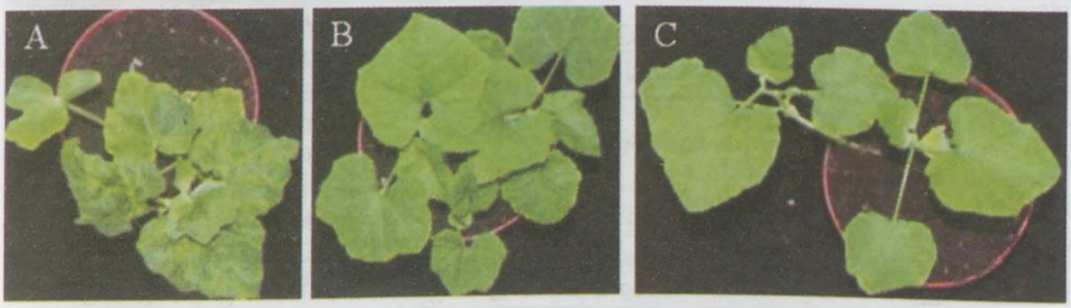
Bioinformatikai vizsgálatok: A BioEdit Sequence Alignment Editor program felhasználásával az adatbankokból letöltött tipikus CMV izolátumok nukleotid sorrendjével hasonlítottuk össze az általunk klónozott Gd-CMV izolátum elsődleges szerkezetét. A nukleinsav, illetve az *in silico* következtetett aminosavszekvencia adatokból ClustalX2.0.9 programmal elkészítettük a rokonságot jellemző törzsfákat.

Eredmények és megvitatásuk

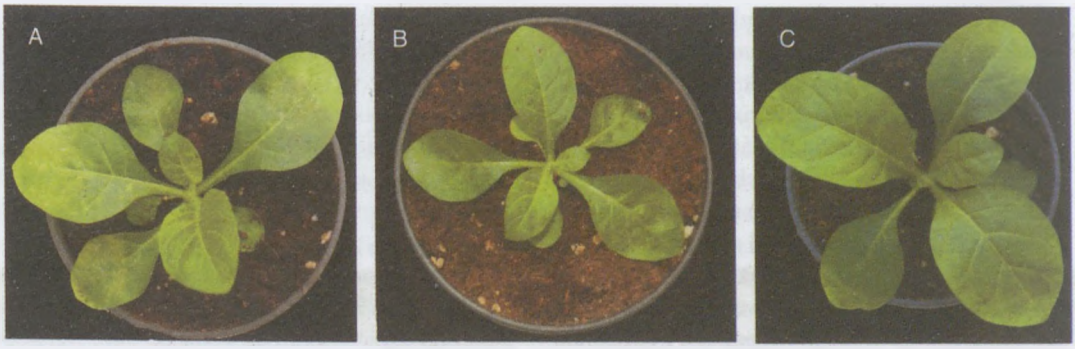
Sikeresen klónoztuk a Gd-CMV mindhárom genomi RNS-ét, majd nukleinsav- sorrendjüket elhelyeztük a GenBank adatbankban. A klónok hivatkozási száma a következő: Gd-CMV RNS1: HQ874434, Gd-CMV RNS2: HQ 916353, Gd-CMV RNS3: HQ916354.

Az általunk klónozott Gd-CMV-izolátum elsődleges szerkezetét az adatbankból származó más izolátumok nukleinsav sorrendjével hasonlítottukössze. Mindhárom genomi RNS-es esetében megállapítottuk, hogy a Gd-CMV izolátum nukleinsavsorrendje alapján az I-es alcsoportba sorolható. Az izolátum legközelebbi rokonságban az Rs-CMV-vel, az FNy-CMV-vel illetve az Ri8-CMV-vel van *(3. ábra).*

A legközelebbi rokonságot mutató izolátumok közül laboratóriumunkban rendelkezésünkrekre állt az Rs-CMV izolátum, amely szintén ebbe az alcsoportba sorolható. A két izolátummal különböző tesztnövényeket fertőztünk (*1., 2. ábra*) és azt tapasztaltuk, hogy bár egy alcsoportba tartoznak és a homológia a két izolátum között igen nagy (98%), a betegségtünetek kialakításában mégis találhatóak különbségek. A Gd-CMV hatékonyabban és erősebben fertőz egyes fajtákat, de ugyanezeket a növényeket az Rs-CMV izolátum csak tünetmentesen fertőzi.



1. ábra. A Gd-CMV és Rs-CMV izolátumokkal fertőzött *Waltham Butternut Cucurbita moschata*
A: Gd-CMV, B: Rs-CMV, C: Kontroll

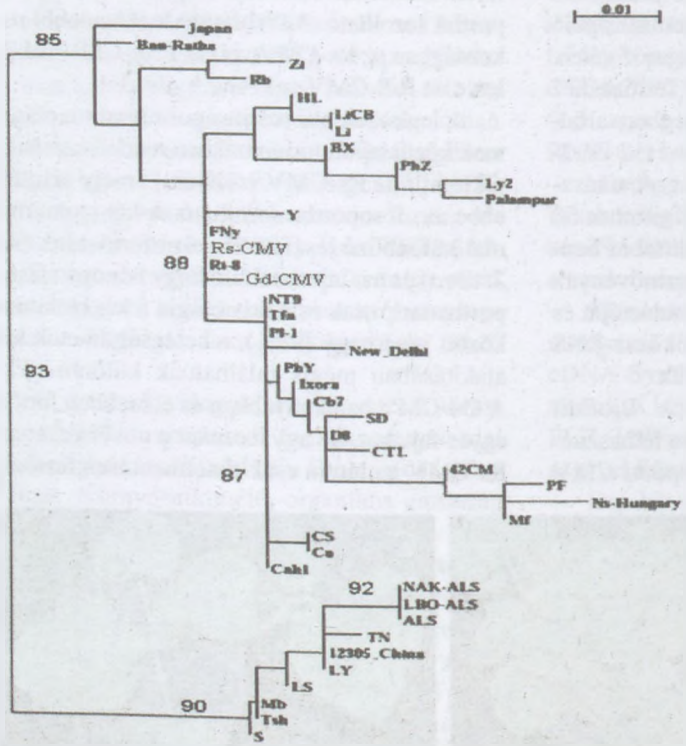


2. ábra. A Gd-CMV és Rs-CMV izolátumokkal fertőzött *Nicotiana debneyi* Domin
A: Gd-CMV, B: Rs-CMV, C: Kontroll

Waltham Butternut Cucurbita moschata tesztnövény esetén a Gd-CMV-fertőzés során erős, szisztemikus tüneteket figyelhetünk meg, már egy héttel a fertőzés után is, viszont a Rs-CMV látensen, esetleg igen halvány mozaiktüneteket indukálva fertőzi *(1. ábra)*. A vírusfertőzés a RT/PCR technikával mindkét esetben kimutatható a növény nem fertőzött leveleiből az inokulálást követő tizedik napon.

A *Nicotiana debneyi* Domin növényekben szintén a Gd-CMV okoz erősebb tüneteket, különösen a fertőzés korai szakaszában *(2. ábra)*. A Gd-CMV az inokulált leveleken tipikus tüneteket indukál, amit az Rs-CMV esetében soha nem figyeltünk meg.

Az a tény, hogy a Gd-CMV szemmel láthatóan hatékonyabb a tünetkialakításban betudható a vírus genetikai hátterének, amely valamilyen gazda-növény kölcsönhatást indukálhat, ezeket a kölcsönhatásokat azonban csak további vizsgálatok tisztázhatják.



3. ábra. A Gd-CMV izolátum 1a fehérje aminosavsorrendje alapján készített filogenetikai törzsfa. A törzsfa részleges, csak a reprezentatív törzseket tartalmazza. A valószínűségi értékek 85% felett vannak feltüntetve

Bioinformatikai vizsgálatok

Az adatbankokból származó fontosabb CMV izolátumok szekvenciáit felhasználva elkészítettük a Gd-CMV-izolátum filogenetikai törzsfáját. Ezek alapján földrajzi elkülönülés nem állapítható meg, sem az 1a, sem a 2b fehérje szintjén elkészített filogenetikai törzsfán. Az 1a fehérje aminosavszintjén készített törzsfán a Gd-CMV szoros rokonságot mutat az Rs-CMV-izolátummal *(3. ábra)*.

Köszönetnyilvánítás

Szerzők ezúton mondanak köszönetet *Martin Pachnernek* és *Lelley Tamásnak* az osztrák CMV izolátumért.

IRODALOM

Boccard, F. and **Baulcombe, D.** (1993): Mutationalanalysis of cis-acting sequences and gene function in RNA3 of cucumber mosaic virus. Virol., 193: 563–578.

Bruenn, J. A. (1991): Relationships among the positive strand and double strand RNA viruses viewed through their RNA-dependent RNA plymerases. *Nucleiç Acid. Research*, 19: 217–226.

Daniels, J. and **Campbell, R. N.** (1992): Characterisation of cucumber mosaic virus isolates from California. Plant Disease, 76: 1245–1250.

Davies C. and **Symons R.H.** (1988): Further imlications for the evolutionary relationships betwen tripartite plant viruses based on cucumber mosaic viru RNA3. Virol., 165: 216–224.

Devergne J. C. and **Cardin L.** (1973): contribution l'etude du virus de la mosaique du concombre CMV. IV. Essay de classification du plusieurs isolats sur la base de leur structure antigenique. Ann phytopathol, 5: 409–430.

Ding S-W., Anderson B.J., and **Haasaw H.R.** (1994): New overlapping gene encoded by the Cucumber mosaic virus genome. Virol., 198: 593–601.

Edwardson, J. R. and **Christie, R. G.** (1991): Cucumoviruses In: CRC handbook of viruses infecting légumes. CRC press, Boca Raton, Fla., 293–319.

Finch J.T., Klug A., and **Van Regenmortel M.H.V.** (1967): The structure of cucumber mosaic virus. J.Mol. Biol., 24: 303–305.

Gonda, T.J. and **Symons R.H.** (1978): The use of hybridization analysis with complementary DNA to determine the RNA sequence homology between strains of plant viruses: Its application to several strains of Cucumoviruses. Virology, 88: 361–370.

Guo H. S. and **Ding S-W.** (2002): A viral protein inhibits the long range signaling activity of the gene silencing signal. EMBO J., 21: 398–407.

Lot, H.W., Marrou J.,Quiot J.B. and **Esvan C.** (1972): Contribution à l'étude du virus de la mosaïque du concombre (CMV). I. Méthode de purification rapide du virus. Annual Review of Phytopathology, 4: 25–38.

Marrou, J., Quiot, J.B., Marchoux, G. and **Dutiel, M.** (1975): Caracterisation par la symptomatologie de quatorse souches du virus de la mosaique du concombre et de deux autres cucumovirus: tentative de classification. Meded. Fac. Landb. Wet. Rijksuniv. Gent 40, 107–121.

Nitta, A., Takanami, Y., Kuwata, S. and **Susumu, K.** (1988): Inoculation with RNAs 1 and 2 of cucumber mosaic virus indused viral RNA replicase activity in tobacco mesophyll protoplasts. J. Gen. Virol., 69: 2695–2700.

Owen, J. and **Palukaitis, P.** (1988): Characterization of Cucumber mosaic virus. I. Molecular heterogenity mapping of RNA 3 in eight CMV strains. Virology 166, 495–502.

Pachner, M. and **Lelley, T.** (2008–2009): An Austrian Cucumber Mosaic Virus isolate is causing severe symptomes on resistant *Curcubita pepo* cultigens. Curcubit Genetics Cooperative Report, 31–32: 14.

Palukaitis P., Roossinck M.J., Dietzgen R.G. and **Francki R.I.B.** (1992): Cucumber mosaic virus. Adv. Virus Res., 41: 281–348.

Perry K. L. L ., Zhang L, and **Palukaitis P.** (1998): Amino acid changes in the coat protein of Cucumber mosaic virus differentially affect transmission by the aphids *Myzus persicae* and *Aphis gosspii.* Virol., 242: 204–210.

Quadt R. and **Jaspars E.M.** (1991): Characterisation of cucumber mosaic virusRNA-dependent RNA-polymerase. FEBS Lett., 279: 273–276.

Roossinck, M.J., Zhang L. and **Hellwald K.H.** (1999): Rearrangements in the 5' nontranslated region and phylogenetic analyses of Cucumber mosaic virus RNA 3 indicate radial evolution of the subgroups. J.Virol., 73: 6752–6758.

Szilassy, D., Salánki, K. and **Balázs, E.** (1999): Molecular evidence for the existense of two distinct subgroups in cucumber mosaic cucumovirus. Virus Genes, 18: 221–227.

Smith, T.J., Chase, E., Schmidt, T. and **Perry, K. L.** (2000): The Structure of Cucumber Mosaic Virus and Comparison to Cowpea Chlorotic Mottle Virus. J. Virol., 74: 7578–7586.

Wahyuni W. S., Dietzgen R.G., Hanada K. and **Francki R.I. B.** (1992): Serological and biological variation betwen and within subgroup-I and subgroup-II strains of cucumber mosaic virus. Plant Pathol., 41: 282–297.

MOLECULAR CHARACTERIZATION OF *CUCUMBER MOSAIC VIRUS* ISOLATED FROM OILSEED PUMPKIN

Katalin Kádár[1], Katalin Salánki[2], Á. Gellért[1], Z. Divéki[1,3] and E. Balázs[1]

[1]Agricultural Research Institute, H-2462 Martonvásár Brunszvik u. 2.
[2]Agricultural Biotechnology Center H-2100 Gödöllő, Szent Györgyi u. 4.
[3]Present address: European Food Safety Authority 43121 Parma, Largo N. Palli 5/A.

The primary structure of a *Cucumber mosaic virus*, isolated from *Zuccini yellow mosaic virus*-resistant oilseed pumpkin in Austria, was determined. According to our results, the isolate, which was named Gd, belongs to the subgroup I of *Cucumber mosaic virus*. Gd CMV has been tested on different hosts of the virus and the symptoms produced were recorded. In the experiments the Rs isolate, belonging to the same subgroup, was used as reference isolate. The differences in symptom severity on certain hosts of the two isolates were compared. Based on the primary structure, Gd CMV was inserted into the phylogenic tree of CMV strains, restricted only to representative isolates.

Keywords: oilseed pumpkin, cucumber mosaic virus, primary stucture

Érkezett: 2011. augusztus 2.

A NÖVÉNYVÉDELMI KLUB

2011. október 3-án 14,30 órától várja az érdeklődőket a Növény-, Talaj- és Agrárkörnyezet-védelmi Igazgatóság (1118 Budapest, Budaörsi út 141–145.) előadótermében.

A klubdélutánon **SZABÓ LÁSZLÓ** gyombiológus
Hajdú-Bihar Megyei Kormányhivatal Növény- és Talajvédelmi Igazgatósága Debrecen

A NAPRAFORGÓ GYOMIRTÁSA

címen tart előadást.

Minden érdeklődőt szeretettel várunk.

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

MAGYARORSZÁGI BORVIDÉKEK VÍRUSFERTŐZÖTTSÉGÉNEK VIZSGÁLATA*

Cseh Eszter[1], Daragó Ágnes[2], Takács András Peter[2], Csöndes Izabella[3], Kocsis László[1], Kazinczi Gabriella[3] és Horváth József[2,3]

[1]*Pannon Egyetem Georgikon Kar, Kertészeti Tanszék, Keszthely, 8360 Deák F. u. 16.*

[2]*Pannon Egyetem Georgikon Kar, Növényvédelmi Intézet*

[3]*Kaposvári Egyetem, Állattudományi Kar, Növénytani és Növénytermesztés-tani Tanszék*

A magyarországi szőlőültetvények vírusfertőzöttségét 17 borvidék 31 szőlőültetvényében vizsgáltuk az elmúlt három év alatt. Tíz szőlőpatogén vírus jelenlétét vizsgáltuk ELISA módszerrel. A gyűjtött kétszázhetvenhét mintából hetvenhat mintában azonosítottuk valamely vírus jelenlétét. Hatvanegy mintában egy vírus, tizennégy mintában pedig két-két vírus együttes jelenlétét mutattuk ki. Eredményeink alapján megállapítottuk, hogy az Egri, a Mátrai, a Tokaji borvidéken a szőlő látens foltosság vírus (Grapevine fleck virus, *GFkV) nagyobb arányban fordult elő, de jelen van a Tolnai és a Balaton-felvidéki borvidéken is. A szőlő levélsodródás vírus 1 és 3 szerológiai csoportjainak* (Grapevine leafroll- associated virus *1, -3, GLRaV-1,-3) megjelenését a Balaton körüli borvidékeken (Badacsonyi, Balaton-felvidéki), az ország északnyugati részén fekvő Soproni és a déli- délnyugati Pécsi és Villányi borvidékeken azonosítottuk nagyobb számban. Ezenkívül a Kunsági borvidéken is észleltük jelenlétét. Lucerna mozaik vírus* (Alfalfa mosaic virus, *AMV) fertőzést is kimutattunk a Balaton-felvidéken, a Tokaji és a Zalai borvidékeken is. A Nepovirus nemzetség tagjai közül a szőlő krómmozaik vírus* (Grapevine chrome mosaic virus, *GCMV) és az arabisz mozaik vírus* (Arabis mosaic virus, *ArMV) voltak a gyakoribbak, különösen a Zalai borvidéken. A szőlő fertőző leromlás vírus* (Grapevine fanleaf virus, *GFLV) jelenlétét öt minta esetében igazoltuk a Balatonboglári, Balaton-felvidéki, Balatonfüred- Csopaki és a Szekszárdi borvidéken.*

Kulcsszavak: borvidékek, szőlőpatogén vírusok, ELISA szerológiai módszer

A szőlő vírusos betegségek megjelenésének súlyos gazdasági következménye a fokozott tőkeleromlás- és elhalás, a hozamok csökkenése és a minőség romlása, a tőkék produktív időszakának megrövidülése, az oltványkészítés eredményességének csökkenése, a szaporítóanyag gyökeresedő képességének romlása, valamint a beteg tőkék környezeti tényezőkkel szembeni ellenálló képességének csökkenése (Lehoczky 1965). Az elmúlt néhány évtizedben több vírusos betegség leírására és a kórokozók hagyományos virológiai módszerekkel történt azonosítására került sor.

Magyarország különböző borvidékeihez tartozó termő ültetvények vírusos fertőzöttségéről nem állnak rendelkezésre adatok, ezért a vizsgálat célja ennek elvégzése volt.

Hazánkban eddig a szőlőről 15 vírusos betegséget írtak le. Mindezek, a tünetek alapján hét csoportba sorolhatók: 1. szőlő korai vírusos leromlás (grapevine degeneration), 2. látens foltosság (grapevine fleck), 3. levélsodródás (grapevine leafroll), 4. vonalas és gyűrűs mintázottság (grapevine yellow mottle), 5. vonalas mintázottság (grapevine line pattern) és 6. fa-

*Szerzők e munkájukat **Gáborjányi Richard** professzor úrnak 70. születésnapjára dedikálják, kívánva további sikereket és jó egészséget.

szöveti barázdáltság (grapevine rugose wood). A hetedik csoportba azokat a vírusszerű betegségeket soroljuk, amelyek kórokozói feltehetően vírus eredetűek, de pontosan még nem határozták meg őket (Cseh és mtsai 2008).

A szőlő korai vírusos leromlását a nepovírusok okozzák, nevezetesen a szőlő fertőző leromlás vírus (*Grapevine fanleaf virus*, GFLV), az arabisz mozaik vírus (*Arabis mosaic virus*, ArMV), a szőlő krómmozaik vírus (*Grapevine chrome mosaic virus*, GCMV), a paradicsom fekete gyűrűsfoltosság vírus (*Tomato black ring virus*, TBRV) és a szőlő bulgáriai látens vírus (Grapevine Bulgarian latent virus, GBLV). Külön tüneti csoportot képvisel a látens foltosság, kórokozója a szőlő látens foltosság vírus (*Grapevine fleck virus*, GFkV). A harmadik tünettani csoportot a levélsodródás kórokozói képviselik: a szőlő levélsodródás vírus csoport (*Grapevine leafroll-associated virus 1-9*, GLRaV 1-9) egymáshoz közel álló tagjai. A negyedik csoport a szőlő vonalas és gyűrűs mintázottsága (Grapevine yellow mottle), amit a lucerna mozaik vírus (*Alfalfa mosaic virus*, AMV) fertőzés idéz elő. Az ötödik csoport a szőlő vonalas mintázottsága, a Grapevine line pattern virus (GLPV) okozta tünet. A faszöveti barázdáltság komplex tüneteit a szőlő A vírusa (*Grapevine virus A*, GVA), a szőlő B vírusa (*Grapevine virus B*, GVB) és a rupestris faszöveti barázdáltság vírus (*Rupestris stem pitting-associated virus*, RSPaV) fertőzése idézi elő. A hetedik csoportba azok a betegségek szerepelnek, amelyek vírustermészetét még egyértelműen nem bizonyították (ilyen a szőlő enáció, a szőlő érmenti mozaik és a szőlő érnekrózis betegsége).

A napjainkig gazdaságilag legfontosabbnak tartott szőlőpatogén vírus a szőlő fertőző leromlását okozó GFLV, a nepovírusok jellemző képviselője (Pompe-Novak és mtsai 2007). Általánosan elterjedt, mechanikai úton, szaporítóanyaggal (oltással), maggal és fonálférgekkel (*Xiphinema index*, *X. italie*) terjed (Bovey és mtsai 1980). A legfontosabb tünet a levelek deformálódása, a hajtás ízközeinek megrövidülése, villás elágazások képződése. Két, régen külön betegségnek tartott törzse ismert: az egyik sárga mozaikot, a másik érszalagosodást okoz (Lázár 1996).

Egy másik, gazdaságilag jelentős kórokozó az ArMV, amely szintén a nepovírusok csoportjába tartozik. Vektorai (*Longidorus caespiticola, X. diversicaudatum*) és tünetei a fertőző leromláshoz hasonlóak, rendszerint együtt fertőznek (Bovey és mtsai 1980).

A szőlő leveleinek krómszínű sárgulását a GCMV okozza (Lehoczky és Reichart 1968), amely szintén a *Nepovirus* nemzetség tagja. Tulajdonságai ezért a korábban említett két kórokozóéval megegyezők, de a tünetek súlyosabbak. A levelek évről évre kisebbek lesznek, és egyre jobban sárgulnak, súlyos esetben fehérré válnak. Feltételezett vektora a *X. index* (Lehoczky és Tasnády 1971).

Az ArMV mellett tőkesatnyulást előidéző kórokozó a TBRV, amely a fertőzött leveleken diffúz szegélyű sárga gyűrűs és vonalas mintázottságot okoz (Lehoczky és mtsai 1986). Vektora a *L. attenuatus* fonálféreg. A szőlő bolgár látens foltosság vírusvektora eddig ismeretlen. Mindkét kórokozó fertőzésére jellemző a kései rügyfakadás és a tőke gyenge fejlődése.

A Nepovírusok mellett más szőlőpatogén kórokozók a szőlő levélsodródását okozó, a külföldi szakirodalmakban szereplő *Grapevine leafroll-associated virus 1-9* (GLRaV 1-9) csoport kilenc, egymáshoz rendkívül hasonló vírusfaja, melyek közül Magyarországon a *Grapevine leafroll-associated virus* 1-4 (GLRaV 1-4) írták le (Lázár 1996). Ezek a Closterovírusok hajlékony fonál alakúak, pajzstetvekkel (*Heliococcus bohemicus, Pseudoccus longispinosus, Planococcus ficus*) és oltással terjednek (Sforza és mtsai 2003).

Faszöveti barázdáltságot okoznak a még nem pontosan azonosított szőlő rupestris faszöveti barázdáltság vírus (*Rupestris stem pitting-associated virus*) és a szőlő A vírus (*Grapevine virus A*) és az eddig hazánkban még nem bizonyított előfordulású szőlő B vírus (*Grapevine virus B*). Kisebb jelentőségű kórokozók a levéltetvekkel átvihető AMV és a fertőző szaporítóanyaggal és oltással terjedő *Grapevine fleck virus*. A vonalas mintázottságot okozó Grapevine line pattern virus (GLPV) ritkán előforduló és bizonytalan rendszertani helyű kórokozó,

amelyet Lehoczky János és munkatársai írtak le 1987-ben. A szőlő enációja, a látens érnekrózis és az érmenti mozaik három olyan szőlőbetegség, amelyet feltehetően vírusok okoznak, de pontos meghatározásuk eddig nem történt meg (Lázár 1996).

Anyag és módszer

A vizsgálatok során, 17 borvidék, 31 különböző korú, fajta-összetételű és méretű termőültetvényéből – Balatonboglár, Lengyeltóti (Balatonboglári borvidék), Kőszeg (Soproni borvidék), Badacsonytomaj, Káptalantóti, Szent György-hegy (Badacsonyi borvidék), Cserszegtomaj, Kékkút (Balaton-felvidéki borvidék), Csopak (Balatonfüred-Csopaki borvidék), Etyek (Etyek-Budai borvidék), Kecskemét (Kunsági borvidék), Tokaj, Tarcal (Tokaji borvidék), Szomolya, Noszvaj, Eger (Egri borvidék), Bogács (Bükki borvidék), Gyöngyöstarján (Mátrai borvidék), Görögszó, Bátaszék (Szekszárdi borvidék), Kismórágy, Izmény (Tolnai borvidék), Somló (Nagy-Somlói borvidék), Pécs (Pécsi borvidék), Villány (Villányi borvidék) és Nagyrada, Csörnyeföld, Dobri, Zalaszentbalázs, Zalaszentgrót, Murakeresztúr (Zalai borvidék) – mintegy 277 levélmintát gyűjtöttünk be. A minták az adott borvidékeken leggyakrabban megfigyelt tüneteket mutatták. A vizsgálat célja a szimptomatológiailag vírusfertőzöttnek ítélt tőkék szerológiai vizsgálata volt, így nem azonos számú mintákat gyűjtöttek be az egyes szőlőültetvényekből.

A szőlő virológiai vizsgálatára legalkalmasabb időpont a *Nepovirus, Maculavirus, Alfamovirus* nemzetséghez tartozó vírusok esetében a szőlő, a virágzási fázistól a nyári meleg időszak beköszöntéig terjedő időszak. A legjobb, a virágzástól bogyókötődésig gyűjteni a fiatalabb leveleket, a vitorla közeléből. A másik mintagyűjtési időszak a bogyó zsendülésétől nyár végéig, ősz elejéig terjedő időszak, ami a *Closterovirus, Ampelovirus, Vitivirus* nemzetségbe tartozó vírusok kimutatására alkalmas. Ilyenkor célszerű az idősebb levelekből mintát gyűjteni, az alsóbb levélemeletekről, mert a víruskoncentráció az adott nemzetségekbe tartozó vírusok esetében ezekben az időszakokban a legnagyobb és így a szerológiai vizsgálatok eredménye is megbízhatóbb (Vanek 1996). A levélmintákat a fentiek szerint gyűjtöttük, és az ELISA vizsgálat elvégzéséig a mintákat 4 °C-on tároltuk. A (Double Antibody Sandwich, DAS) ELISA szerológiai módszert alkalmaztuk (Clark és Adams 1977). A vizsgálatokhoz LOEWE, Bioreba és Agritest cég reagenseit használtuk. A GFLV, az ArMV, a TBRV és a GCMV, továbbá a GFkV, AMV, a GLRaV-1, GLRaV-2 és a GLRaV-3, valamint a GVA jelenlétét teszteltük.

Eredmények

Az egyes borvidékeken a leggyakrabban megfigyelt tünetek az *1. táblázatban* láthatók.

A gyűjtött 277 mintából 76 mintában állapítottunk meg vírusos fertőzést. A legnagyobb számban, 26 esetben a GFkV jelenlétét mutattuk ki. A második leggyakrabban jelen lévő vírusok a GLRaV-1 és a GLRaV-3, amelyek azonos arányban 16–16 minta esetében, GLRaV-2 fertőzöttséget egy mintában találtunk. A GFLV előfordulását 5, az ArMV megjelenését 7, a TBRV fertőzést 5, a GCMV jelenlétét 8, az AMV-t 6 esetben sikerült szerológiailag kimutatni. GVA vírusra nem kaptunk pozitív eredményt (Cseh és mtsai 2011). A vizsgált vírusok 61 mintában önállóan, 14 mintában komplexen fordultak elő. Ezek a vírusgyakorisági adatok a 17 borvidék esetében a *2. táblázatban* közöltek arányában oszlottak meg.

A Badacsonyi borvidék mintagyűjtő helyeiről származó mintákban leggyakrabban levéldeformációt, sárgulást, klorózist, nekrotikus foltosságot és levélsodródást tapasztaltunk; a 43 gyűjtött mintából 10 mintában mutattuk ki vírus jelenlétét. 4 mintában találtunk GLRaV-1-et, kettőben GLRaV-3-at, egy mintában pedig TBRV-t. Három esetben komplex fertőzést mutattunk ki. A sárgulást és érmenti mozaikot mutató tőkékről gyűjtött levelekben a GLRaV-1 és a GLRaV-3 együttes jelenlétét tapasztaltuk. Levéldeformációt mutattak a GCMV és GLRaV-1 vírusokkal fertőzött tőkék.

A Balatonboglári borvidék mintagyűjtő helyein 10 olyan levélminta gyűjtése történt, ahol

1. táblázat

Megfigyelt tünetek az egyes borvidékek mintagyüjtő helyein

Borvidékek	Tapasztalt tünetek
Badacsonyi	levéldeformáció, sárgulás, klorózis, levélsodródás, érnekrózis, nekrotikus foltosság, érmenti mozaik, levélmozaik, vörösödés
Balatonboglári	krómsárga mozaik, levéldeformáció, levélmozaik, vörösödés, sárgulás, levélsodródás, faszöveti elváltozás
Balaton-felvidéki	levélsodródás, levéldeformáció, vörösödés, sárgulás, klorózis, nekrotikus foltok, levélmozaik, érkivilágosodás, faszöveti elváltozás
Balatonfüred-Csopaki	sárgamozaik, klorózis, faszöveti elváltozás
Bükki	levéldeformáció
Egri	levéldeformáció, levélmozaik, sárgamozaik, klorózis, vörösödés
Etyek-Budai	sárgulás, sárgamozaik
Kunsági	levéldeformáció, sárgamozaik, vörösödés, érnekrózis
Mátrai	levéldeformáció, levélmozaik, klorózis, sárga mozaik, krómsárga mozaik
Nagy-Somlói	mozaikos foltosság
Pécsi	vörösödés, levéldeformáció, levélsodródás, levélmozaik
Soproni	vörösödés, levélsodródás, krómsárga mozaik
Szekszárdi	vörösödés, sárga mozaik, sárgulás, levélmozaik, klorózis, levéldeformáció
Tokaji	levélmozaik, levéldeformáció, sárgamozaik, klorózis, nekrotikus foltosság
Tolnai	levélfoltosság, „fleck" tünet, levélmozaik, krómmozaik, klorózis, érnekrózis
Villányi	vörösödés, levélsodródás, levélmozaik, levéldeformáció
Zalai	levélmozaik, sárgamozaik, levélsodródás, vörösödés, sárgulás, levéldeformáció, faszöveti elváltozás

krómsárga mozaik, levéldeformáció, vörösödés és levélsodródás tünetek voltak megfigyelhetők. Öt mintában találtunk vírust. Egy-egy esetben GLRaV-1, GLRaV-3, GFLV, valamint egy-egy mintában komplex fertőzést igazoltunk. A krómmozaikos elszíneződést mutató mintában GCMV jelenlétét ArMV-sal együtt, a levéldeformációt mutatóban GCMV-t és GLRaV-1-et azonosítottunk.

A Balatonfelvidéki borvidékről származó 56 minta közül 19-ben mutattunk ki vírust. A leggyakoribb tünetek sárgulás, vörösödés, levélsodródás, levéldeformáció, levélmozaik és klorózis voltak. Három-három mintában bizonyí-

2. táblázat

A szerológiai vizsgálatok eredményei borvidékenként

Borvidékek	Gyűjtött minták száma	Fertőzött minták száma	Vírusok*	Vírus-komplexek
Badacsonyi	43	10	4 GLRaV11	2 GLRaV1- GLRaV3
			2 GLRaV3	1 GCMV- GLRaV1
			1 TBRV	
Balatonboglári	10	5	1 GLRaV1	1 ArMV- GCMV
			1 GLRaV3	1 GCMV- GLRaV1
			1 GFLV	
Balaton-felvidéki	56	19	3 AMV	2 GCMV-GLRaV3
			3 GLRaV3	1 GLRaV1-GLRaV3
			3 GFkV	
			2 GLRaV1	
			2 GFLV	
			1 TBRV	
			1 GLRaV2	
			1 GCMV	
Balatonfüred-Csopaki	4	1	1 GFLV	
Bükki	3	-		
Egri	14	8	7 GFkV	
			1 ArMV	
Etyek- Budai	7	0		
Kunsági	12	3	2 GLRaV1	
			1 GLRaV3	
Mátrai	15	9	9 GFkV	
Nagy-Somlói	3	0		
Pécsi	8	1	1 GLRaV3	
Soproni	8	3	2 GLRaV3	1 GLRaV1-GLRaV-3
Szekszárdi	21	4	2 GCMV	1 ArMV-GFkV
			1 GFLV	
Tokaji	15	6	4 GFkV	1 ArMV-TBRV
			1AMV	
Tolnai	13	2	1 GFkV	1 TBRV-GFkV
Villányi	11	1	1 GLRaV1	
Zalai	34	4	2 ArMV	1 ArMV-AMV
				1 AMV-TBRV
Összesen	277	76	61	14

*Rövidítések: Szőlő fertőző leromlás vírus (*Grapevine fanleaf virus*, GFLV), Arabisz mozaik vírus (*Arabis mosaic virus*, ArMV), Szőlő krómmozaik vírus (*Grapevine chrome mosaic virus*, GCMV), Paradicsom fekete gyűrűsfoltosság vírus (*Tomato black ring virus*, TBRV), Szőlő látens foltosság vírus (*Grapevine fleck virus*, GFkV), Szőlő levélsodródás vírus -1,-2,-3 csoport (*Grapevine leafroll-associated virus* 1, -2, -3, GLRaV 1,-2-3), Lucerna mozaik vírus (*Alfalfa mosaic virus*, AMV).

tottuk szerológiai úton AMV, GLRaV-3 és GFkV vírusok jelenlétét. Két mintában GLRaV-1-et és GFLV-t, egy-egy mintában pedig a GCMV, ArMV és TBRV vírusok előfordulását állapítottuk meg. Három mintában komplex fertőzést mutattunk ki. Vörösödést és levélsodródást mutatott az a három tőke, amelyek közül kettőben GCMV és GLRaV-1-et, egyben pedig GLRaV-1-et és GLRaV-3-at is kimutattunk.

A Balatonfüred-Csopaki borvidékről származó négy, sárga mozaikot mutató minta közül egyben sikerült GFLV-t találni.

Az Egri borvidékről származó 14 levélminta gyűjtésekor levéldeformációt, levélmozaikot, klorózist és sárgamozaikot figyeltünk meg. Közülük nyolcban találtunk vírusos fertőzést. Hétben GFkV-t egyben pedig ArMV-t azonosítottunk.

Az Etyek-Budai, a Nagy- Somlói és a Bükki borvidékekről származó levélmintákban, amelyeken sárgulás, sárgamozaik és levélmozaik valamint levéldeformáció tüneteket figyeltünk meg a vizsgált 10 vírusból fertőzöttséget egyetlen esetben sem tudtunk megállapítani.

A Kunsági borvidék 12 levélmintájából 3 minta mutatott levéldeformáció, sárga mozaik, érnekrózis, vörösödés tüneteket, ezekből egy esetben GLRaV-1 és két esetben GLRaV-3 vírusok jelenlétét igazoltuk.

A Mátrai borvidéken begyűjtött mintákban levélmozaikot, sárgamozaikot, levéldeformációt, klorózist és krómsárga mozaikot állapítottunk meg. A begyűjtött 15 mintából 9 mintában mutatunk ki GFkV-t.

A Pécsi borvidékről gyűjtött 8 mintából csak egy mintában tudtuk a GLRaV-3 jelenlétét bizonyítani, annak ellenére, hogy vörösödést és levélsodródást, levéldeformációt és levélmozaikot is megfigyeltünk. A tünetek kiváltó okai valószínűleg élettani eredetűek, esetleg fitoplazmás fertőzés következményei voltak.

A Soproni borvidékről származó nyolc mintából 3 minta volt fertőzött. Két mintában GLRaV-3-at, egy mintában pedig GLRaV-1 és -3 együttes jelenlétét mutattuk ki. A fertőzött tőkék lombozata vörös elszíneződést és levélsodródást mutatott. A krómsárga mozaikos levélmintából nem tudtunk vírust kimutatni.

A Szekszárdi borvidékről gyűjtött 21, leggyakrabban vörösödés, sárgulás, sárga mozaik és érkivilágosodás tüneteit mutató tőkékről származó levélmintákból négy esetében mutattunk ki vírust. Két mintában GCMV, egy mintában GFLV és egy mintában ArMV és GFkV együttes jelenlétét bizonyítottuk.

A Tokaji borvidéken leggyakrabban megfigyelt tünetek levéldeformáció, levélmozaik, klorózis, sárga mozaik és nekrotikus foltosság voltak A tüneteket mutató tőkékről 15 mintát gyűjtöttünk be. Közülük hat mintában igazolódott vírus jelenléte. Négyben GFkV-t, egyben AMV-t, szintén egy mintában ArMV-TBRV komplexét mutattuk ki.

A Tolnai borvidékről gyűjtött 12 mintából kettő bizonyult vírusfertőzöttnek. Az egyikben GFkV, a másikban pedig GFkV a TBRV-vel együttesen volt jelen. Az első esetben a tőke lombozatán nekrotikus foltosságot, a második esetben mozaikos foltosságot tapasztaltunk.

A Villányi borvidékről 11 mintát gyűjtöttünk be, vörösödés, levélsodródás, levélmozaik és levéldeformáció is megfigyelhető volt. Közülük egy mintában tudtuk a GLRaV-1 jelenlétét bizonyítani.

A Zalai borvidékről származó, leggyakrabban levélmozaikot, sárga mozaikot, vörösödést és levélsodródást mutató tőkék 34 begyűjtött mintájából 4 esetben mutattunk ki vírust. Kettőben ArMV, egy-egy esetben pedig AMV mellett az ArMV és TBRV jelenléte is bizonyítható volt.

Következtetések

A vizsgálatok célja az volt, hogy az irodalmi leírásokból ismert tünetek alapján gyűjtött szőlőlevélmintákból milyen vírusokat tudunk kimutatni a már hazánkban korábban leírtak közül, illetve a tüneteket mutató mintákban hány esetben tudunk vírusfertőzést megállapítani.

A tünettani megfigyelések alapján megállapítottuk, hogy a leggyakrabban előforduló tünetek: levéldeformációk, mozaikos foltosságok, sárga mozaik, krómmozaik, vörösödés, sárgulás és levélsodródás voltak. A tüneteket mutató tőkék levélmintáiból nem mindig tudtuk vírus jelenlétét igazolni. Ebből arra következtetünk,

hogy a tüneteket nem csak vírusos fertőzés okozhatja, hanem több más tényező, például vízhiány, az ásványitápanyag-ellátásban bekövetkezett zavar, a helytelenül megválasztott alany-nemes kombináció, más kórokozók, például fitoplazmák által kiváltott tünetek vagy fajtára jellemző bélyeg, például a nyár végi vörösödés. Az esetek többségében a megfelelő tünettani csoportot hozzá is tudtuk rendelni az általunk tapasztaltakhoz, habár a kórokozóra eddig leírt speciális tünetek nem mindig jelentkeztek. A vírusok komplex fertőzését viszont tünettanilag nem lehetett megállapítani.

A felmérés eddigi adataiból kitűnik a GFkV-val fertőzött minták nagyobb száma, különösen az ország északkeleti részén: az Egri, a Mátrai, a Tokaji borvidéken, de jelen van a Tolnai és a Balaton-felvidéki borvidéken is. Jelenlétére utaló speciális tünet nincs, az indikátorfajtán (*Vitis rupestris* cv. St. George) kívül más fajtákban nem írtak le tünetet, látens fertőzést idéz elő. A felmérés tapasztalata az volt, hogy levéldeformációk, levélmozaikok és klorózis is jelezheti a vírus fertőzését. Sok esetben a levélsodródás és vörös vagy sárga elszíneződés sem a Magyarországon gyakorinak számító GLRaV-1 és GLRaV-3 jelenlétét mutatta. Ezeket a vírusokat a Balaton körüli borvidékeken (Badacsonyi, Balaton-felvidéki), az ország északnyugati részén fekvő Soproni és a déli-délnyugati fekvésű Pécsi és Villányi borvidékeken találtuk meg nagyobb számban. Ezen kívül a Kunsági borvidéken is észleltük jelenlétét. AMV-t is találtunk a Balatonfelvidéki, a Tokaji és a Zalai borvidékeken is. A *Nepovirus* nemzetség tagjai közül a GCMV és az ArMV voltak a gyakoribbak, különösen a Zalai borvidéken. A világszerte nagy problémát okozó korai vírusos leromlást előidéző Nepovirusokat kevesebb esetben sikerült kimutatni. A legelterjedtebbnek tartott GFLV-t is csak öt mintában lehetett igazolni a Balatonboglári, Balaton-felvidéki, Balatonfüredi és a Szekszárdi borvidéken.

Eredményeink megerősítik azt a már korábbról ismert tényt, hogy csak a szimptómák alapján a vírusok pontos azonosítása nem lehetséges. Az ország különböző bortermő vidékein eltérő tüneteket tapasztaltunk. Ezeknek egy része feltehetően élettani (Bovey és mtsai 1980), más részük valószínűsíthetően fitoplazmás eredetű (Martelli 1993). Ezekkel a vizsgálatokkal mód nyílt a szőlő vírusos fertőzöttségében az utóbbi években bekövetkezett változások nyomon követésére. A hazai szőlőültetvények vírusos fertőzöttségének pontosabb megismeréséhez nélkülözhetetlen az ültetvények további virológiai vizsgálata, még több számú minta bevonásával, azért hogy a fertőzöttségről szóló adatok minél pontosabbak lehessenek. Ezzel párhuzamosan szükség van az ültetvények fitoplazmás fertőzöttségnek vizsgálatára is.

A vizsgálat eredményei az egyes borvidékek termelőinek – remélhetőleg – hasznos információkkal szolgálnak. Mindezek ismeretében lehetőség nyílik a fertőzött tőkék kiszűrésére valamint azok ültetvényből való mielőbbi eltávolítására, és így a vírusos betegségek a lehető legkisebb kárt okozzák a termelőknek.

Köszönetnyilvánítás

A dolgozat a K67658 sz. OTKA pályázat támogatásával készült.

IRODALOM

Bovey, R., Gärtel, W., Hewitt, W. B, Martelli, G. P. and **Vuittenez, A.** (1980): Virus and Virus-like Diseases of Grapevines – Colour Atlas of Symptoms: Edition Payot Lausanne.

Clark, M. F. and **Adams, A. N.** (1977): Characteristics of the microplate method of enzyme linked immunosorbent assay for detection of plant viruses. J. Gen. Virol., 34: 475–483.

Cseh E., Lázár J., Takács A., Kazinczi G. és **Gáborjányi R.** (2008): A szőlő Magyarországon előforduló és várhatóan megjelenő vírusos betegségeinek és kórokozóinak áttekintése. Növényvédelem, 44: 535–544.

Cseh E., Daragó Á., Takács A. P. és **Gáborjányi, R.** (2011): Szőlővírusok gyakoriságának felmérése magyarországi szőlőültetvényekben. Kertgazdaság, 43: 63–67.

Lázár J. (1996): A szőlő vírusokkal kapcsolatos újabb hazai kutatások eredményei- Vírusbetegségek és mentes törzsültetvények létesítése. Doktori értekezés. Kertészeti és Élelmiszeripari Egyetem, Budapest

Lehoczky, J. (1965): Research on virus diseases of grapevines in Hungary. Proceedings of International

Conference on Virus and Vector on Perennial Hosts, With Special Reference to Vitis. Publ. University of California, Department of Plant Pathology, 311–318.

Lehoczky, J., és **Reichart, G.** (1968): A szőlő védelme. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest.

Lehoczky, J. és **Tasnády, Gy.** (1971): Fertőző leromlás és a krómmozaik vírusos kórfolyamatának hatása a szőlőtőkék terméshozamára és a bogyók cukortartalmára. Kísérletügyi Közlemények, 64 (1–3): 49–64.

Lehoczky J., Farkas G. és **Lázár J.** (1986): A szőlő érnekrózis vírus kimutatása a termesztett szőlőfajták tőkéiből. Kertgazdaság, 18: 59–65.

Lehoczky J., Boscia, D., Martelli, G. M., Burgyán J., Castellano, M. A., Beczner L. és **Farkas, G.** (1987): Vonalas mintázottság – a szőlő eddig ismeretlen vírusbetegségének előfordulása Magyarországon. Kertgazdaság, 6: 61–79.

Martelli, G. P. (1993): Graft transmissible diseases of grapevines, FAO, Rome.

Pompe-Novak, M., Gutiérrez,- Aguirre, I., Vojvoda, J., Blas, M., Tomažič, I., Vigne, E., Fuchs, M., Ravnikar, M. and **Petrovič, N.** (2007): Genetic variability within RNA2 of Grapevine fanleaf virus. Eur. J. Plant Pathol., 117: 307–312.

Sforza, R., Boudon-Padieu, E. and **Greif, C.** (2003): New mealybug species vectoring Grapevine leafroll-associated viruses-1 and 3 (GLRaV-1 and -3). Eur. J. Plant Pathol., 209: 975–981.

Vanek G. (1996): A szőlő növényvédelme. Mezőgazda Kiadó, Budapest

INVESTIGATION OF VIRUSES IN DIFFERENT WINE GROWING REGIONS IN HUNGARY

Eszter Cseh[1], Ágnes Daragó[2], A. P., Takács[2], Izabella Csöndes[3], L. Kocsis[1], Gabriella Kazinczi[3] and **J. Horváth[2,3]**

[1]University of Pannonia, Georgikon Faculty, Department of Horticulture, Keszthely, Deák str. 16, P. O. Box 71., Hungary, e-mail: csehe@georgikon.hu

[2]University of Pannonia, Georgikon Faculty, Plant Protection Institute, Keszthely, P.O. Box 71., Hungary

[3]University of Kaposvár, Faculty of Animal Science, Department of Botany and Plant Production, Kaposvár, P. O. Box 16, Hungary

Virus infection in thirty one vineyards of seventeen Hungarian wine growing regions was surveyed in the last three years. Occurrence of ten viruses was tested by ELISA serological methods.

Among the 277 leaf samples collected gave positive results in 76 samples. Viruses occurred alone in 61 samples, while complex virus infection was detected in 14 samples.

GFkV (*Grapevine fleck virus*) occurred more frequently in the wine growing regions of Eger, Mátra and Tokaj, but it was also present in the Tolna and Balaton-felvidék regions.

GLRaV1 (*Grapevine leafroll -associated virus* 1) and GLRaV3 (*Grapevine leafroll- associated virus* 3) were found in Badacsony and Balaton-felvidék regions. These viruses were frequent in the Northwest part of Hungary (wine region of Sopron) in the South and Southwest part of the country (wine regions Pécs, Villány and Kunság).

Leaf samples infected with AMV *(Alfalfa mosaic virus)* were collected in the most cases in wine regions of Balaton-felvidék, Zala and Tokaj. ArMV *(Arabis mosaic virus)* and GCMV *(Grapevine chrome mosaic virus)* – both of them belong to *Nepovirus* genus – were more frequent than the GFLV *(Grapevine fanleaf virus)* especially in Zala region. Only five samples originated from wine growing regions of Balatonboglár, Balaton-felvidék, Balatonfüred-Csopak and Szekszárd were positive to antisera of GFLV.

Keywords: wine growing regions, grapevine viruses, ELISA serological method

Érkezett: 2011. augusztus 2.

A BÚZA TÖRPÜLÉS VÍRUS *(WHEAT DWARF VIRUS)* ETIOLÓGIAI VIZSGÁLATA ÉS MOLEKULÁRIS JELLEMZÉSE*

Tóbiás István[1], Kiss Balázs[1], Salánki Katalin[2] és Palkovics László[3]
[1]*MTA Növényvédelmi Kutatóintézet, 1025 Budapest Pf. 102 e-mail: tobias@julia-nki.hu*
[2]*Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont Gödöllő*
[3]*Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar, Növénykórtani Tanszék*

A búza törpülés virus hazánkban gabonaféléken általánosan elterjed kórokozó, melynek mindkét formája, a búza és az árpa törzscsoportba tartozó izolátumok jelen vannak. A csikos gabonakabócák csak hosszú táplálkozási szivás után képesek leadni a vírust, 48 óra alatt csupán a vektorok fele vitte át a WDV-t. Hazánkban begyűjtött 7 WDV-izolátum teljes genomszerkezetét meghatároztuk, összehasonlítottuk a Génbankban található ismert WDV szekvenciákkal és filogenetikai törzsfát készítettünk.

Kulcsszavak: búza törpülés vírus, vektorátvitel, molekuláris jellemzés

A búza törpülés vírus (*Wheat dwarf virus*, WDV) első leírását követően (Vacke 1961) Európa számos országában, Közel-Keleten és Kínában is észlelték jelenlétét, sőt gazdasági jelentőségét is (Tóbiás és mtsai 2011). Magyarországon elsőként 80-as évek végén írták le (Bisztray és mtsai 1989, Gáborjányi 1990). Az irodalmi adatok alapján a WDV két törzse ismert, a búzához adaptálódott búzatörzs és az árpához adaptálódott árpatörzs (Lindsten és Vacke 1991, Kundu és mtsai 2009).

A WDV megjelenése egybeesik egyetlen ismert vektorának, a csikos gabonakabócának *(Psammotettix alienus)* paleartikus elterjedésével. A vektor a hazai kalászosokban az egyik legnagyobb tömegben előforduló rovarfaj. Régóta ismert, hogy mind a nőstény, mind a hím imágók, mind az egyes lárvaalakok cirkulatív, nem propagatív módon terjesztik a vírust (Vacke 1962, Nault és Desouky 1989). A fertőzött növényen történő szívást, majd az egy-négy napos inkubációs időszakot követően a vírusátvitel valószínűsége egyedenként igen változó, egyes állatok azonban több hétig is fertőzőképesek maradhatnak (Mehner és mtsai 2003).

A WDV az utóbbi 15 évben a gabonafélék leggyakoribb vírusos betegségét okozta (Szunics és mtsai 2003, Pribék és mtsai 2006), ezért a vírus etiológiai vizsgálatát, molekuláris jellemzését és vektorának valamint a vektortevékenység tanulmányozását tűztük ki célul.

Anyag és módszer

Vírusizolátum

Az ország különböző helyeiről gyűjtöttünk be vírustünetet mutató növényeket, illetve csikos gabonakabóca-imágókat. A növények fertőzöttségét ELISA módszerrel vizsgáltuk. A kabócákat a WDV minkét hazánkban előforduló törzsére (búza- és árpatörzs) egyaránt fogékony, izolátorháló alatt nevelt, jellemzően kétleveles stádiumú zabnövényekre helyeztük, majd 3–5 hét elteltével ELISA vagy PCR módszerrel vizsgáltuk a növények vírustartalmát. Vírusátviteli teszteket Heves, Kál, Dunakiliti, Siófok, Martonvásár, Belsőbáránd, Pilisjászfalu, Pátka, Dalmand, Pula, Szeged és Szentes közeléből begyűjtött izolátumokkal végeztünk.

*Szerzők e munkájukat **Gáborjányi Richard** professzor úrnak 70. születésnapjára dedikálják, kívánva tovább sikereket és jó egészséget.

A WDV detektálása

A vírus megbízható kimutatására ELISA kitet, PCR (polimerase chain reaction) és gördülő körös vírusfelszaporitás (rolling circle amplification, RCA) módszereket alkalmaztuk (Tóbiás és mtsai 2009, 2010a,b, 2011).



1. ábra. Vékony aranyszállal kipányvázott csíkos gabonakabóca árpalevélen

Vírusátviteli vizsgálatok csíkos gabonakabócával

Vizsgálatainkban *P. alienus* imágókkal dolgoztunk, melyek a vizsgálatok előtt több hétig WDV-vel fertőzött árpanövényeken fejlődtek. A vírus leadására egy-egy vírushordozó vektornak 48, 12, 4 és 1 óra állt rendelkezésére kétleveles stádiumú egészséges árpanövényeken. A 48 órás vizsgálat során egy-egy vektor mikroizolátorban volt a növény idősebb levelén lokalizálva 10 ismétlésben. A 12, 4 és 1 órás vírusátviteli próbák során 40, illetve 24–24 ismétlésben a kabócák egyórás éheztetést követően egy vékony aranyszállal voltak a növény levelén kipányvázva. *(1. ábra)* A kabócák szívogatási viselkedését elektropenetrográfiás módszerrel követtük nyomon (Tholt 2011, Tholt és Kiss 2011). Az átviteli próbát követően a kabócákat a növényről eltávolítottuk, majd 6 hét elteltével ELISA tesztet végeztünk az egyes növények fertőzöttségének megállapítására.

Molekuláris vizsgálatok

A molekuláris vizsgálatok céljából hazánkban gyűjtött 7 WDV izolátumot választottunk ki

1. táblázat

A molekuláris vizsgálatokban szereplő WDV izolátumok adatai

Virusizolátum	Gazdanövény	Törzs	Izolálás helye és ideje	Genom mérete	Génbanki száma
WDV-B	búza	búza	Martonvásár 2003	2750 (bp)	AM040732
WDV-F	búza	búza	Nagykovácsi 2003	2750 (bp)	AM040733
WDV-Pula	búza	búza	Pula 2005	2750 (bp)	FN806786
WDV-2Marton	búza	búza	Martonvásár 2008	2750 (bp)	FN806785
WDV-H07	árpa	árpa	Siófok 2005	2734 (bp)	FM210034
WDV-Heves	árpa	árpa	Heves 2007	2734 (bp)	FM999833
WDV-Dunakiliti	árpa	árpa	Dunakiliti 2007	2734 (bp)	FM999832

(1. táblázat). A nukleinsav tisztítása White és Kaper (1989), illetve Shepherd és mtsai (2008) módszere alapján, a genom szintézise PCR vagy az RCA technika segítségével történt (Tóbiás és mtsai 2006, Tóbiás és mtsai 2009, 2010a,b). A klónozáshoz pSK+ (Bluescript) vagy CloneJet (Fermentas) vektorokat használtunk fel, melyeket *Escherichia coli* DH5α kompetens sejtekbe transzformáltunk. A klónozott vírusok nukleotidsorrendjét M13 reverz, M13 forward, és belső indítószekvenciák segítségével határoztuk meg (Tóbiás és mtsai 2011). A WDV izolátumok szekvenciáját a nemzetközi adatbázisban (http://www.ncbi.nlm-nih.gov) található WDV adatokkal hasonlítottuk össze. A szekvenciaelemzést a GCG GAP és TRANSLATE programjai (University of Wisconsin Genetic Computer Group Version) 1) segítségével készítettük. Az ismert WDV izolátumok teljes genomjára vonatkozó filogenetika törzsfát a Clustal X 1.83 program segítségével rajzoltuk meg.

Eredmények

A begyűjtött vírusfertőzött növényekből a kabócák segítségével sikeresen átvittük a különböző WDV izolátumokat, melyeket ELISA és PCR vizsgálatokkal azonosítottunk. A kabócák növényre helyezését követően 11–12 nappal a vírus kimutatható az inokulált levélből, majd 2 hónapon át a növény minden részéből, kivéve a gyökérrendszert, biztonsággal detektálható a WDV. Érdekes módon a tünetek erősödésével a vírus detektálhatósága csökken.

Az egy-egy kabócával történő vírusátviteli vizsgálat során a 48 órás vírusleadási időszak alatt mindössze a kabócák fele vitte át a WDV-t (50%-os hatékonyság). A vírusleadási idő csökkenésével az vírus átviteli hatékonyság tovább csökkent, és 12 óra esetén 40 kabócából csak 6 vitte át a vírust (15%-os hatékonyság). Amennyiben a vírusleadás idejét 4, illetve 1 órára csökkentettük 24–24 növényből egy sem bizonyult vírusfertőzöttnek, azaz egy kabóca sem vitte át a WDV-t.

Eredményeink alapján arra következtetünk, hogy viszonylag hosszú szívási idő szükséges ahhoz, hogy a vírushordozó kabóca újabb növényt megfertőzzön. Ennek egyik lehetséges magyarázata, hogy megfelelően nagy vírusdózis szükséges a betegség kialakulásához. A másik lehetséges magyarázat, hogy csak megfelelő idő elteltével jelennek meg a vírus leadásához szükséges viselkedési elemek a kabócák táplálkozásában. Ennek eldöntéséhez további elektropenetrográfiás módszerrel kibővített vizsgálatok szükségesek. Korábbi eredményeink alapján ugyanakkor több fertőzött vektor és hosszabb (7 napos) fertőzési idő együttes alkalmazásával a vírusátvitel nagy biztonsággal létrejön (Tóbiás és mtsai 2010a).

A molekuláris vizsgálatok céljából 7 WDV izolátumot választottunk ki, melyek különböző tájegységből, gazdanövényről és eltérő évjáratból származtak. *(1. táblázat)* Az eltérő származás ellenére a búzáról és az árpáról származó izolátumok nagy hasonlóságot mutatnak (99,2% és 99% feletti azonosság). A búza- és árpaizolátumok között azonban nagy különbség figyelhető meg, egyrészt a genom méretében, másrészt az elsődleges szerkezetében. A két genom közötti azonosság mindössze 85% körül van *(2. táblázat).*

A hazánkban begyűjtött WDV-izolátumokat a Génbankban található különböző földrajzi származású WDV izolátumokkal összehasonlít-

2. táblázat

A hazánkban begyűjtött WDV izolátumok teljes genomjának összehasonlítása

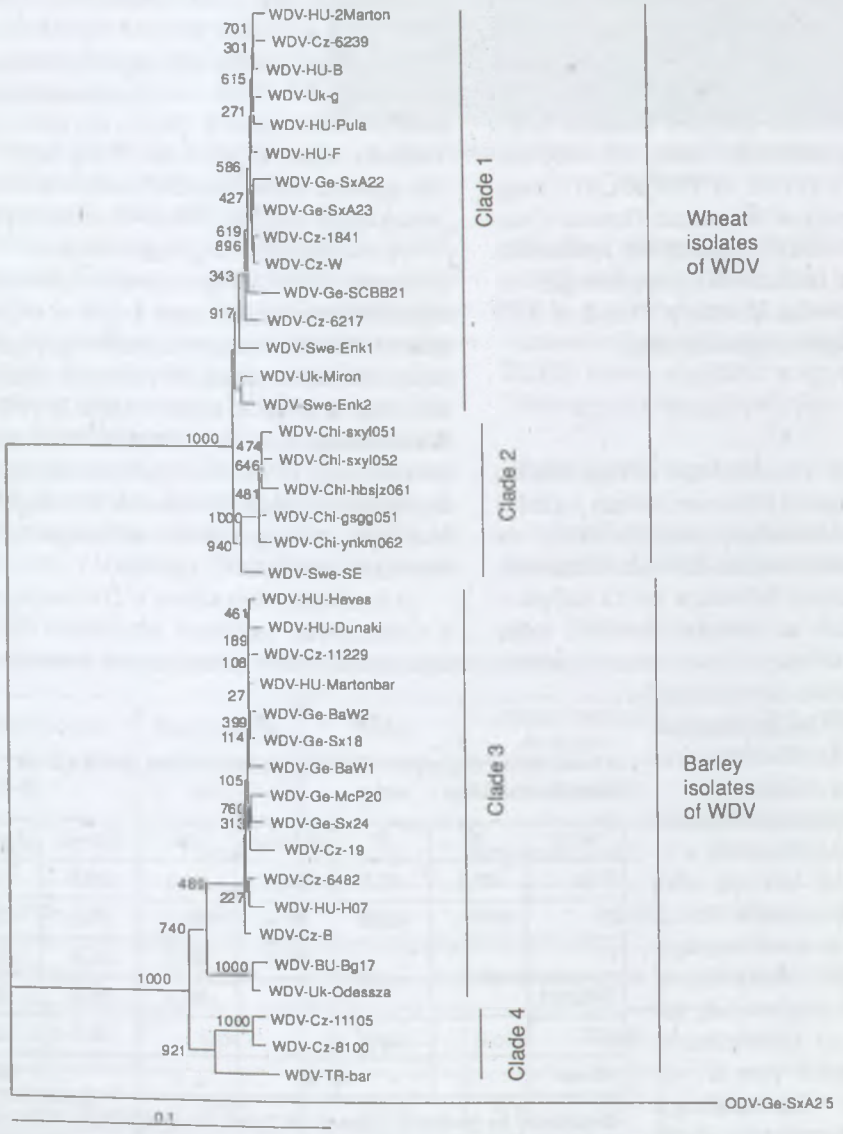
WDV	B	F	2Marton	H07	Heves	Dunakiliti
Pula	99,5	99,5	99,2	85,3	85,5	85,3
B		99,6	99,4	85,1	85,3	85,1
F			99,3	85,2	85,4	85,2
2Marton				85,3	85,2	85
H07					99,3	99
Heves						99,4

Rövidítések és génbanki számok: WDV-HU-B: AM040732, WDV-HU-F: AM040733, WDV-HU-H07: FM210034, WDV-HU-Heves: FM999833, WDV-HU-Dunakiliti: FM999832, WDV-HU-2Marton: FN806785, WDV-HU-Pula: FN806786

va megállapíthatjuk, hogy a búzatörzsekhez sorolt izolátumok nagy hasonlóságot mutatnak (98,7% feletti azonosság), az árpatörzs izolátumai esetén viszont nagyobb variabilitás figyelhető meg (96–99,4%).

A WDV izolátumok filogenetikai elemzése során a búza- és árpatörzsek izolátumai nagyon jól elkülöníthetők, és mindkét csoport további két-két alcsoportba sorolható *(2. ábra)*.

A búzatörzsek 1. alcsoportjába cseh, német, magyar, svéd és ukrán WDV izolátumok, míg a 2. alcsoportba kizárólag kínai, illetve egy svéd izolátum tartozik. Az árpatörzscsoportba tartozó izolátumok első változatos képet mutató alcsoportjába bolgár, cseh, német, magyar és ukrán izolátumok, a másik alcsoportba két cseh és egy török izolátum tartozik.



2. ábra. A búza törpülésvírus-izolátumok UPGMA módszerrel készített filogenetikai törzsfája. (A boostrap értékek feltüntetve.) Csoporton kívüli tagként a zab törpülés vírust (*Oat dwarf virus*, ODV) vettük alapul

3. táblázat

A filogenetikai törzsfa készítésekor felhasznált WDV izolátumok génbanki elérhetősége és származási helye. Vastag betűvel jelölt törzsek elsődleges szerkezetét laboratóriumunkban határoztuk meg

Vírus izolátum	Génbanki elérhetőség	Származási ország
WDV-HU-B	AM040732	Magyarország
WDV-HU-F	AM040733	Magyarország
WDV-HU-H07	FM210034	Magyarország
WDV-HU-Heves	FM999833	Magyarország
WDV-HU-Dunakiliti	FM999832	Magyarország
WDV-HU-Martonbar	AM747816	Magyarország
WDV-HU-2Marton	FN806785	Magyarország
WDV-HU-Pula	FN806786	Magyarország
WDV-Uk-g	FN806783	Ukrajna
WDV-Uk-Miron	FN806784	Ukrajna
WDV-Uk-Odessza	FN806787	Ukrajna
WDV-BU-Bg17	AM989927	Bulgária
WDV-Swe-Enk1	AJ311031	Svédország
WDV-Swe-Enk2	AM491490	Svédország
WDV-Swe-SE	X02869	Svédország
WDV-Chi-hbsjz061	EF536870	Kína
WDV-Chi-ynkm062	EF536881	Kína
WDV-Chi-sxyl052	EF536878	Kína
WDV-Chi-gsgg050	EF5368591	Kína
WDV-Chi-sxyl051	EF536877	China
WDV-Ge-SxA22	AM296022	Németország
WDV-Ge-SxA23	AM296023	Németország
WDV-Ge-SxA24	AM296024	Németország
WDV-Ge-SxA25	AM296025	Németország
WDV-Ge-SCBB21	AM296021	Németország
WDV-Ge-BaW1	AM411651	Németország
WDV-Ge-BaW2	AM411652	Németország
WDV-Ge-McP20	AM296020	Németország
WDV-Ge-Sx18	AM296018	Németország
WDV-Cz-6217	FJ546189	Csehország
WDV-Cz-6239	FJ546190	Csehország
WDV-Cz-W	FJ546188	Csehország
WDV-Cz-1841	FJ546191	Csehország
WDV-Cz-19	AM296019	Csehország
WDV-Cz-11105	FJ546180	Csehország
WDV-Cz-8100	FJ546179	Csehország
WDV-Cz-11229	FJ546181	Csehország
WDV-Cz-6482	FJ546178	Csehország
WDV-Cz-B	FJ546193	Csehország
WDV-Tr-bar	AJ783960	Törökország

Köszönetnyilvánítás

Munkánkat a 61644 és a 68589-es számú OTKA kutatási témák keretében végeztük.

IRODALOM

Bisztray Gy., Gáborjányi R. and **Vacke J.** (1989): Isolation and characterisation of wheat dwarf virus found for the first time in Hungary. J. Plant Dis. Protect. 96: 449–454.

Gáborjányi R. (1990): A gabonafélék vírusbetegségei – gabonavírusok Doktori értekezés

Kundu, J.K., Gadiou, S. and **Cervená, G.** (2009): Discrimination and genetic diversity of Wheat dwarf virus in Czeh Republic. Virus Genes, 38: 468–474.

Lindsten, K. and **Vacke, J.** (1991): A possible barley adapted strain of *Wheat dwarf virus* (WDV). Acta Phytopath. Entomol. Hung., 26: 175–80.

Mesterházy, Á., Gáborjányi, R., Papp, M. and **Fónad P.** (2002): Multiple virus infection of wheat in South Hungary. Cereal Research Communications, 30: 329–334.

Mehner, S., Manurung, B., Grüntzig, M., Habekuss, A., Witsack, W. and **Fuchs, E.** (2003): Investigations into the ecology of the Wheat dwarf virus (WDV) in Saxony-Anhalt, Germany. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz,. 110. 4: 313–323

Nault, R. L. and **Desouky, A.** (1989): Leafhopper and planthopper transmission of plant viruses, 34: 503–529 .

Pribék, D., Pocsai, E., Szunics, L., Vida, Gy. és **Weisz, O.** (2006): Versenyfutás a vírussal. MTA Mezögazdasági Kutatóintézetének közleményei, 18: 20–22.

Shepherd, D., Martin, P.D., Lefeuvre, P., Monjane, A., Owor, B., Rybicki, E.P. and **Varsani, A.** (2008): A protocol for the rapid isolation of full geminivirus genomes from dried plant tissue. Journal of Virological Methods, 149: 97–102.

Szunics, L., Pocsai, E., Vida, G., Veisz, O., Láng, L. and **Bedő. Z.** (2003): Kalászos gabonák vírusok okozta betegségei 2002-ben. Növénytermelés, 52: 33–39.

Tholt G. és **Kiss B.** (2011): A csíkos gabonakabóca tápnövénykörének vizsgálata. Növényvédelem, 47 (6): 229–235.

Tholt G. (2011): A szipókás rovarok táplálkozásának vizsgálati módszere – Az elektro-penetrográfia (EPG) bemutatása. Növényvédelem, 47 (4): 160–165.

Tóbiás, I., Kiss, B. and **Palkovics, L.** (2006): The nucleotide sequence of two Hungarian isolates of *Wheat dwarf virus*. Acta Phytopath. et Entomol. Hung., 41: 47–52.

Tóbiás, I., Kiss, B., Bakardjieva, N. and **Palkovics, L.** (2009): The nucleotide sequence of barley strain of *Wheat dwarf virus* isolated in Bulgaria. Cereal Research Communications, 37: 237–242.

Tóbiás, I., Kiss, B., Pájtli, É., Tholt, G. és **Salánki, K.** (2010a): A búza törpülés vírus *(Wheat dwarf virus)* árpatörzsének jellemzése és átviteli kísérletek. Növényvédelem, 44 (11): 545–552.

Tóbiás, I., Kiss, B. Salánki, K. and **Palkovics, L.** (2010b): The nucleotide sequence of barley strain of Wheat dwarf virus isolated in Hungary. Cereal Research Communication, 38: 67–74.

Tóbiás, I., Shevchenko, O., Kiss, B., Bysov, A., Snihur, H., Polischuk, V., Salánki, K. and **Palkovics L.** (2011): Comparison of the nucleotide sequences of Wheat darf virus (WDV) isolates from Hungary and Ukraine. Polish Journal of Microbiology, 60. 125–131.

Vacke J. (1961): Wheat dwarf virus. Biologia Plantarum, 3: 228–233.

Vacke, J. (1962): Some new findings on wheat dwarf virus. Plant Virology, Proc. of 5th Confer. of Czechoslov. Pl. Virol., 331–334.

White, J.L. and **Kaper, J. M.** (1989): A simple method for detection of viral satelite RNA in small tissue samples. Journal of Virological Methods, 23: 83–94.

ETIOLOGY AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF WHEAT DWARF VIRUS

I. Tóbiás[1], B. Kiss[1], Katalin Salánki[2] and **L. Palkovics[3]**

[1]Plant Protection Institute, Hungarian Academy of sciences 1025 Budapest P.O. Box 102. e-mail: tobias@julia-nki.hu

[2]Agricultural Biotechnology Center, Gödöllő

[3]Corvinus University of Budapest, Faculty of Horticultural Sciences, Department of Plant Pathology, Budapest

Wheat dwarf virus is the most ubiquitous virus in cereals causing important losses in certain years in Hungary. The presence of barley- and wheat adapted isolates have been confirmed. The leafhoppers can transmit the virus only after a prolonged feeding period. In our trials, only 50 % of vectors has tranmitted the virus after 48 hours feeding time, while no transmission has occurred after 1 and 4 hours of feeding. Seven WDV isolates collected in Hungary were sequenced and compared with known WDV isolates from GenBank and phylogenetic tree was constructed.

Keywords: wheat dwarf virus, vector transmission, molecular characterization

Érkezett: 2011. augusztus 2.

A PARADICSOM KLORÓZIS VÍRUS (*TOMATO CHLOROSIS VIRUS*, TOCV) ELSŐ MEGJELENÉSE PARADICSOMBAN MAGYARORSZÁGON*

Bese Gábor[1], Bóka Károly[2], Krizbai László[3] és Takács András Péter[4]
[1]*Csongrád Megyei Kormányhivatal, NTI-KDO H-6800 Hódmezővásárhely, Rárósi út 110.*
[2]*Eötvös Loránd Egyetem, Növényszervezettani Tanszék, H-1117 Budapest, Pázmány P. stny. 1/C.*
[3]*MgSzH Központ NTAI, KKDL, H-1118 Budapest, Budaőrsi út 141–145.*
[4]*Pannon Egyetem, Georgikon Kar, Növényvédelmi Intézet, H 8360 Keszthely, Deák F. u. 16.*

2007 őszén egy tömörkényi üvegházban, Dél-Magyarországon klorotikus tüneteket mutató paradicsom (Solanum lycopersicum L. cv. Grandella) *növényeket figyeltek meg. A növények lassabban fejlődtek, és a levelek aszimmetrikus érközi sárgulást és nekrotizálódó foltokat mutattak. A külföldi szakirodalomban hasonló tüneteket írtak le paradicsom- növényekről, amelyeket a paradicsom klorózis vírus* (Tomato chlorosis virus, ToCV) *okozott. A vírusos fertőzést biotesztteI, szerológiai, elektronmikroszkópos és molekuláris biológiai vizsgálatokkal igazoltuk. A vírusgenom egy szakaszát ToCV-specifikus indító szekvenciákkal felszaporítottuk. Eredményeinket a szekvenciaadatok, a filogenetikai összehasonlítás és az elektronmikroszkópos vizsgáltok is megerősítettek.*

Kulcsszavak: paradicsom, Paradicsom klorózis vírus, RT-PCR, ELISA, elektronmikroszkóp

A paradicsom klorózis vírust (*Tomato chlorosis virus*, ToCV) Wisler és mtsai (1998a) írták le először paradicsomról egy kaliforniai paradicsomültetvényben. A leveleken szabálytalan klorotikus foltokat, aszimmetrikus érközi sárgulást, később vörös és barna nekrotikus foltokat észleltek. A vírus valószínűleg már korábban megjelent Columbia and Suwannee megyében, Kalifornia államban 1989-ben (Simone és mtsai 1996). A megfigyelt tünetek alapján a betegséget „sárga levél rendellenesség"-nek nevezték el. A későbbi vizsgálatok során bebizonyosodott, hogy a sárguló levéltüneteket a ToCV és az azonos nemzetségbe tartozó a paradicsom fertőző klorózis vírus (*Tomato infectious chlorosis virus*, TICV) okozták. Spanyolországban és Görögországban a vírus 1997-ben jelent meg (Navas-Castillo és mtsai 2000, Dovas és mtsai 2002). A vírus Európa több országában, Portugáliában (Louro és mtsai 2000), Olaszországban (Acotto és mtsai 2001), Franciaországban (Dalmon és mtsai 2005) és Cipruson (Papayiannis és mtsai 2005) is megjelent.

A világ különböző részeiről – Ázsia, Afrika, Észak-, Közép- és Dél-Amerika – jelentették a vírus megjelenést (Tsai és mtsai 2004; Hanafi 2002; Wintermantel és mtsai 2001; Barbosa és mtsai 2008).

ToCV a *Crinivirus nemzettség Closteroviridae* családjába tartozik (Wisler és mtsai 1998b). Molytetvekkel (*Trialeurodes vaporariorum* West., *T. abutilonea* Hald., *Bemisia tabaci* Genn.) és oltással terjed. A mechanikai és a maggal történő vírusátvitelt eddig nem igazolták (EPPO 2005). A molytetvek szemi-perzisztens módon képesek a vírus terjesztésére. A leg-

*Szerzők e munkájukat **Gáborjányi Richard** professzor úrnak 70. születésnapjára dedikálják, kívánva további sikereket és jó egészséget

hatékonyabban a *Bemisia tabaci* B biotipusa képes a vírus átvitelre, legkevésbé pedig a *Trialeurodes vaporariorum*, amely a magyarországi paradicsomtermesztő berendezésekben nagymértékben jelen van (Wintermantel és Wisler 2006). A vírus gazdanövényköre szűk, természetes körülmények között paradicsomról és paprikáról (Lozano és mtsai 2004) írták le. A vírusfertőzést számos gyomnövényen azonosították. Vektorai közül hazánkban az üvegházi liszteske széles körben elterjedt.

Anyag és módszer

2007 őszén egy tömörkényi üvegházban a paradicsom (*Solanum lycopersicum* L. cv. Grandella) növényeken vírusos fertőzésre jellemző tüneteket figyeltünk meg. A növények tüneteket mutató leveleit bioteszt, DAS-ELISA, elektronmikroszkópos és molekuláris biológiai módszerekkel vizsgáltuk.

A bioteszt során mechanikailag inokuláltunk *Nicotiana tabacum* cv. *Xanthi-nc, N. tabacum* cv. *Samsun, N. glutinosa, Datura stramonium, Capsicum annuum, Solanum lycopersicum* tesztnövényeket.

A mintákat DAS ELISA szerológiai módszerrel a Loewe Biochemica és az Adgen paradicsom bronzfoltosság vírus (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV), burgonya Y- vírus (*Potato virus Y*, PVY), uborka mozaik vírus (*Cucumber mosaic virus*, CMV), lucerna mozaik vírus (*Alfalfa mosaic virus*, AMV), paradicsom mozaik vírus (*Tomato mosaic virus*, ToMV) és pepino mozaik vírus (*Pepino mosaic virus*, PepMV) antiszérumainak felhasználásával vizsgáltuk. A fotometriás méréseket Labsystems Multiskan RC ELISA olvasóval 405 nm-es hullámhossztartományban végeztük.

Az elektronmikroszkópos munka során a negatív festéssel készült preparátumokat és az ultravékony metszeteket Hitachi 7100 transzmissziós elektronmikroszkópban 75kV gyorsítófeszültséggel vizsgáltuk.

A molekuláris biológiai vizsgálatokhoz a tüneteket mutató növényekből az RNS-t RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen) segítségével tisztítottuk. A nukleinsav megsokszorozása reverz transzkripciós – polimeráz láncreakcióval (RT-PCR) történt, melyhez a ToCV HSP70 fehérjét kódoló génspecifikus primer párt alkalmaztunk ToCV-UP5'TCATTAAAACTCAATGGG ACC GAG-3' és ToCV-DW 5'-GCGACGTAAATT GAAACCC-3' (Verhoeven és mtsai 2003). A PCR termékek szekvenálása DYEnamic ET Dye Terminator Cycle Sequencing Kit (GE Healthcare) segítségével történt.

Eredmények és következtetések

A megfigyelt paradicsomállomány harminc százaléka klorózist, aszimmetrikus érközi sárgulást és nekrotikus foltokat mutatott (*1. ábra*). A terméseken tüneteket nem tapasztaltunk. Külföldön is hasonló tüneteket figyeltek meg paradicsomnövényeken a ToCV és/vagy a TICV fertőzés hatására (Wisler és mtsai 1998a).

A bioteszt és a szerológiai vizsgálatok eredménye minden esetben negatív volt, amely alapján kizárhattuk a Magyarországon paradicsomon leggyakrabban előforduló vírusok (TSWV, PVY, CMV, ToMV, PepMV) fertőzését.

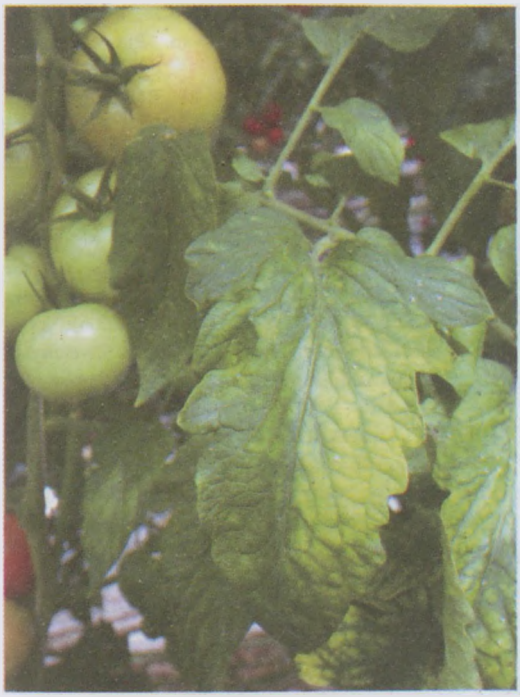
Az elektromikroszkópos felvételeken a mintában flexibilis fonál alakú víruspartikulumokat figyeltünk meg.

A tünetes növényekből amplifikált RT-PCR termékek mérete (397 bp) megegyezett a szakirodalomban közöltekkel (Verhoeven és mtsai 2003). Egészséges paradicsomból nem mutattunk ki vírusspecifikus szakaszt.

A hazai ToCV K1 izolátum amplifikációs termékét a vírusspecifikus primerekkel mindkét irányban szekvenáltuk. A szekvenciákat a GenBank adatbázisába helyeztük (azonosító: HQ444266).

A K1 izolátum 99%-os hasonlóságot mutatott egy japán (Tochigi, AB513442), görög (Gr-535, EU284744), amerikai (Florida, AY903448) és egy mexikói (Sinaloa, DQ377368) izolátummal, a legkisebb homológiát a Mauritius államból (isolate „3", AM884013) származó izolátummal eredményezte (96%). Ezen adatok alapján a K1 izolátum eredete nem állapítható meg.

A megfigyelt aszimmetrikus klorotikus levéltünetek, a 99%-os hasonlóságot mutatott felszaporított nukleinsavszakasz szekvenciaadatai,



1. ábra. Paradicsom klorózis vírus aszimmetrikus érközi sárgulás tünete paradicsomon (fotó: Bese Gábor)

valamint a vírusra jellemző partikulum elektromikroszkópos vizsgálatai alapján megállapítottuk, hogy a paradicsomnövényeket a ToCV fertőzte (Bese és mtsai 2011) meg.

Az fertőzött növényállományban a bogyón tüneteket nem tapasztaltunk. Nagyon erős üvegházilisztéske-fertőzést lehetett megfigyelni. Vizsgálatainkkal a fertőzés forrását nem sikerült egyértelműen meghatározni. Valószínűsíthető, hogy a kórokozó ToCV, fertőzött üvegházi liszteskével érkezett az országba. A kórokozó első hazai megjelenése óta több fertőzött paradicsomállományt azonosítottunk, amely bizonyítja a ToCV terjedését Magyarországon.

A paradicsom torrado vírus (*Tomato torrado virus*, ToTV) (Alfaro-Fernández és mtsai 2009) és a ToCV hazai megjelenése miatt a jövőben számolnunk kell a molytetvekkel terjedő vírusok kártételével.

A ToCV elleni védekezés, hasonlóan más vírusokhoz, csak közvetetten és komplex módon a prevencióra alapozva hozhat eredményt. A higiéniai rendszabályok betartásával a molytetű elleni biológiai vagy kémiai védekezés akadályozhatja meg a vírus gyors terjedését. A jelenleg használt paradicsomfajták mindegyike fogékony a vírussal szemben. A rezisztenciagének keresése a vad paradicsomfajokban jelentős eredményeket hozott (García-Cano és mtsai 2010), amely a jövőben megoldást jelenthet a ToCV elleni védekezésben.

A molytetvek ellen alkalmazható kémiai védekezési lehetőségek hatékonyságának csökkenése, a növényvédő szerekkel szembeni rezisztencia gyors kialakulása és a molytetvekkel terjedő vírusok folyamatosan új kihívások elé állítják a termelőket és a növényvédelemmel foglalkozó szakembereket.

IRODALOM

Acotto, G.P., Vaira, A.M., Vecchiati, M., Finetti Sialer, M.M., Gallitelli, D. and **Davino, M.** (2001): First report of Tomato chlorosis virus in Italy. Plant Disease, 85: 1208.

Alfaro-Fernández, A., Bese, G., Córdoba-Sellés, C., Cebrián, M. C., Herrera-Vásquez, J. A., Forray, A. and **Jordá, C.** (2009): First Report of *Tomato torrado virus* infecting tomato in Hungary. Plant Disease, 93: 554.

Barbosa J. C., Teixeira A. P. M., Moreira A. G., Camargo L. E. A., Bergamin Filho A., Kitajima E. W. and **Rezende J. A. M.** (2008): First report of Tomato chlorosis virus infecting tomato crops in Brazil. Plant Disease, 92: 1709.

Bese, G., Bóka, K., Krizbai, L. and **Takács, A.** (2011): First report of *Tomato chlorosis virus* in tomato from Hungary. Plant Disease. 95: 363.

Dalmon, A., Bouyer, S. and **Cailly, M.** (2005): First Report of Tomato chlorosis virus and Tomato infectious chlorosis virus in tomato crops in France. Plant Disease, 89: 1243

Dovas, C.I., Katis, N.I. and **Avgelis, A.V.** (2002): Multiplex detection of criniviruses associated with epidemics of a yellowing disease of tomato in Greece. Plant Disease, 86: 1345–1349.

EPPO (2005): Tomato chlorosis crinivirus. Bulletin OEPPO/EPPO Bulletin, 35: 439–441.

García-Cano, E., Navas-Castillo, J., Moriones, E. and **Fernández-Muñoz, R.** (2010): Resistance to *Tomato chlorosis virus* in wild tomato species that impair virus accumulation and disease symptom expression. Phytopathology, 100: 582–592.

Hanafi, A. (2002): Invasive species: a real challenge to IPM in the Mediterranean region? *European Whitefly*

Studies Network Newsletter no. 13, p. 4. John Innes Centre, Norwich (GB).

Louro, D., Accotto, G.P. and **Vaira, A.M.** (2000): Occurrence and diagnosis of Tomato chlorosis virus in Portugal. European Journal of Plant Pathology, 106: 589–592.

Lozano, G., Moriones, E. and **Navas-Castillo, J.** (2004): First report of sweet pepper *(Capsicum annuum)* as a natural host plant for Tomato chlorosis virus. Plant Disease, 88: 224.

Navas-Castillo, J., Camero, R., Bueno, M. and **Moriones, E.** (2000): Severe yellowing outbreaks in tomato in Spain associated with infections of Tomato chlorosis virus. Plant Disease, 84 :835–837.

Papayiannis, L.C., Ioannou, N., Dovas, C.I., Maliogka, V.I. and **Katis, N.I.** (2005): First report of Tomato chlorosis virus (ToCV) on tomato crops in Cyprus. New Disease Reports, 12: 3.

Simone, G. W., Hochmuth, R. C., Wisler, G.C., Duffus, J. E., Liu, H.-Y., and **Li, R. H.** (1996): A new whitefly-vectored closterovirus of tomato in Florida. in: Florida Tomato Institute Proceedings, 71–74.

Tsai, W.S., Shih, S.L., Green, S.K., Hanson, P. and **Liu, H.Y.** (2004): First report of the occurrence of *Tomato chlorosis virus and Tomato infectious chlorosis virus* in Taiwan. Plant Disease, 88: 311.

Verhoeven, J. Th. J., Willemen, T. M., Roenhorst, J. W., and van der Vlugt, R. A. A. (2003): First Report of *Tomato infectious chlorosis virus* in Tomato in Indonesia Plant Disease, 87: 872.

Wintermantel, W. M., Polston, J. E., Escudero, J. and **Paoli, E. R.** (2001): First report of *Tomato chlorosis virus* in Puerto Rico. *Plant Disease* 85: 228.

Wintermantel, W. M., and Wisler, G. C. (2006): Vector specificity, host range, and genetic diversity of *Tomato chlorosis virus*. Plant Disease 90: 814–819

Wisler, G.C., Duffus, J.E., Liu, H.Y. and **Li, R.H.** (1998a): Ecology and epidemiology of whitefly-transmitted closteroviruses. Plant Disease, 82: 270–280.

Wisler, G.C., Li, R.H., Liu, H.Y., Lowry, D.S. and **Duffus, J.E.** (1998b): Tomato chlorosis virus: a new whitefly-transmitted, phloem-limited, bipartite closterovirus of tomato. Phytopathology, 88: 402–409.

FIRST OCCURRENCE OF *TOMATO CHLOROSIS VIRUS* (TOCV) IN TOMATO IN HUNGARY

G. Bese[1], K. Bóka[2], L. Krizbai[3] and **A.P. Takács[4]**

[1]Goverment Office of Csongrad Country, Plant and Soil Conservation Directorate Plant Health Division, H-6800 Hódmezővásárhely, Rárósi út 110, Hungary, e-mail: Bese.Gabor@mgszh.gov.hu

[2]Eötvös Loránd University, Department of Plant Anatomy, H-1117 Budapest, Pázmány P. stny 1/C, Hungary, e-mail:bokak@ludens.elte.hu

[3]Central Agricultural Office, Central Laboratory for Pest Diagnosis, H-1118 Budapest Budaörsi út 141–145, Hungary, e-mail: KrizbaiL@mgszh.gov.hu

[4]University of Pannonia, Georgikon Faculty, Plant Protection Institute, H-8360 Keszthely, Deák F. u. 16. Hungary, e-mail: a-takacs@georgikon.hu

In 2007 disease of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) was observed in some glasshouses in Tömörkény in Southern Hungary. Plants were chlorotic and stunted. Leaves showed mottling, asymmetric interveinal yellowing and necrosis. Similar symptoms induced by *Tomato chlorosis virus* (ToCV) were recently reported from different countries. Virus infection was checked by biotest, DAS-ELISA, electron microscopy and reverse transcription – polymerase chain reaction (RT-PCR) diagnostic methods. Biotest and DAS-ELISA had negative result for common tomato viruses (TSWV, PVY, CMV, ToMV, PepMV). ToCV cDNA synthesis using specific primers gave specific band, which was also confirmed by sequence data comparison. ToCV particles were also detected by electron microscopy.

Keywords: tomato, *Tomato chlorosis virus*, RT-PCR, ELISA, electron microscopy

Érkezett: 2011. augusztus 2.

A TŰFONÁLFÉRGEK (*XIPHINEMA* SPP.) ELŐFORDULÁSA EGYES HAZAI SZŐLŐÜLTETVÉNYEKBEN

Daragó Ágnes[1], Cseh Eszter[3], Nagy Péter[2], Takács András Péter[1], Répási Viktória[2] és Gáborjányi Richard[1]

[1]Pannon Egyetem Georgikon Kar, Növényvédelmi Intézet, H-8360 Keszthely, Deák F. u. 57.
agnes.darago@gmail.com
[2]Szent István Egyetem Állattani és Állatökológiai Tanszék, H-2103 Gödöllő, Páter K. u. 1.
[3]Pannon Egyetem Georgikon Kar, Kertészeti Tanszék, H-8360 Keszthely, Deák F. u. 16.

Magyarország 7 borvidékéről 97 talajmintát vettünk a szőlőültetvény fonálféreg fertőzöttség megállapítására 2009 és 2010 között. A tűfonálféreg által fertőzött területekről a Xiphinema vuittenezi *és a* Xiphinema index *előfordulását mutattuk ki. A vizsgált minták 40,7%-ból e két faj valamely képviselőjét azonosítottuk. A* Xiphinema index *előfordulását sikerült kimutatnunk több olyan területről is, ahol hazánkban eddig még nem figyelték meg. A* X. vuittenezi*-t a minták egyharmadában találtuk meg. A 97 db talajmintából 37 esetben azonosítottuk ezt a fajt. A* X. index *5 db mintában fordult elő. A Villányi, Mecsekaljai és Tolnai borvidék szőlőültetvényeiben ugyan megtaláltuk a* X. vuittenezi*-t de csak alacsony egyedsűrűségben. A Balatonmelléki borvidék vizsgált talajaiban szintén a* X. vuittenezi *fonálféreg fajt azonosítottuk nagyobb példányszámban. A Mátraaljai és az Egri borvidék szőlőültetvényeiben a* X. vuittenezi *mellett a* X. index*-et találtuk meg a mintákban. Az utóbbi faj itteni előfordulása az eddigi szakirodalomból nem ismert.*

Kulcsszavak: fonálféreg, vírus, szőlő

A fonálférgek (Nematoda) törzse rendkívüli nagy példányszámával az első, míg fajszám tekintetében a harmadik helyen áll a Földön. Életformájukat tekintve lehetnek szabadon élők, ideértve a növényi nedvszívókat is, vagy állati paraziták. (Andrássy és Farkas 1988). A növényvédelemben különösen nagy szerepet töltenek be a növényi kártevők (fitonematóda). Az eddig leírt fitonematóda fajok száma meghaladja a 4000-et. A Longidoridae és a Trichodoridae család fajai vándorló gyökér károsító életmódot folytatnak. E két család fajai jelentős közvetlen kár okozói számos növénykultúrában. Egyes fajaik közvetett kártételükkel okoznak súlyos termésveszteséget (Perry és Moens 2006).

A növényvírusok terjedésének legáltalánosabb és legveszélyesebb formája az állati vektorokkal történő vírusátvitel. A fonálférgek egyes fajai a legismertebb és legnagyobb jelentőségű vírusvektorok közé tartoznak (Horváth 1999). A Longidoridae és Trichodoridae család néhány faja két fontos növényi vírus család (nepovírus, tobravitus) vektora (Perry és Moens 2006).

A nematódák és a vírusok közötti kapcsolatot Hewitt és munkatársai. 1958-ban igazolták, bizonyítva hogy a *Xiphinema index* terjeszti a szőlő fertőző leromlás vírust (*Grapevine fanleaf virus*, GFLV). Ezek után intenzív kutatás indult a talajvírusok terjedési körülményeinek, és a talaj fonalféregfaunájának megismerésére (Horváth 1972).

Magyarországon az utóbbi évtizedekben kevés figyelem irányult a fitonematóda fauna feltérképezésére. A Longidoridae család fajaira vonatkozóan – hosszabb kihagyás után – a múlt évtizedben zajlott egy olyan faunisztikai felmérés, amely más területek mellett az ország több borvidékére is kiterjedt (Répási és mtsai 2006).

A fitonematódák gazdasági károsítása jelentős probléma számos mezőgazdasági kultúrában. Szőlő esetében a *Xiphinema* genus fajainak fő kártétele a vírusok terjesztésében mutatkozik meg. A *Xiphinema* fajok minden fejlődési alakja képes a vírusok terjesztésére, a lárvák és az ivarérett egyedek egyaránt (Andrássy és Farkas 1988).

A Longidoridae család tagjai nagy testű, karcsú, több mm hosszú állatok, egyes példányaik a 12 mm-es hosszúságot is elérhetik. A szájszurony szokatlanul hosszú, 50–220 µm. A Longidoridae családba két alcsaládot sorolunk: Longidorinae Thorne, 1935 és Xiphinematinae Dalmasso, 1969. Az utóbbi alcsalád *Xiphinema* nemzettsége a legrégebbi és a legváltozatosabb a Longidoridae családban. Napjainkig mintegy 240 *Xiphinema* fajt írtak le (Perry és Moens 2006).

A Longidoridae család fajainak gazdanövényköre rendkívül széles, jelen vannak fás és lágyszárú növények, szőlő, valamint gyümölcs fajok (alma, cseresznye, kajszibarack, körte, mandula, őszibarack, szilva, vadalma) gyökérzónájában. Ezen kívül gazdanövényei a szántóföldi növények (cukorrépa, búza, árpa, burgonya), zöldségfélék (káposzta, sárgarépa, petrezselyem) valamint a dísznövények (Andrássy és Farkas 1988). Tápnövényei még a citrusfélék (Ibrahim és mtsai 2010), a fekete ribiszke, az eper, a ciprusfa, a fodormenta, a málna, az áfonya, a rózsa, az erdei fenyő, a lucfenyő, a jegenyefenyő, a tölgy, a platán, a bükk, a nyár (Andrássy és Farkas 1988), valamint egyes libatop fajok (Webster 1972).

Az európai tűfonálféreg (*Xiphinema vuittenezi*) Luc, Lima, Weischer & Flegg, 1964, az Egyesült Államokban és Közel-Keleten is előfordul, de fő elterjedési területe az európai kontinens (Andrássy és Farkas 1988). Közép- és Kelet-Európa valószínűleg leggyakoribb tűfonálféreg faja (Jenser 1985). A fajt azonosították már Szlovákia (Lisková 1995, Coiro és mtsai. 2000), Csehország (Ebernová 1975), Lengyelország (Szczygiel és Hasior 1972), Románia, Bulgária (Lamberti és mtsai 1997, Choleva és mtsai 1980), Moldávia, Ukrajna és Horvátország (Samota és mtsai 1994) területéről. Svájcban az 1980-as évek elején végzett vizsgálatok során szőlő és alma ültetvényekben három *Xiphinema* fajt izoláltak (*X. diversicaudatum, X. vuittenezi*, és *X. index*) (Klingler és mtsai. 1983). Újabb felmérések már Ausztráliában is kimutatták a *Xiphinema vuittenezi* fonálférget (Walker 2004).

Magyarországon igen gyakori faj. Megfigyelések szerint az idős ültetvényeket jobban kedveli, mint a fiatal telepítésű szőlőt (Elekes és Vályi 1980). A lárvák és az imágók szívogatásukkal egyaránt károsítanak. A faj jelenlétére utalhatnak bizonyos jelek: a gyökérzet színe sötétebbé válik, a gyökérvégek megduzzadnak (Cohn és Orion 1970). A megtámadott gyökerek megvastagodnak, csavarodnak és sok elágazódás keletkezik rajtuk. Később ezek a gyökérrészek elhalnak (Lehoczky és Reichart 1968). Megfigyelések szerint fertőzött őszibarack fák gyökértömege 40%-kal lett kisebb az egészséges növények gyökértömegéhez képest (Jenser és Simon 1980). Gazdanövényei közé tartozik a szőlő, alma, vadalma, körte, fekete ribiszke, cukornád, erdei fenyő (Andrássy és Farkas 1988). Nagy és munkatársai (1998) kajszi ültetvényekben vizsgálták, Jenser (1985) leggyakrabban őszibarack gyökérzónájában azonosította a fajt.

A szőlőszívó tűfonálféreg (*Xiphinema index*) Thorne és Allen, 1950 az egész Földön elterjed, kozmopolita faj. Európában, Bulgáriában Thorne és Allen 1950-ben már megtalálta a *Xiphinema index*et (Mincheva és mtsai. 2008). Svájcban az 1980-as években végzett felmérések során azonosították szőlő és alma ültetvényekben (Klingler és mtsai 1983). Horvátországban a 2001-es vizsgálatok során 61 szőlőtáblában mutatták ki a *Xiphinema* fajok jelenlétét az Isztriai-félsziget borvidékein. A minták 37,7%-ában találtak *Xiphinema* fajt. Az 1950-es évek felmérései alapján a vizsgált szőlőültetvények 8,2%-a volt fertőzött *Xiphinema index* fonálféreg fajjal (Ivezic és mtsai 2002). Hazánk szőlőültetvényeiben először egy balatonarácsi sárga mozaikos vírusbetegséggel fertőzött góc talajában azonosították a *Xiphinema index*et (Lehoczky és Reichart 1968).

A fonálférgekkel történő szabadföldi kísérleti vírusátvitel leírása Hewitt, Raski és Goheen

(1958) nevéhez fűződik. Vizsgálataik során bebizonyosodott, hogy a szőlő fertőzés leromlás vírussal (*Grapevine fanleaf virus*, GFLV) fertőzött szőlőtőkék mellett lévő egészséges tőkék fertőzötté válnak, ha a szőlőtőkék közelében *Xiphinema index* fonálférgek vannak.

A *Xiphinema index* a GFLV mindkét törzsének – sárga mozaik törzs (*Grapevine fanleaf virus-yellow mosaic strain*, GFLV-YM) és az érszalagosodás törzs (*Grapevine fanleaf virus-vein banding strain*, GFLV-VB) – vektora (Webster 1972).

A GFLV a szőlő világszerte egyik legsúlyosabb vírusbetegsége. Jelentős termésveszteséget okoz, csökkenti a termés minőségét valamint a növény élettartamát (Andret-Link és mtsai 2004). Vektorszerepe miatt a *Xiphinema index* összehasonlíthatatlanul nagyobb kárt okoz, mint a gyökerek közvetlen szívogatásával (Lehoczky és Reichart 1968). A vírusfertőzött tőkék lombozatán különböző levél deformációk és klorotikus foltok jelennek meg (Cseh és mtsai 2008). A fertőzött növény gyökércsúcsai elhalnak és nagy mennyiségű oldalgyökér képződik (Szőke 1996). Vanek és munkatársai. által végzett kísérletek újabb bizonyítékokat szolgáltattak arra, hogy a *Xiphinema index* a szőlő sárga mozaik vírusának is vektora (Vanek és mtsai 1972). Elsőszámú gazdanövénye a szőlő és a füge, de ezen kívül tápnövénye a szeder, a szamóca, az alma, a dió, az őszibarack, a cseresznye, a körte, a narancs, a bükk, a nyár valamint a fenyőfélék (Andrássy és Farkas 1988).

A hazai ültetvények fonálféregfertőzöttségéről viszonylag kevés adat áll rendelkezésre. Egy, 1998-ban indult felmérés előzetes eredményei alapján a vizsgált területeken a *Xiphinema* genuson belül a *X. vuittenezi*, a *X. pachtaicum*, a *X. simile* és a *X. brevicollum* előfordulását mutatták ki. Szőlőültetvényben 38 mintából 25-ből mutatták ki a *X. vuittenezit*, valamint a *X. simile*, a *X. brevicollum* és a *X. pachtaicum* fajokat 2–2 mintában találták meg (Répási és mtsai. 2006).

Anyag és módszer

Felmérésünket 2009-ben és 2010-ben végeztük magyarországi szőlőültetvényekben. A vizsgált időszakban a talajmintákat május-június és szeptember-október hónapokban gyűjtöttük be. A felmérés során hazánk 7 borvidékének (Tokaj-hegyaljai, Egri, Mátraaljai, Tolnai, Mecsekaljai, Villányi, Balatonmelléki) 12 településéről (Tokaj, Tarcal, Szomolya, Bogács, Noszvaj, Eger, Gyöngyöstarján, Izmény, Görögszó, Kismórágy, Villány, Nagyrada) 97 db mintát gyűjtöttünk.

Munkánk során párhuzamosan vizsgáltuk az ültetvények talajának fonálféregfertőzöttségét, valamint a növények vírusfertőzöttségét. A szőlőtőkék mellől történő talajmintavétellel egy időben sor került levélminták gyűjtésére is a későbbi virológiai vizsgálatokhoz. A mintagyűjtés során feljegyeztük a szőlő fajtáját, az ültetvény korát és a talaj típusát. A szőlőnövények gyökérzónájából, kb. 40–50 cm mélységig gyűjtöttünk mintánként 1–1,5 kg talajt, amit feldolgozásig hűtőszekrényben tároltunk.

A fonálférgek kinyerése céljából szitás, illetve tölcséres futtatást alkalmaztunk. A szitás futtatás során minden esetben keverés után 500 g talajt mértünk be a mintákból. A tölcséres futtatás során az ún. Baermann-féle módszerrel nyertük ki az állatokat a mintákból (Jávor 1974).

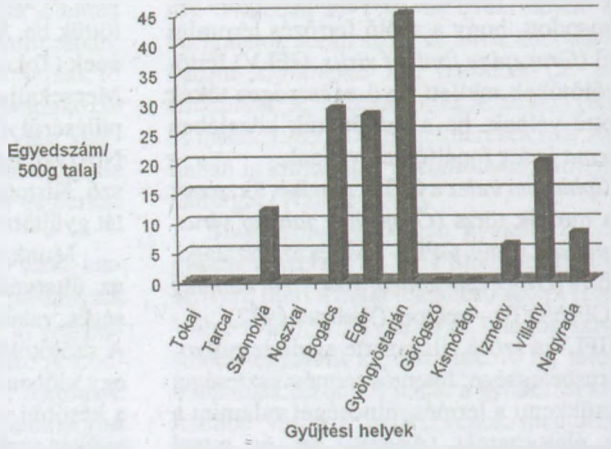
A szitás futtatást két eltérő módon alkalmaztuk. Az első esetben (az ún. Cobb- módszerrel) 4 különböző lyukbőségű szitát használtunk (1000, 500, 180 és 100 µm), majd az átmosott talajmintát 12–24 óráig futtattuk kb. 80–90 µm lyukbőségű szitában áztatva (s'Jacob és Van Bezooijen 1984). A második esetben (Flegg 1967) az 1000 µm-es szita használata után a talajmintát háromszor a 180 µ lyukátmérőjű szitán mostuk át, majd a mintát kb. 80–90 µm lyukbőségű szitába gyűjtöttük össze, így gyorsabban (1–2 óra) és még nagyobb egyedszámban futtattuk a célcsoportba tartozó fonálférgeket.

A nematódákat 3–4%-os forró formalinnal elöltük, aminek hatására a vizsgált *Xiphinema* és *Longidorus* fajok jellegzetes „C" formát vesznek fel. Ezek után faji szinten meghatároztuk a fonálférgeket (Jávor 1974).

Eredmények

A vizsgált hazai szőlőültetvényekből gyűjtött 97 talajmintából 42 esetben (40,7%) azono-

sítottuk a *Xiphinema* genus valamely faját. A fertőzött hazai mintaterületek felsorolásszerűen a következők voltak: Szomolya, Bogács, Eger, Gyöngyöstarján, Izmény, Villány, Nagyrada. A *X. vuittenezi*-t az általunk vett minták egyharmadában találtuk meg. A 97 talajmintából 37 esetben (35,9%) azonosítottuk ezt a fajt. A *X. index* fonálféreg 5 esetben (4,9%) volt jelen a mintákban. A vizsgált területekről elmondható hogy a Villányi, Mecsekaljai és Tolnai borvidék szőlőültetvényeiben megtaláltuk a *X. vuittenezi*t, de csak kis egyedsűrűségben. A Balatonmelléki borvidék vizsgált talajaiban szintén a *X. vuittenezi* fonálféreg fajt azonosítottuk, nagyobb példányszámban, mint az előbb említett területeken. A Mátraaljai és az Egri borvidék szőlőültetvényeiből nyertük ki a legnagyobb egyedsűrűségben a *X. vuittenezi* fonálféreg fajt a vizsgált területek közül. Emellett a Mátraaljai és az Egri borvidékről *X. index*et azonosítottuk a begyűjtött talajmintákból. Az utóbbi faj itteni előfordulása az eddigi szakirodalomból nem ismert. A Tokaj-Hegyaljai borvidék vizsgált ültetvényeiből nem sikerült vírusvektor fonálféreg fajt kimutatnunk *(1. ábra)*.



1. ábra. A vizsgált szőlőültetvények *Xiphinema spp.*-vel fertőzött területei, egyedszám/500 g talajra vonatkoztatva

1. táblázat

A két kinyerési módszer eredményei egyedszám/500g talajra vonatkoztatva

Gyűjtési helyek	Szőlő fajtája	Szitás futtatás	Tölcséres futtatás	*Xiphinema spp.*
Tokaj	Hárslevelű	0	0	
Tarcal	Furmint	0	0	
Szomolya	Turán	8	4	*X. vuittenezi*
Noszvaj	Olaszrizling	0	0	
Bogács	Olaszrizling	20	9	*X. vuittenezi, X. index*
Eger	Kékfrankos	21	7	*X. vuittenezi*
Gyöngyöstarján	Rizlingszilváni	35	10	*X. vuittenezi, X. index*
Görögszó	Nosztori rizling	0	0	
Kismórágy	Kékfrankos	0	0	
Izmény	Rajnai rizling	6	0	*X. vuittenezi*
Villány	Kékfrankos	20	0	*X. vuittenezi*
Nagyrada	Szürkebarát	8	0	*X. vuittenezi*

A fonálférgek kinyerése céljából alkalmazott tölcséres és szitás módszer közül a szitasorozatos módszerek hatékonyabbak voltak, mint a Baermann-féle tölcséres futtatás. Az utóbbi módszerrel egyes esetekben nem sikerült kinyerni a célcsoportba tartozó állatot, míg a szitasorozat alkalmazása során ez a minta is pozitív volt *(1. táblázat)*.

Megvitatás

Az eddig vizsgált szőlőültetvények felmérései során izolált

fonálféreg fajok elterjedtsége, több ponton eltérést mutat a korábban leközölt hazai adatokhoz képest. A *X. vuittenezi* a genus egyik leggyakoribb faja Magyarországon. Mintáinkból mi is főleg e faj elterjedtségét tudtuk dokumentálni, azonban a korábbiaknál kisebb arányban, illetve sűrűségben. A Jenser és Simon (1980) által vizsgált gyümölcsösök 1000 ml talajában ugyanis átlagosan 300–400 egyedet számoltak, aminek az általunk kapott értékek alatta maradtak. Későbbi felmérések során pedig a begyűjtött minták 65%-a volt fertőzött *X. vuittenezi*vel (Répási és mtsai 2006). Az általunk szőlőről vett minták ennél kisebb (35,9%) fertőzöttséget mutattak. Eddigi eredményeink alapján magyarországi szőlőültetvényekben előforduló tűfonálférgekre nézve újnak tekintjük a *X. index* előfordulását (5 mintában) hazánk olyan területeiről, ahonnan eddig még nem volt ismert (Gyöngyöstarján, Bogács). *A X. vuittenezi* az elmúlt évtizedekben is igen elterjedt fajnak számított Magyarországon (Jenser 1985), amit az általunk végzett felmérések is alátámasztanak. A hazánkban gyakorinak számító (Andrássy és Farkas 1988) *X. diversicaudatum* az általunk vett mintákban való hiánya, valamint a *X. index* sporadikus előfordulásának okai lehetnek egyes abiotikus környezeti tényezők. A fentiek tisztázására, illetve a kapott kép árnyalására, a vizsgálatok folytatása ad majd választ.

A kutatásokat az OTKA (K67658 sz.) kutatásfejlesztési pályázat támogatta.

IRODALOM

Andrássy I. és **Farkas K.** (1988): Kertészeti növények fonálféreg kártevői- Agronematológiai kézikönyv. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, 81–341.

Andret-Link, P., Valat, L., Demangeat, G., Vigne, E., Fuchs, M., Laporte, C., Ritzenthaler, C., Laval, V., Pfeiffer, P. and **Stussi-Garaud, C.** (2004): Grapevine fanleaf virus: still a major threat to the grapevine industry [Vitis vinifera L.]. Journal of Plant Pathology, 86: 183–195.

Choleva, B., Kataln-Gateva, S. and **Tsenkova, M. K.** (1980): The Nematodes of family *Criconematidae* Taylor, 1936 (Nematoda Rudolphi, 1808) and family *Longidoridae* Thorne, 1935, on *Rosa damascena* Mill. in Bulgaria. Acta Zoologica Bulgarica, 14: 64–69.

Cohn, E. and **Orion, D.** (1970): The pathological effect of representative *Xiphinema* and *Longidorus* species on selected host plants. Nematologica, 16: 423–428.

Coiro, M. I., Lamberti, F., Sabová, M., Sasanelli, N., Agostinelli, A. and **Valocká, B.** (2000): The life cycle of *Xiphinema vuittenezi* (Nematoda) from Slovakia. Nematol.Medit., 28: 27–30.

Cseh, E., Lázár, J., Takács, A., Kazinczi, G. és **Gáborjányi R.** (2008): A szőlő Magyarországon előforduló és várhatóan megjelenő vírusos betegségeinek és kórokozóinak áttekintése. Növényvédelem, 44: 535–544.

Ebernová, M. (1975): Ectoparasitic eelworms of the *Xiphinema* Cobb in the orchards of the C.S.R. Sbornik U.V.T.I.-Zahradnictvi (Praha), 2: 79–86.

Elekes, A. és **Vályi, I.** (1980): A szőlő nematológiai vizsgálata. Növényvédelem, 16: 49–57.

Flegg, J. J. M. (1967): Extraction of *Xiphinema* and *Longidorus* species from soil by a modification of Cobb's decanting and sieving technique. Ann. Appl. Biol., 60: 429–437.

Hewitt, W. B., Raski, D. J. and **Goheen, A. C.** (1958): Phytopathology, 48: 586–595.

Horváth J. (1972): Növényvírusok, vektorok, vírusátvitel. Akadémiai Kiadó, Budapest. 237–330.

Horváth J. (1999): Növényvirológia. Egyetemi jegyzet, Keszthely, 74–77.

Ibrahim, IKA., Mokbel, AA., and **Handoo, ZA.** (2010): Current status of phytoparasitic nematodes and their host plants is Egypt. Nematropica, 40: 239–262.

Ivezic, M., Raspudic, E., Lamberti, F. and **Pribetic, D. J.** (2002): *Xiphinema* spp. in vineyards of Istra Peninsula in Croatia. Helminhologia, 39: 19–120.

Jávor I. (1974): Kis nematológia. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest

Jenser G. (1985): Magyarországi gyümölcsösökben előforduló *Xipinema* (*Nematoda: Longidoridae*) fajok. Növényvédelem, 20: 289–292.

Jenser, G. és **Simon, I.** (1980): A *Xiphinema vuittenezi* Luc, Lima, Weiscer, Flegg fitopatogenitásának vizsgálata gyümölcsfák gyökerén. Növényvédelem, 16: 14–17.

Klingler, J., Guentzel, O. and **Kunz, P.** (1983): *Xiphinema* and *Longidorus* nematoda species on the Swiss plateau. Vierteljahrsschrift der Naturforschenden Gesellschaft in Zuerich, 128: 89–114.

Lamberti, F., Iovev, T., Choleva, B., Brown, D. J. F., Agostinelli, A. and **Radicci, V.** (1997): Morphometric variation and juvenile stages of some Longodorid nematodes from Bulgaria with comments on the number of juvenile stages *Longidorus africanus*, *L. closelongatus* and *Xiphinema santos*. Nematol. Medit., 25: 213–237.

Lehoczky J. és **Reichart G.** (1968): A szőlő növényvédelme. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, 114–115.

Liskova, M.(1995): Nematodes-virus vectors in the rhizosphere of fruit-trees and soft fruits in Slovakia. Helminthologia, 32: 43–48.

Mincheva, Y., Lazarova, S. and **Peneva, V.** (2008): *Xiphinema pirinense* n sp. (Nematoda: Dorylaimida: Longidoridae), a new species from Bulgaria with a digitate tail. Systematic Parasitology, 70: 215–222.

Nagy, P., Bakonyi, G. and **Jenser, G.** (1998): Observations on the vertical distribution of *Xiphinema vuittenezi* (Longidoridae, Nematoda) in on apricot orchard in Hungary. Nematol. Medit., 26: 267–270.

Perry, N. R. and **Moens, M.** (2006): Plant Nematology, CABI Head Office, Wallingford, Oxfordshire, UK. 4–166.

Répási V., Nagy P., Coiro, I. M., Agostinelli, A. és **Lamberti, F.** (2006): A Magyarországon előforduló tűfonálféreg (Nematoda, Xiphinema) fajok elterjedési viszonyainak áttekintése újabb vizsgálatok alapján. Növényvédelem, 42: 655–661.

Samota, D., Ivezic, M. and **Raspudic, E.** (1994): Ecology of *Xiphinema vuittenezi* and *Xiphinema pachtaicum* in vineyards of north-east Croatia. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin, 24: 375–381.

s'Jacob, J. and **van Bezooijen, J.** (1984): A manual for practical work in nematology. Department of Nematology, Wageningen Agricultural University, 77.

Szczygiel, A. and **Hasior, H.** (1972): Seasonal variations in populations of plant parasitic nematodes in strawberry plantations. Ekologia Polska, 38: 507–523.

Szőke L. (1996): A szőlő növényvédelme. Mezőgazda Kiadó, Budapest, 145–146.

Vanek G., Sárospataki Gy. és **Lehoczky J.** (1972): Újabb kísérleti bizonyítékok a szőlő sárga-mozaik vírusának átvitelére *Xiphinema index* fonálféreggel. Szőlő- és gyümölcstermesztés. Szőlészeti és Borászati Kutatóintézet Közleményei, 7: 253–260.

Walker G. E. (2004): New Australien record for *Xiphinema vuittenezi* on *Vitis vinifera*. Australasian Plant Pathology, 33: 131–132.

Webster, M. J. (1972): Economic Nematology. Academic Press INC. London LTD, 339–376

PLANT PARASITIC NEMATODES OCCURING IN SOME GRAPEVINE SOLIS IN HUNGARY

Ágnes Daragó[1], E. Cseh[3], P. Nagy[2], A. P. Takács[1], V. Répási[2] and **R. Gáborjányi[1]**
[1]University of Pannonia, Georgicon Faculty of Agriculture, Plant Protection Institute, Keszthely, H-8360 Deák F. Str. 57.agnes.darago@gmail.com
[2]Szent István University, Department of Zoology and Animal Ecology H-2100 Gödöllő, Práter K. Str.
[3]University of Pannonia, Georgicon Faculty of Agriculture, Department of Horticulture, Keszthely, H-8360 Deák F. Str. 16.

A survey was performed in some grapevine plantations of Hungary to detect *Xiphinema* and *Longidorus* infections. During our research, the nematode infection of the soil and the virus infection of the plants were examined. Seven out of 22 wine regions were surveyed in terms of nematode infection in 2009 and 2010.

So far, 97 soil samples were collected from the vineyards of which *Xiphinema vuittenezi* was determined in 37 cases, while *Xiphinema index* was identified in 5 cases. The sampling of vineyards is continued in order to obtain a more detailed picture of Hungarian grapevine soils in terms of infection with longidorid nematodes.

We are grateful to the National Scientific Research Found (OTKA K67658) for financial support.

Keywords: nematode, virus, grapevine

Érkezett: 2011. június 16.

A GLYPHOSATE ALKALMAZÁSÁNAK KÖRNYEZET-EGÉSZSÉGÜGYI PROBLÉMÁI

Darvas Béla, Fejes Ágnes, Mörtl Mária, Bokán Katalin, Bánáti Hajnalka, Fekete Gábor és Székács András

MTA Növényvédelmi Kutatóintézet, Ökotoxikológiai és Környezetanalitikai Osztály, 1022 Budapest, Herman Ottó út 15

A glyphosate napjaink növényvédő szereinek piacvezető hatóanyagai közé tartozik. Ez a helyzet a glyphosate-tűrő GM-növények Európán kívüli terjedésével erősödött. A glyphosate a talajban fémionokkal (Al, Fe, Mn, Zn) komplexet képez, amit a csapadék a mélyebb rétegekbe moshat. Elsődleges bomlásterméke az AMPA, mely mobilisabb a kiindulási anyagnál. Környezeti mintákból való meghatározása problematikus. Ez az oka annak, hogy a legtöbb országban nem szerepelnek a gyakorta kimutatott hatóanyagok között.

A glyphosate-tűrő GM-növények megjelenésével a glyphosatenak a takarmányokban/élelmiszerekben való megjelenésével kell számolni, míg a genetikai eseménytől függően az AMPA és NAG metabolitok is figyelmet érdemelnek. A glyphosate és készítményei (kitüntetetten a POEA formázó szert tartalmazók) mellékhatásairól jelentős szakmai vita folyik. A glyphosate csökkenti bizonyos növények betegségekkel szembeni ellenálló képességét, miközben segíti pl. a Fusarium *fajok gyökereken történő kolonalizációját. Toxikus kétéltűekre. Teratogén-gyanús vegyület kétéltűek és madarak esetében. A glyphosatetartalmú készítmények mutagenitása és karcinogenitása viták kereszttüzében áll. Hormonmoduláns, amiben a formázóanyag (POEA) segíti a glyphosate hatását. Egyes gyomfajokból hosszabb használat után glyphosatetűrő (GR) népességek szelektálódnak ki. Ma 21 fajt tartunk nyilván közöttük a parlagfű* (Ambrosia artemisiifolia) *és a fenyércirok* (Sorghum halepense) *mellett* Amaranthus, Conyza *és* Lolium *fajok GR népességeit.*

Kulcsszavak: glyphosate, AMPA, glyphosate-toleráns növény, mellékhatások, hormon moduláns, mutagén, teratogén

A *glyphosate* gyomirtó hatását Baird és munkatársai (1971) írták le. A US 3799758 számú szabadalom – amelyet számos követett – 1971-ben John Franz (Monsanto) nevéhez fűződik. A hetvenes évek közepén történő bevezetése után a *glyphosate* gyomirtók a kilencvenes évek közepére az eladási statisztikák élére kerültek. Ma a világon legjobban fogyó gyomirtószer-hatóanyagnak tartják, s Kína szerepe ebben a helyzetben igen jelentőssé vált. Ezt, az aminosav-származék gyomirtók csoportjába tartozó, totális hatóanyagot eredetileg szántóföldi kultúrák vetés előtti (preemergens) gyomirtására, valamint csemetekertek és ruderális területek gyommentesítésére használták. Az eredeti szabadalom lejárta után (2000) széles körű generikus forgalmazás (nálunk Agan, AgroChemie, Calliope, Cheminova, Pinus, Sinon) következett be, de a hatóanyag ma is a Monsanto egyik vezető terméke (a nemzetközileg ismert főbb gyártók még: Dow, Syngenta, NuFarm). A géntechnológiai úton módosított (GM) növények eddig legfontosabb gazdasági csoportját éppen erre a hatóanyagra tették tűrőképessé, ami jelentősen bővítette (lásd posztemergens felhasználás) a hatóanyag lehetőségeit (Duke és Powles 2008).

A *glyphosate* a növényekben lezajló sikiminsav-anyagcsereutat gátolja. A *glyphosate* – amely maga is aminosav (glicin) származéka –

megakadályozza a központi intermedier kialakulását katalizáló enzim, az 5-enol-piruvil-sikiminsav-3-foszfát-szintáz (*EPSPS*) működését oly módon, hogy a foszfoenol-piruvát analógjaként annak helyére kötődik az enzim szubsztrátumaként. Ez az anyagcsereút-gátlás a triptofán, a fenil-alanin és a tirozin (ilyen módon végeredményben a fehérjék) szintézisét gátolja. Ezen esszenciális aminosavak szintézisének hiánya rövid időn belül a növény pusztulását okozza. Mivel az összes magasabb rendű növényben megtalálható ez a metabolikus út, ezért a hatás totális. A *glyphosate* hatóanyag felszívódó (szisztemikus) gyomirtó. Mivel növényekben a levelekre kijuttatva képes a gyökér felé vándorolni, így a viszonylag ritkább bazipetálisan transzlokálódó hatóanyagok közé soroljuk. Vízoldhatóságának fokozása céljából a készítményekben gyakran ammónium, izopropil-amin, nátrium, illetve trimetil-szulfónium (trimesium) só formájában hozzák forgalomba (Székács 2006).

A *glyphosate-tűrő* kultúrnövények és szermaradék-problémájuk

A totális hatású *glyphosate* pre-emergens alkalmazása után a gyomok többsége elpusztul, elszárad, vadállatok útján fogyasztásra nem kerül. Ezen a helyzeten változtatott lényegesen a *glyphosate*tűrő növények megjelenése, ami a posztemergens kezelések engedélyezése miatt (összes kezelés: 2–3) a környezeti terhelést fokozza. Közülük a Monsanto fajtacsoportjai a legismertebbek, amelyek Roundup Ready (RR) néven váltak ismertté, utalva arra, hogy ezeknek a növényfajtáknak az esetében a *glyphosate* hatóanyagú, Monsanto által gyártott Roundup a növények kelése után is alkalmazható. A Bayer Gly-Tol néven, a Pioneer Optimum GAT néven jegyzi fajtaköreit, a Syngenta pedig Agrisure GT megnevezéssel. A *glyphosate*-tűrő fajták fejlesztése során a növényi géntechnológusok kétféle stratégiát alkalmaztak: vagy a célenzim (*epsps*) egy mutáns, kevésbé érzékeny génjét használták *(cp4 epsps, mepsps, 2mepsps)*, vagy a *glyphosate*-ot metabolizáló gént *(gat, gox)* vittek be *(1. táblázat)*. Ennek következménye, hogy az első esetben a túlélő növényekben a szisztemikus típusú *glyphosate* (RR és Agrisure GT fajtakörök), a második esetben az *N*-acetil-*glyphosate (NAG)* (Optimum GAT fajtakör), illetve *AMPA* (RR és Agrisure GT fajtakörök, függetlenül attól, hogy *epsps* vagy *gox* alapúak) növényekben való kimutathatósága felértékelődött, mert a takarmányokban/élelmiszerekben nem ismert szermaradékokra kell számítanunk. Arregui és munkatársai (2004) 1997–1999 között végzett argentínai vizsgálataik alapján arról számoltak be, hogy egy tenyészidőszakban 23 *glyphosate*-kezelés alkalmazása után a betakarítás időszakában a RR-szója levelében és szárában 0,35,2 mg *glyphosate*/kg és 0,35,7 mg *AMPA*/kg, míg a termésben 0,11,8 mg *glyphosate*/kg és 0,40,9 mg *AMPA*/kg értékek mérhetők.

A *glyphosate* és bomlástermékei

A többi hatóanyaggal összehasonlítva a *glyphosate*-nak a talajban egyedi sajátságai vannak. A növényvédő szerek általában a talajok szervesanyag-tartalmához kötődnek, mivel legtöbbjük molekuláiban apoláris csoportok dominálnak (Borggaard és Gimsing 2008). A *glyphosate* meghatározása viszont a mai napig kihívást jelent a vegyészek számára, köszönhetően a vegyület különleges amfoter (mind savas, mind bázikus) jellegének. Az alapvegyület (*N*-foszfonometil-glicin) és bomlástermék (*AMPA*) szokásostól eltérő kémiai viselkedésének eredménye, hogy rutinszerű környezeti vizsgálatokkal nem mutathatók ki. A meghatározás problematikus voltának tulajdonítható az is, hogy a *glyphosate* eddig jobbára kimaradt a magyarországi környezeti állapotfelmérési vizsgálatokból, illetve előfordulását elhanyagolhatónak tartottuk. Viszont például norvég felmérések a *glyphosate* és az *AMPA* gyakori előfordulásáról számoltak be felszíni vízmintákban. Az 1995–1999 között gyűjtött 540 felszíni vízminta 54%-ában mutattak ki *glyphosate*-ot vagy *AMPA*-t. A maximális mennyiség 0,93 µg/l (átlag 0,13 µg/l), *AMPA*-ból 0,2 µg/l (átlag 0,06 µg/l) volt (Ludvigsen és Lode 2001a, 2001b). Ez a monitorozás tehát a *glyphosate* és bomlástermékének széles körű, kis mennyiségben való

1. táblázat

Az EU engedélyezési rendszerében eljárás alatt lévő glyphosate-tűrő fajtacsoportok

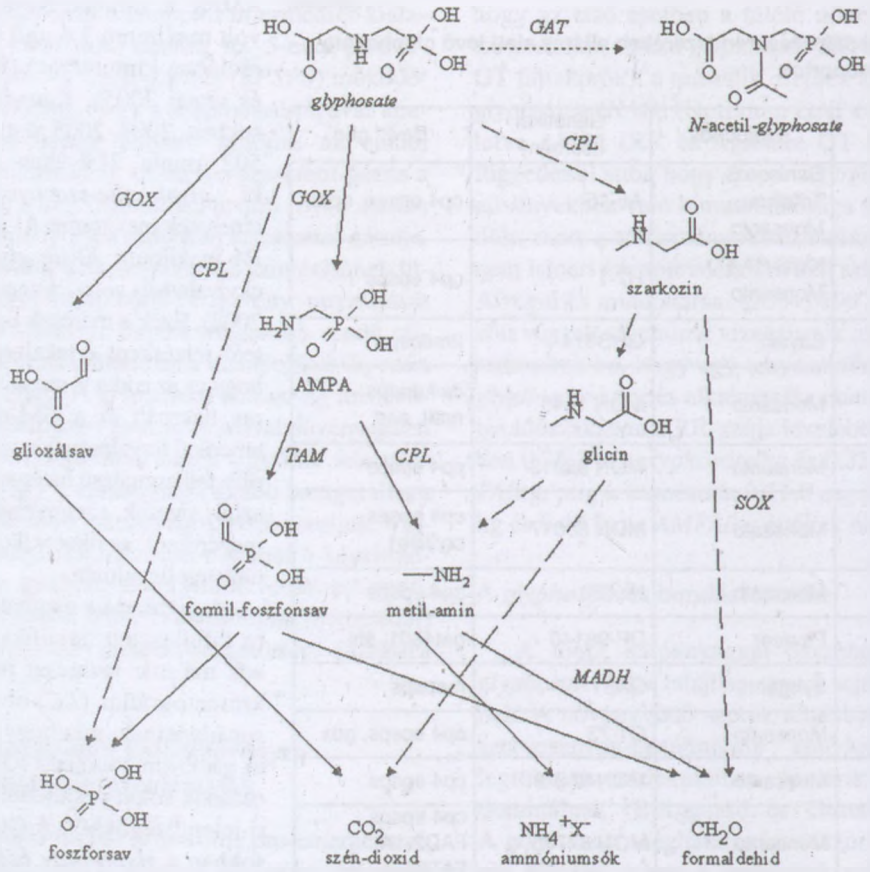
Növény	Tulajdonos	Genetikai esemény	Bevitt gén
cukorrépa	Danisco S, Trifolium, Monsanto	A5-15	cp4 epsps, nptII,
cukorrépa	KWS SAAT, Monsanto	H7-1	cp4 epsps
gyapot	Bayer	GHB614	2mepsps
gyapot	Monsanto	MON 1445	cp4 epsps, nptII, aad
gyapot	Monsanto	MON 88913	cp4 epsps
kukorica	Monsanto	MON 88017	cp4 epsps, cry3Bb1
kukorica	Monsanto	NK603	cp4 epsps
kukorica	Pioneer	DP-98140	gat4601, als
kukorica	Syngenta	GA21	mepsps
olajrepce	Monsanto	GT 73	cp4 epsps, gox
szója	Monsanto	MON40-3-2	cp4 epsps
szója	Monsanto	MON 87705	cp4 epsps, FAD2-1A, FATB1-A
szója	Monsanto	MON 89788	cp4 epsps
szója	Pioneer	DP-356043	gat4601

Megjegyzések: *aad* – *Escherchia coli* eredetű, aminoglikozid-antibotikumok (streptomycin- és spectinomycin) elleni rezisztenciát hordozó gén; *als* – kukorica eredetű, *ALS*-gátló herbicidek (pl. *chlorimuron* és *thifensulfuron*) tűrését fokozó *zm-hra* gén; *cry3Bb1* – *Bacillus thuringiensis* eredetű, Cry3-toxint termelő gén; *FAD2-1A* – szója eredetű, az egyszeresen telített olajsavak arányát növelő gén; *FATB1-A* – szója eredetű, a telített zsírsavak arányát csökkentő gén; *cp4 epsps* – *Agrobacterium* sp. eredetű *epsps*; *mepsps* – kukorica eredetű *epsps*; *2mepsps* – kétszeresen mutált mexikói fekete, édes kukoricából származó gén; *gat4601* – *Bacillus lichiformis* eredetű, *glyphosate*-acetiltranszferáz gén; *gox* – *Ochrobactrum anthropi* eredetű, *glyphosate*-oxidáz gén; *nptII* – *Escherichia coli* K12 eredetű, neomycin- és kanamycin-rezisztenciát (neomycin-foszfotranszferáz) hordozó gén

előfordulását demonstrálta. 2002-ben az Egyesült Államok középnyugati felszíni vizeiben a minták 3540%-ában mértek *glyphosate*-ot maximum 8,7 µg/l mennyiségben, miközben az *AMPA* a minták 53–83%-ából volt maximum 3,6 µg/l koncentrációban kimutatható (Battaglin és mtsai 2005). Kanadai mérésekben, 2004–2005 alatt vizsgált 502 minta 21%-ában mutattak ki *glyphosate*-szennyezettséget, amelynek maximuma 41 µg/l (*AMPA* maximum 30 µg *glyphosate*-ekvivalens/l) volt (Struger és mtsai 2008). Ezek a mérések figyelmeztető jelzésként értékelhetők arra, hogy ez az eddig is rendkívül gyakran használt és a GM-növények amerikai terjedésével egyre gyakoribb felhasználású hatóanyag a felszíni vizeink szennyezése miatt megérdemli az ökotoxikológia kitüntetett figyelmét.

A *glyphosate* meghatározására kifejlesztett analitikai eljárások ma már javarészt folyadékkromatográfiás (*LC*) elválasztáson alapulnak, minthogy a régebbi gázkromatográfiás (*GC*) megoldások sokat veszítettek egykori jelentőségükből. A GC eljárásokban a *glyphosate* és fő bomlásterméke, az *AMPA* meghatározásának legnagyobb akadályát e vegyületek poláros és amfoter jellege jelenti, ami miatt a műszeres analitikai meghatározást megelőzően igen hosszadalmas minta-előkészítési lépésekre van szükség.

A legkorábbi hatósági kimutatásra akkreditált módszer (US FDA, 1977) vizes kivonást, anion-, majd kationcserés feldolgozást, trifluor-ecetsav és trifluor-ecetsav-anhidrid keverékével végzett *N*-acetilezéses, valamint mind az ecetsav-, mind a foszfonsavrész metilezéses származékképzését alkalmazta, s csak ezután kerülhetett sor a foszfor szelektív detektorral történő GC meghatározásra. A módszerrel növényi mintákra elérhető



1. ábra. A *glyphosate* és lehetséges sorsa egyes lebontó enzimek közreműködésével. Oxidatív lebontás *(folytonos nyilak)*, nem hidrolitikus lebontás *(szaggatott nyilak)*, inaktiválás növényben *(pontozott nyíl)*. Jelmagyarázat az átalakító enzimek (dőlt betűvel) neveihez – GOX: *glyphosate* oxidoreduktáz, GAT: *glyphosate* N-acetiltranszferáz, CPL: C–P-liáz, SOX: szarkozin oxidáz, TAM: transzaminász, MADH: metil-amin dehidrogenáz

visszanyerések 70% felettieknek, a kimutatási határ 0,05 mg/kg értékűnek bizonyult. Szintén vizes kivonást, diklór-metán/kloroform eleggyel történő mosást, majd kationcserélő gyantán történő tisztítást, trifluor-acetátos és heptafluor-butil-észteres származékképzést követő, GC meghatározást és tömegspektrometriás (MS) detektálást alkalmaz Alferness és Iwata (1994) módszere, s hasonló GC/MS/MS módszert is kidolgoztak (Royer és mtsai 2000). Az újabb LC módszerek egyszerűbb minta-előkészítéssel, gyorsabb és olcsóbb megoldást nyújtanak a *glyphosate* műszeres analitikai meghatározására, de ezek egy része sem nélkülözheti a származékképzést, ami a megfelelően alacsony kimutatási határ eléréséhez szükséges. A minden esetben bonyolult, akár többlépéses származékképzést igénylő GC módszerek ma már legfeljebb csak érzékeny kimutatási jellemzőikkel maradnak versenyben. A hasonló analitikai paramétereket eredményező, validált LC eljárások (Cowell és mtsai 1986, DFG 1992) kloroformos és sósavas mosást, ioncserélő gyantán történő tisztítást, majd semlegesítés utáni HPLC meghatározást alkalmazott, az elválasztást követő o-ftál-dialdehid/ merkapto-etanolos származékképzéssel és fluoreszcenciás detektálással. A módszerben származékképzőként ninhidrin

vagy 9-fluorenil-metil-klór-formiát (Wigfield és Lanquette 1991; Nedelkoska és Low 2004) is alkalmazható. Az utóbbi évtized fejlesztéseinek köszönhető, hogy az LC módszerek kimutatási határait is sikerült az egyre szigorodó környezeti és egészségügyi határértékekhez igazodva leszorítani (Vreeken 1998, Grey és mtsai 2001, Lee és mtsai 2002a, Nedelkoska és Low 2004, Ibáñez és mtsai 2006, Laitinen és mtsai 2006, Hanke és mtsai 2008, Popp és mtsai 2008). A legújabb LC-MS-ESI módszerekkel könnyedén teljesíthetők az EU ivóvizek növényvédőszer-maradékaira vonatkozó 0,1 µg/l határértékű előírásai, de az eljárások drága műszert igényelnek. A *glyphosate* kimutatására alkalmazott innovatív analitikai módszerek közül kiemelhető a kapilláris elektroforézis technika, melynek kezdeti hátránya a viszonylag magas kimutatási határ volt, valamint az, hogy szinte minden esetben származékképzést vagy külső fluoreszcens jelzést igényelt (Cikalo és mtsai 1996, You és mtsai 2003, Kodama és mtsai 2008), melyre végül részint a csatolt tömegspektrometria (Goodwin és mtsai 2003) és a mikroextrakciós technikák (Hsu és Whang 2009, See és mtsai 2010) hoztak megoldást. Hasonlóképpen kiterjedten alkalmazták az immunanalitikai technikák közül az enzimjelzéses *immunoassay* (ELISA) módszereket. A kilencvenes évek elején még úgy tartottuk, a *glyphosate* és a hasonló amfoter szerkezetű, vízoldható kismolekulák ellen – azok csekély immunogenitása miatt – nem nyerhető jó antitest (Hammock és mtsai 1990), egy évtizedre rá sikerült megoldani az immunizálás nehézségeit, és érzékeny ELISA módszert kifejleszteni (Clegg és mtsai 1999, Lee és mtsai 2002b, Rubio és mtsai 2003), mely a gyakorlatban is jól alkalmazhatónak bizonyult *glyphosate* kimutatására (Mörtl és mtsai 2010, Kantiani és mtsai 2011). Az *immunoassay* rendszer alapján immunszenzor kifejlesztéséről is beszámoltak (González-Martínez és mtsai 2005), s a szenzortechnikában antitestfehérje helyett molekuláris imprintpolimert is alkalmaztak (Zhao és mtsai 2011).

A *glyphosate* lebomlása döntően két irányban zajlik: dekarboxilálással vagy defoszforilálódással, így AMPA vagy glicin bomlási közti termékeket eredményezve *(1. ábra)*. Előbbi utat *glyphosate* oxidoreduktáz, utóbbit a szén–foszfor kötést hasító C–P-liáz enzimek katalizálják. A két út a környezeti közegben (talajban, vízben) és a növényekben zajló lebontási folyamatokban egyaránt jelen van. A *glyphosate* környezeti lebomlásában különbségek figyelhetőek meg a laboratóriumban, illetve a szabadföldön mért DT_{50} értékek között. A hatóanyag lebomlását laboratóriumi körülmények között kedvezőnek találták; a DT_{50} érték talajban 47 nap, vízben 91 nap. A molekula féléletideje szabadföldi körülmények között, a talaj összetételétől függően néhány naptól akár néhány hónapig vagy évig is terjedhet. Ennek oka egyrészt a talaj mátrixanyagához való kötődés, amelyben a *glyphosate* a talajszemcséken megkötődve fémionokkal (Al, Fe, Mn, Zn) komplexet képez (Vereecken 2005). Másrészt pedig a *glyphosate* lebomlásának mértéke nagyban függ a talaj mikrobiális aktivitásától, amelyben a *Pseudomonas*-fajok szerepét emelik ki (Borggaard és Gimsing 2008). A talaj mikrobiális élete viszont számos egyéb talajökológiai tényező függvénye, többek között a talajhőmérsékleté, a levegő- és vízellátottságé, illetve más részben még feltáratlan körülményeké, amely igen változékony feltételeket teremtenek a *glyphosate* lebomlásához (Stenrød és mtsai 2005, 2006). Laitinen és munkatársai (2006, 2008) azt találták, hogy a talajok foszfortartalma befolyásolja a *glyphosate* környezeti viselkedését, azaz megkötődését a talajszemcséken, illetve a felszíni vizekben való megjelenését. Weaver és munkatársai (2007) szerint a mikrobiális közösségre gyakorolt hatás rövid és átmeneti, továbbá Mississippi állam talajaiban a *glyphosate* lebomlási jellemzői nem változnak lényegesen a mélyebb talajrétegekben és a talajművelési módok szerint (Zablotowicz és mtsai 2009). Ehhez képest rendkívül eltérő eredményeket közöltek finn környezetkémikusok, akik csekély foszfortartalmú észak-európai homoktalajokban az alkalmazás után 20 hónappal a kijutatott mennyiség *glyphosate* esetében 19%-át, *AMPA* esetében 48%-át mérték (Laitinen és mtsai 2009). Ez már érthetővé teszi a skandináv környezetben kimutatott felszínivíz-

szennyezettséget. A talajok foszfortartalma elősegíti a *glyphosate* lebomlását (Borggaard és Gimsing 2008).

A *glyphosate* egyes sói kiemelkedő, az önmagában is jelentős vizoldhatóságú (11,6 g/l 25 °C-on) szabad foszfonsav alakú hatóanyaghoz képest egy-két nagyságrenddel nagyobb vízoldékonyságuk (a vízoldhatósági sorrend: trimetil-szulfóniumsó izopropil-ammóniumsó > káliumsó > nátriumsó > ammóniumsó > *glyphosate*), így a hatóanyag az esővízzel még a talaj mélyebb rétegeibe is eljuthat, annak ellenére, hogy bizonyos körülmények között gyorsan bomlik, és erős a komplexképző hatása (Vereecken 2005). Elsődleges bomlástermékeként növényben, vízben és talajban is az *AMPA* (amino-metil-foszfonsav), mely talajban sokkal mobilisabb, mint a kiindulási hatóanyag (Duke és Powles 2008).

Glyphosate és a *Fusarium*-fajok

Sanogo és munkatársai (2000) vették észre, hogy *glyphosate* alkalmazása után a szójában megnőtt a *Fusarium solani* f. sp. *glycines* által okozott pusztulások aránya. Kremer és munkatársai (2005) vizsgálataikban a *glyphosate* alkalmazása után a *glyphosate*-tűrő szója gyökérváladékának stimuláló hatását írták le szója gyökeréről izolált *Fusarium* sp. törzseinek növekedésére. A kezelések koncentrációfüggően növelték a gomba micéliumtömegét. Powel és Swanton (2008) szabadföldi vizsgálataik során nem találták ennek megerősítését. Kremer és Means (2009) szerint a növények gyökeréből talajba kerülő *glyphosate*-ot tápanyagként használják némely gombák, és ez segíti a szaporodásukat. Mindennek a talajok mangántartalmához is köze van, amennyiben az ahhoz való kötődéssel modulálja a *glyphosate* hatását. Tekintve, hogy a *Fusarium*-fajok közül igen sok mikotoxint termelő növényi patogén kerül ki, e fajok arányának növekedése nem tekinthető érdektelen mellékhatásnak. Johal és Huber (2009) igen sok növényi kórokozót (szóján pl. *Corynespora cassicola*, *Sclerotinia sclerotiorum*) sorolnak fel, amelyek virulenciája – szerintük – a *glyphosate*-alkalmazás után növekedik, közöttük több *Fusarium*-fajt is (*F. graminearum*, *F. oxysporum*, *F. solani*). Véleményük szerint a *glyphosate* a mikroelem-anyagcsere zavarain keresztül csökkenti a növények védekező képességét és növeli bizonyos növényi betegségek virulenciáját. Zobiole és munkatársai (2011) megerősítették, hogy a *glyphosate* alkalmazása segíti a *Fusarium*-fajok szójagyökéren való kolonizációját, csökkenti viszont a rhizoszféra fluoreszcens *Pseudomonas* frakcióját, a mangánredukáló baktériumokat, továbbá az indolecetsav-termelő rhizobaktériumokat. Mindennek következménye a gyökér- és növénytömeg csökkenése.

A glyphosate és toxicitása kétéltűeken

A felszíni vizekben megjelenő vegyületek külön figyelmet igényelnek az ökotoxikológia részéről, hiszen olyan közegbe kerülnek, amely a vízi életformák élettere, s amire ivóvízbázisok is épülnek. Az ivóvíz lecserélhetetlen része a napi fogyasztásunknak, s így biztosítja a krónikus kitettséget, melynek következménye a krónikus betegségek lehetősége.

Tsui és Chu (2003) a vízi ökoszisztémákból választott modellfajokon – baktériumokon (*Vibrio fischeri*), mikroalgákon (*Selenastrum capricornutum, Skeletonema costatum*), protozoákon (*Tetrahymena pyriformis, Euplotes vannus*) és rákféléken (*Ceriodaphnia dubia, Acartia tonsa*) – tesztelte a *glyphosate*, annak leggyakoribb formázóanyaga, a polioxietiléna-minok (*POEA*; más néven poletiloxilált faggyúaminok keveréke), valamint a formázott *glyphosate*-készítmény (Roundup) hatását. A vizsgálat legmeglepőbb eredménye, hogy a hatástalannak tartott felületaktív formázóanyagként alkalmazott *POEA* volt a legtoxikusabb összetevő. Talán nem is meglepő, hogy Cox és Surgan (2006) kifogásolják, hogy az Egyesült Államok Környezetvédelmi Ügynöksége (*EPA*) által megkövetelt dokumentációk csak az aktív hatóanyagon való tesztelést írják elő, bár a formázóanyagok között többnek is karakterisztikus biológiai hatása van.

A *glyphosate*-nak a gerinces állatok többségén kedvező akut toxicitási értéke van. Ezek alapján az *EPA* III. toxicitási osztályba sorolta. Az Európai Közösség besorolása alapján

viszont az irritatív (Xi), illetve súlyos szemkárosodást okozó (R41) vegyületekhez került. Meg kell azonban jegyeznünk, hogy a napjainkban megkövetelt toxikológiai dokumentációkban sem a kétéltűeknek, sem a hüllőknek nincs modellfajuk. Talán nem is véletlen, hogy az *atrazine* után (Hayes és mtsai, 2002, 2010) ez a második olyan gyomirtó, amely éppen kétéltű fajokon (ma a Föld legveszélyeztetettebb csoportjának tartják) mutatott kedvezőtlen hatása miatt akad fenn.

Mann és Bidwell (1999) vizsgálta négy ausztrál békafaj *(Crinia insignifera, Heleioporus eyrei, Limnodynastes dorsalis és Litoria moorei)* ebihalait. A Roundup toxicitását és a 48 órás LC_{50} értékeket 312 mg *glyphosate*-ekvivalens/l értéknek találták. A kifejlett békák tűrőképessége sokkal jelentősebb volt. Chen és munkatársai (2004) vetették fel, hogy a táplálékhiány és a víz pH-értéke mint stresszfaktorok befolyásolják a *glyphosate Rana pipiens* békafajra gyakorolt hatását. Relyea (2005) számolt be a *glyphosate* használatával kapcsolatos ebihal-pusztulásokról *(Bufo americanus, Hyla versicolor, Rana sylvatica, R. pipiens, R. clamitans és R. catesbeiana).* A hatást – ami 216 mg *glyphosate*-ekvivalens/l koncentrációnál alakult ki – kapcsolatba hozta az ebihalak ragadozója, a *Notophthalmus viridescens* szalamandra által okozott stresszel. Relyea és Jones (2009) később az előzőekben felsoroltakhoz képest más békafajokat – *Bufo boreas*, *Pseudacris crucifer*, *Rana cascadea*, *R. sylvatica* – is bevontak a vizsgálatokba, és az LC_{50} értéket 0,82 mg *glyphosate*-ekvivalens/l értéknek találták. Négy szalamandrafaj (*Amblystoma gracile*, *A. laterale*, *A. maculatum* és *N. viridescens*) vizsgálatakor ez az érték 2,73,2 mg *glyphosate*-ekvivalens/l volt. Ebben az esetben a *glyphosate* hatóanyag *POEA* felületaktív anyaggal volt formázva. A további vizsgálatokban arra is fény derült, hogy az ebihalak versengésében szerepet játszó stressz (nagyobb sűrűség) növelte a *glyphosate* toxikus hatását (Jones és mtsai 2010). Lajmanovich és munkatársai (2010) *glyphosate*-kezelés után a *Rhinella arenarum* békafajon több enzimrendszer (pl. acetilkolin-észteráz és glutation-*S*-transzferáz) csökkent aktivitására figyeltek fel.

Sparling és munkatársai (2006) vörösfülű ékszerteknős (*Trachemys scripta elegans*) tojásait kezelve csupán magas dózisnál mutattak ki keléscsökkenést.

A *glyphosate* teratogén hatása

Külön figyelmet érdemel a *glyphosate*-tartalmú készítmények teratogenitása, amihez úgyszintén a kétéltű fajokról származnak az első példák. Perkins és munkatársai (2000) azt találták, hogy *Xenopus laevis* békafaj embrióin *(FETAX assay)* a *glyphosate* hatása formulációfüggő. A természetben várható mennyiséghez – ez a legmagasabb alkalmazott dózisnál 2,88 mg *glyphosate*-ekvivalens/l – közel kerül az alkalmazás szempontjából biztonságos határ. Lajmanovich és munkatársai (2005) *Scinax nasicus* ebihalakon vizsgálva egy *glyphosate*-készítményt (Glyfos) azt találták, hogy 24 napos 3 mg/l kitettség után az ebihalak több mint fele torzfejlődési irányt vett. A kezelés az LC_{50} érték körüli koncentrációt jelentette.

Dallegrave és munkatársai (2003) vizsgálataiban patkányokon, a megtermékenyítés utáni 6–15 napon igen nagy, 1000 mg/l koncentrációban való itatásakor a magzatokra toxikusnak találták, és azok csaknem fele csontrendszert érintő torzfejlődéssel jött világra.

A tengeri sün (*Sphaerechinus granularis*) embrióin *glyphosate*-tartalmú készítményeket tesztelve Marc és munkatársai (2004a) a sejtciklus szabályozásának felborulását észlelték. A gátlás a DNS-szintézist érinti az első sejtciklus G2/M fázisában (Marc és mtsai 2004b). Véleményük szerint a gyártásban dolgozók a hatásos koncentráció 500–4000-szeresét lélegzik be. A Roundup készítményhez használt *POEA* jelentős toxicitását írták le tengeri sünön (Marc és mtsai 2005). A nagyon korai DNS-károsodást Bellé és munkatársai (2007) a daganatsejt-keletkezéssel hozzák kapcsolatba, és úgy gondolják, hogy az általuk kidolgozott kísérletes modell alkalmas lehet annak tesztelésére.

Napjainkban a *glyphosate*-tartalmú herbicidek teratogén hatásait kétéltű- *(X. laevis)* és madár- *(Gallus domesticus)* embriókon tesztelték. Szubletális dózisban, közvetlenül beinjekciózva

az idegrendszer embrionális fejlődési szakaszában a rhomboméràk elhelyezkedése és mintázata megváltozott; a velősánc területe csökkent; az anterior-poszterior tengely megrövidült; a cefalikus markerek megjelenése gátolt volt. Emiatt a békaembriók hasonló fenotípusúvá váltak: a törzs megrövidült, a fejméret redukálódott, a szemek nem megfelelően vagy egyáltalán nem fejlődtek ki *(microphthalmia),* emellett egyéb koponyadeformitások jöttek létre a későbbi fejlődési stádiumokban. A magzatburkosok (Amnioták) közé tartozó csirkeembriókon tesztelve, hasonló teratogén hatásokat tapasztaltak. Ezek a fejlődési rendellenességek kapcsolatban állhatnak a retinolsav jelátviteli útvonal károsításával, melynek hatására bizonyos létfontosságú gének *(shh, slug, otx2)* kifejeződésének gátlása következett be. Ezek a gének az embriogenezis során, a neuruláció folyamatában kulcsfontosságú feladatokat töltenek be (Paganelli és mtsai 2010). E cikkel kapcsolatban a Monsanto, Syngenta és Dow képviseletében Saltmiras és munkatársai (2011), majd Mulet (2011) és Palma (2011) a szerkesztőnek írt levelükben kétségbe vonták Paganelli és munkatársai (2010) munkájának néhány állítását, azon az alapon, hogy a gyártók által végeztetett előzetes teratogenitási *GLP* vizsgálatokat több nemzetközi szervezet független szakértői bírálták. Véleményük szerint a szerzők által használt dózisok túl magasak voltak, és az alkalmazás módja (mikroinjekciózás) nem fordul elő a természetben. Carrasco (2011) válaszában annak a véleményének adott hangot, hogy a cégek képviselői figyelmen kívül hagyják azokat a tudományos tényeket, amelyek az *atrazine*, *glyphosate* és *triadimefon* retinolsav-szintézisen keresztüli teratogén hatását írják le. Véleménye szerint a Monsanto 180 kutatási jelentése közül 150 nem nyilvános, vagyis sohasem mutatták be a tudományos nyilvánosságnak. Vizsgálataik során hasonló fenotípusú válaszokhoz jutottak mikroinjekciós technikával, mint a készítmények inkubálásával.

Jayawardena és munkatársai (2010) egy Sri Lankán élő békafaj *(Polpedates cruciger)* ebihalain írtak le 1 ppm alkalmazása mellett közel 60%-os fejlődési rendellenességet.

A *glyphosate* genotoxikus hatása

Növényvédő szerekkel végzett munka, amelyben a *glyphosate* is előfordult, a férfiak kitettségén keresztül is elvezethet terhességi problémákhoz (Savitz és mtsai 1997). Ez a jelenség a Vietnámi Háború veteránjainak dibenzo-dioxinokkal szennyezett, fenoxi-ecetsav hatóanyagú *Agent Orange* gyomirtójával keresztül került először az epidemiológia figyelmébe. Kale és munkatársai (1995) *Drosophila* recesszív letális mutációs tesztben figyeltek fel a Roundup mutagén hatására. Lioi és munkatársai (1998) emelkedő *glyphosate*-mennyiségnél a testvérkromoszóma-kicserélődés (*SCE*) emelkedő arányát írták le emberi limfocitákban. Walsh és munkatársai (2000) egértumorsejteken a Roundup szex-szteroidok képződésében szerepet játszó fehérje (StAR) kifejeződésének gátlását mutatták ki, ami minimálisra csökkentette a koleszterol – pregnenolon – progeszteron átalakítást. Ahogyan a vegyületek mutagén hatásának felmérésekor lenni szokott, több vizsgálat nem találta a *glyphosate* hatóanyagot mutagénnek, így ilyesfajta besorolása sem található az *EPA/IARC* által készített GAP2000 adatbázisában. Cox (2004) dolgozatában viszont a *glyphosate* formázásában használt több anyag krónikus toxicitási profilját ismerteti.

Daruich és munkatársai (2001) vemhes patkányok citoszolikus dehidrogenáz enzimeinek aktivitását vizsgálva a májban, szívben és agyban arra a következtetésre jutottak, hogy a *glyphosate* mind az anya, mind a magzatjai esetében különféle rendellenességeket idéz elő. Benedettia és munkatársai (2004) vizsgálataiban a patkánymájban az amino-transzferázok aktivitása csökkent, ez károsította a hepatocitákat, aminek következtében májszöveti elváltozások léptek fel. McComb és munkatársai (2008) *in vitro* tesztben azt találták, hogy a *glyphosate* hatóanyag a patkánymáj mitokondriumaiban az oxidatív foszforiláció szétkapcsoló szereként hat. Mariana és munkatársai (2009) injektálásos *glyphosate*-kezelés után a vérben, a májban és a herében az oxidatív stressz státusromlására figyeltek fel, ami a reprodukciós toxicitással hozható kapcsolatba.

Prasad és munkatársai (2009) citotoxikus hatást, továbbá kromoszomális rendellenességeket és mikronukleusz-képződést találtak egér csontvelősejteken. Poletta és munkatársai (2009) kajmánok vérében az erythrocitákról a Roundup genotikus hatását írták le, amit DNS-károsítással hoztak összefüggésbe.

De Roos és munkatársai (2003) felmérései szerint a nem-Hodgkin limfóma előfordulásának kockázata növekszik a növényvédő szereket felhasználók körében. Mindezt a *glyphosate*-tartalmú készítményekre is érvényesnek találták. Egy évvel későbbi, az Egyesült Államok kukoricaövezetében csak *glyphosate*-tartalmú készítményekre fókuszálva a legtöbb rosszindulatú betegségre elvégezve az elemzést csak a kóros plazmasejt-szaporodás *(myeloma multiplex, plasmocytoma)* előfordulási gyakoriságának enyhe növekedését tapasztalták (De Roos és mtsai, 2004). A mielóma a rosszindulatú hematológiai betegedések mintegy 10%-át teszi ki. Bár a betegség oka nem ismert, rizikófaktorai az autoimmun betegségek, bizonyos vírusok (*HIV* és *Herpes*), valamint egyes oldószerek gyakori használata. George és munkatársai (2010) egér bőrrák-modellkísérleteik alapján arról számoltak be, hogy a *glyphosate* több speciális fehérje indukciója miatt bőrtumorok promótere lehet.

A *glyphosate*, a POEA hormonmodulációs hatásai

Howe és munkatársai (2004) *Rana pipiens* ebihalak krónikus kitettségét vizsgálva azt találták, hogy a fejlődési rendellenességeken túlmenően azok 15–20%-ának gonádjai abnormális fejlődési irányt vettek és interszexuális karaktereket mutattak. Arbuckle és munkatársai (2001) azt mutatták ki, hogy a vizsgált mezőgazdasági farmon a *glyphosate* alkalmazása növelte a vetélések rizikóját. A *glyphosate*-tal dolgozó munkások és családtagjaik körében mérték a vizeletben a hatóanyag ürülését (Acquavella és mtsai 2004).

Richard és munkatársai (2005) azt találták, hogy a *glyphosate* toxikus a méhlepény JEG3-sejtjeire. A Roundup készítmény a *glyphosate* hatóanyagnál erősebb hatást mutatott. A *glyphosate* gátolta az ösztrogén-bioszintézisben kulcsfontosságú aromatáz enzimet. E hatást igazolta, hogy a hatóanyag *in vitro* tesztben is kapcsolódott a tisztított enzim kötőhelyéhez. A készítményben lévő formázó anyag felerősítette ezt a hatást a mikroszomális frakcióban. Benachour és munkatársai (2007) különböző sejtvonalakon a *glyphosate* és a Roundup Bioforce hatását vizsgálva szintén úgy találták, hogy a *glyphosate* aromatázgátló, és a formázó anyag szinergizálja ezt a hatást. Úgy gondolják, hogy a Roundup hormonmoduláns tulajdonsága hatással lehet az emberi reprodukcióra és a magzati fejlődésre. Benachour és Séralini (2009) három emberi sejtvonal vizsgálata alapján azt találták, hogy a *glyphosate* önmagában apoptózist indukál. A *POEA* és az *AMPA* kombinációban alkalmazva szinergista hatásokat mutat, hasonlóan a Roundup esetében tapasztalható együtthatáshoz, és a kombinált hatás sejtnekrózist is kivált. A hatáserősítés vélhető magyarázata az, hogy a *POEA* oldódásfokozóként elősegíti a plazmamembránon a *glyphosate* hatóanyag átjutását és akkumulálódását a sejtben. A tiszta hatóanyaghoz képest a formázott készítmények esetén ez a gátlás négyszeres mértékű volt. A szerzők bizonyítva látják, hogy a hatás nélkülinek *(inert)* tartott formázóanyagnak gondolt *POEA* korántsem inaktív. Mivel takarmányokban 400 ppm nagyságrendben is engedélyezett a *glyphosate*-maradék előfordulása, Gasnier és munkatársai (2009) különböző *in vitro* vizsgálatokban kereste azt, hogy ez milyen hatásokat eredményezhet emberi májsejt-vonalon. Valamennyi kezelés koncentrációfüggő hatást mutatott citotoxicitási tesztekben, genotoxikusnak mutatkozott a *comet-assay* tesztmódszerében, továbbá antiösztrogén és antiandrogén hatásúnak találták.

Gyomfajok *glyphosate*-rezisztenciája

A *glyphosate* igen gyakori alkalmazása, valamint a *glyphosate*-tűrő (GR) növények Európán kívüli terjedése a környezetben való megjelenését fokozza, és ez komoly szelekciós hatással van a gyomnövényekre. Eddig is ismert volt az, hogy néhány gyomnövény tűrőképessége eredendően nagy, ilyenek pl. a fehér libatop *(Chenopodium album)*, a selyemmályva

(Abutilon theophrasti) és a bojtorjánszerbtövis *(Xanthium strumarium).*

1996-ban Pratley és munkatársai Ausztráliából írták le a GR *Lolium rigidum* első populációját. 1997-ben követte ezt a GR aszályfű *(Eleusine indica)* Malájföldön (Lee és Ngim 2000), a GR betyárkóró *(Conyza canadensis)* az Egyesült Államokban (VanGessel 2001), a GR olaszperje *(Lolium multiflorum)* Chilében (Perez és Kogan 2003). További ismert GR fajok: Ausztráliából az *Echinochloa colona* (2007), az *Urochloa panicoides* (2008) és a *Chloris truncata* (2010); Dél-Afrikából a *Conyza bonariensis* (2003) és a lándzsás útifű (*Plantago lanceolata*, 2003); az Egyesült Államokból az ürömlevelű parlagfű (*Ambrosia artemisiifolia*, 2004), az *Ambrosia trifida* (2004), az *Amaranthus palmeri* (2005), az *Amaranthus tuberculatus* (2005), a vesszős seprűfű (*Bassia scoparia*, 2007) és az egynyári perje (*Poa annua*, 2010); Spanyolországból a *Conyza sumatrensis* (2009); Dél-Amerikán belül Argentinából a fenyércirok (*Sorghum halepense*) (2005), az angolperje (*Lolium perene*, 2008); Brazíliából az *Euphorbia heterophyla* (2006); Kolumbiából a *Parthenium hysterophorus* (2004) és Paraguayból a *Digitaria insularis* (2006) (Heap, Epubl).

Powles és munkatársai (1998) 711-szeres *glyphosate*-dózisnak ellenálló *L. rigidum* népességet írtak le Ausztráliából. Shrestha és Hemree (2007) kaliforniai 58 leveles *Conyza canadensis* GR népességeinél csupán 24-szeres dózist túlélő növényeket találtak. Powles (2008) szerint nem véletlen, hogy azokban az országokban, ahol a *glyphosate*-tűrő kultúrnövények terjednek (Argentina és Brazília), ott a GR gyomnépességek előfordulása gyakoribbá válik. Véleménye szerint ez lesz a *glyphosate*-tűrő növények gyakorlatban való további terjedésének egyik legfontosabb akadálya. A *glyphosate*-rezisztencia öröklődő természetű, azaz a kezelt területeken e gyomok felgyarapodására kell számítani. A *GR* népesség vizsgálata során azt találták, hogy a *glyphosate*-tűrésében szerepet játszó célenzim génjének *(epsps)* mutációja (ma már a kukoricában is megtalálták a tűrésért felelős mutált allélt, lásd *1. táblázatban mepsps*, *2mepsps*) nem ritka a természetben. A *glyphosate* csökkent vagy megváltozott felvételére, transzlokációjára is felfigyeltek, illetve a sejtekben való sorsa is megváltozhat (Shaner 2009), ami GR népességeket eredményezhet. Mindez a *glyphosate*-tűrő növények huzamos termesztése esetén pótlólagos, más hatóanyagokkal végzett gyomirtó hatású kezelést tesz szükségessé.

IRODALOM

Acquavella, J. F., Alaxander, B. H., Mandel, J. S., Gustin, C., Baker, B., Chapman, P. and **Bleeke, M.** (2004): *Glyphosate* biomonitoring for farmers and their families: results from the farm exposure study. Environ. Health Perspect., 112: 321–326.

Alferness, P. L. and **Iwata, Y.** (1994): Determination of *glyphosate* and (amino methyl)phosphonic acid in soil, plant and animal matrices and water by capillary gas chromatography with mass selective detection. J. Agric. Food Chem., 42: 2751–2759.

Arbuckle, T. E., Lin, Z. and **Mery, L. S.** (2001): An exploratory analysis of the effect of pesticide exposure on the risk of spontaneous abortion in an Ontario farm population. Environ. Health Perspect., 109: 851–857.

Arregui, M. C., Lenardón, A., Sanchez, D., Maitre, M. I., Scotta, R. and **Enrique, S.** (2004): Monitoring *glyphosate* residues in transgenic *glyphosate*-resistant soybean. Pest Manag. Sci., 60: 163–166.

Baird, D. D., Upchurch, R. P., Homesley, W. B. and **Franz, J. E.** (1971): Introduction of a new broadspectrum postemergence herbicide class with utility for herbaceous perennial weed control. Proc. North Cent. Weed Control Conf., 26: 64–68.

Battaglin, W. A., Kolpin, D. W., Scribner, E. A., Kuivila, K. M. and **Sandtrom, M. W.** (2005): *Glyphosate*, other herbicides, and transformation products in Midwestern streams, 2002. J. Amer. Water Resource Assoc., 41: 323–332.

Bellé, R., Le Bouffant, R., Morales, J., Cosson, B., Cormier, P. and **Mulner-Lorillon, O.** (2007): L'embryon d'oursin, le point de surveillance de l'ADN endommagé de la division cellulaire et les mécanismes à l'origine de la cancérisation. J. Soc. Biol., 201: 317–327.

Benachour, N. and **Séralini, G.-E.** (2009): *Glyphosate* formulations induce apoptosis and necrosis in human umbilical, embryonic, and placental cells. Chem. Res. Toxicol., 22: 97–105.

Benachour, N., Sipahutar, H., Moslemi, S., Casnier, C., Travert, C. and **Séralini, G.-E.** (2007): Time- and dose-dependent effects of Roundup on human embryonic and placental cells. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 53: 126–133.

Benedettia, A. L., de Lourdes Viturib, C., Gonçalves Trentina, A., Custódio Dominguesc, M. A. and **Alvarez-Silva, M.** (2004): The effects of sub-chronic exposure of Wistar rats to the herbicide *glyphosate*-biocarb. Toxicol. Lett., 153: 227–232.

Borggaard, O. K. and **Gimsing, A. L.** (2008): Fate of *glyphosate* in soil and the possibility of leaching to ground and surface waters: a review. Pest. Manag. Sci., 64: 441–456.

Carrasco, A. E. (2011): Reply to the letter to the editor regarding our article (Paganelli et al., 2010). Chem. Res. Toxicol., 24: DOI: 10.1021/tx200072k

Chen, C. Y., Hathaway, K. M. and **Folt, C. L.** (2004): Multiple stress effects of Vision herbicide, pH, and food on zooplankton and larval amphibian species from forest wetland. Environ. Toxicol. Chem., 23: 823–831.

Cikalo, M. G., Goodall, D. M. and **Matthews, W.** (1996): Analysis of *glyphosate* using capillary electrophoresis with indirect detection. J. Chromatogr. A, 745: 189–200.

Clegg, S. B., Stephenson, G. R. and **Hall, J. C.** (1999): Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of *glyphosate*. J. Agric. Food Chem., 47: 5031–5037.

Cox, C. (2004): Herbicide factsheet: *glyphosate*. J. Pestic. Reform, 24: 10–15.

Cox, C. and **Surgan, M.** (2006): Unidentified inert ingredients in pesticides: implications for human and environmental health. Environ. Health Perspect., 114: 1803–1806.

Cowell, J. E., Kunstman, J. L., Nord, P. J., Steinmetz, J. R. and **Wilson, G. R.** (1986): Validation of an analytical residue method for analysis of *glyphosate* and metabolite: an interlaboratory study. J. Agric. Food. Chem., 34: 955–960.

Dallegrave, E., DiGiorgio Mantesea, F., Soares Coelhoa, R., S., Drawans Pereiraa, J., Dalsenterb, P. R. and **Langeloha, A.** (2003): The teratogenic potential of the herbicide *glyphosate*-Roundup in Wistar rats. Toxicol. Lett., 142: 45–52.

Daruich, J., Zirulnik, F. and **Gimenez, M. S.** (2001): Effect of the herbicide *glyphosate* on enzymatic activity in pregnant rats and their fetuses. Environ. Res., 85: 226–231.

De Roos, A. J., Zahm, S. H., Cantor, K. P., Weisenburger, D. D., Holmes, F. F., Burmeister, L. F. and **Blair, A.** (2003): Integrative assessment of multiple pesticides as risk factors for non-Hodgkin's lymphoma among men. Occup. Environ. Med., 60: Epubl. *http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1740618/pdf/v060p00e11.pdf*

De Roos, A. J., Blair, A., Rusiecki, J. A., Hoppin, J. A., Svec, M., Dosemeci, M., Sandler, D. P. and **Alavanja, M. C.** (2004): Cancer incidence among *glyphosate*-exposed pesticide applicators in the agricultural health study. Environ. Health Perspect., 113: 49–54.

DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft) (1992): Method 405 *Glyphosate*. pp. 229–304. In. Manual of Pesticide Residues Analysis. Vol. II. VCH Publishers Inc., New York, USA.

Duke, S. O. and **Powles, S. B.** (2008): *Glyphosate*: a once-in-a-century herbicide. Pest Manag. Sci., 64: 319–325.

Gasnier, C., Dumont, C., Benachour, N., Clair, E., Chagnon, M.-C. and **Séralini, G.-E.** (2009): *Glyphosate*-based herbicides are toxic and endocrine distruptors in human cell lines. Toxicology, 262: 184–191.

George, J., Prasad, S., Mahmood, Z. and **Shukla, Y.** (2010): Studies on *glyphosate*-induced carcinogenicity in mouse skin: a proteomic approach. J. Proteomics, 73: 951–964.

González-Martínez, M. A., Brun, E. M., Puchades, R., Maquieira, A., Ramsey, K. and **Rubio, F.** (2005): *Glyphosate* immunosensor. application for water and soil analysis. Anal. Chem., 77: 4219–4227.

Goodwin, L., Startin, J. R., Keely, B. J. and **Goodall, D. M.** (2003): Analysis of *glyphosate* and *glufosinate* by capillary electrophoresis-mass spectrometry utilising a sheathless microelectrospray interface. J. Chromatogr. A, 1004: 107–119.

Grey, L., Nguyen, B. and **Yang, P.** (2001): Liquid chromatography/electrospray ionization/isotopic dilution mass spectrometry analysis of *N*-(phosphonomethyl) glycine and mass spectrometry analysis of aminomethyl phosphonic acid in environmental water and vegetation matrixes. J. AOAC Int., 84: 1770–1780.

Hammock, B. D., Gee, S. J., Harrison, R. O., Jung, F., Goodrow, M., Li, Q-X., Lucas, A. D., Székács, A. and **Sundaram, K. M. S.** (1991): Immunochemical technology in environmental analysis: Addressing critical problems. In. Immunochemical Methods for Environmental Analysis (**Van Emon, J.** and **Mumma, R.O.**, Eds.) ACS Symp. Ser., Vol 442, 112–139, American Chemical Society, Washington, DC, USA.

Hanke, I., Singer, H. and **Hollender, J.** (2008): Ultratrace-level determination of *glyphosate* aminomethylphosphonic acid and *glufosinate* in natural waters by solid-phase extraction followed by liquid chromatography – tandem mass spectrometry: performance tuning of derivatization, enrichment and detection . Anal. Bioanal. Chem., 391: 2265–2276.

Hayes, T. N., Collins, A., Lee, M., Mendoza, M., Noriega, N., Stuart, A. A. and **Vonk, A.** (2002): Hermaphroditic, demasculinized frogs after exposure to the herbicide *atrazine* at low ecologically relevant doses. PNAS, 99: 5476–5480

Hayes, T. B., Khoury, V., Narayana, A., Nazira, M., Parka, A., Browna, T., Adamea, K., Chana, E., Buchholzb, D., Stuevea, T. and **Gallipeaua, S.** (2010): *Atrazine* induces complete feminization

and chemical castration in male African clawed *frogs (Xenopus laevis).* PNAS, 107: 4612–4617.

Heap, I. (Epubl.): International survey of herbicide resistant weeds. Herbicide Resistance Action Committee, North American Herbicide Resistance Action Committee, and Weed Sci. Soc. Am. http://www.weedscience.org/Summary/UspeciesMOA.asp?lstMOAID=12

Howe, C. M., Berrill, M., Pauli, B. D., Helbing, C. C., Werry, K. and **Veldhoen, N.** (2004): Toxicity of *glyphosate*-based pesticides to four North American frog species. Environ. Toxicol. Chem., 23: 1928–1938.

Hsu, C. C. and **Whang, C. W.** (2009): Microscale solid phase extraction of *glyphosate* and aminomethylphosphonic acid in water and guava fruit extract using alumina-coated iron oxide nanoparticles followed by capillary electrophoresis and electrochemiluminescence detection. J. Chromatogr. A, 1216: 8575–8580.

Ibáñez, M., Pozo, O. J., Sancho, J. V., López, F. J. and **Hernández, F.** (2006): Re-evaluation of *glyphosate* determination in water by liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry. J. Chromatogr. A., 1134: 51–55.

Jayawardene, U. A., Rajakaruna, R. S., Navaratne, A. N. and **Amerrasinghe, P. H.** (2010): Toxicity of agrochemicals to common hourglass tree frog *(Polypedates crugiger)* in acute and chronic exposure. Int. J. Agric. Biol., 12: 641–648.

Johal, C. S. and **Huber, D. M.** (2009): *Glyphosate* effects on diseases of plants. Eur. J. Agronomy, 31: 144–152.

Jones, D. K., Hammond, J. I. and **Relyea, R. A.** (2010): Competitive stress can make the herbicide Roundup more deadly to larval amphibians. Environ. Toxicol. Chem., 30: 446–454.

Kale, P. G., Petty Jr. B. T., Walker, S., Ford, J. B., Dehkordi, N., Tarasia, S., Tasie, B. O., Kale, R. and **Sohni, Y. R.** (1995): Mutagenicity testing of nine herbicides and pesticides currently used in agriculture. Environ. Mol. Mutagen., 25: 148–153.

Kantiani, L., Sanchis, J. A., Llorca, M., Rubio, F., Farré, M. and **Barceló, D.** (2011): Monitoring of *glyphosate* residues in environmental groundwater samples by ELISA and LC-MS/MS. In. Abs. 21st SETAC Europe Meeting, Ecosystem Protection in a Sustainable World: (Milan, Italy, May 16–19, 2011). 157.

Kodama, S., Ito, Y., Taga, A., Nomura, Y., Yamamoto, A., Chinaka, S., Suzuki, K., Yamashita, T., Kemmei, T. and **Hayakawa K.** (2008): A fast and simple analysis of *glyphosate* in tea beverages by capillary electrophoresis with on-line copper(ii)-*glyphosate* complex formation. J. Health Sci., 54: 602–606.

Kremer, R. J. and **Means, N. E.** (2009): *Glyphosate* and *glyphosate*-resistant crop interactions with rhizosphere microorganisms. Europ. J. Agronomy, 31: 153–161.

Kremer, R. J., Means, N. E. and **Kim, S.** (2005): *Glyphosate* affects soybean root exudation and rhizosphere microorganisms. J. Anal. Environ. Chem., 85: 1165–1174.

Laitinen, P., Siimes, K., Eronen, L., Rämö, S., Welling, L., Oinonen, S., Mattsoff, L. and **Ruohonen-Lehto, M.** (2006): Fate of the herbicide *glyphosate*, *glufosinate-ammonium*, *phenmedipham*, *ethofumesate* and *metamitron* in two Finnish arable soils. Pest Manag. Sci., 62: 473–491.

Laitinen, P., Siimes, K., Rämö, S., Jauhiainen, L., Eronen, L., Oinonen, S. and **Hartikainen, H.** (2008): Effects of soil phosphorous status on environmental risk assessment of *glyphosate* and *glufosinate-ammonium*. J. Environ. Qual., 37: 830–838.

Laitinen, P., Rämö, S., Nikunen, U., Jauhiainen, L., Siimes, K. and **Turtola, E.** (2009): *Glyphosate* and phosphorous leaching and residues in boreal sandy soil. Plant Soil, 323: 267–283.

Lajmanovich, R. C., Sandoval, M. T. and **Peltzer, P. M.** (2005): Induction of mortality and malformation in *Scinax nasicus* tadpoles exposed to *glyphosate* formulations. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 70: 612–618.

Lajmanovich, R. C., Attademo, A. M., Peltzer, P. M., Junges, C. M. and **Cabana, M. C.** (2010): Toxicity of four herbicide formulations with *glyphosate* on *Rhinella arenarum* (Anura: Bufonidae) tadpoles: B-esterases and glutation-*S*-transferase inhibitors. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 60: 681–689.

Lee, L. J. and **Ngim, J.** (2000): A first report of *glyphosate*-resistant goosegrass (*Elusine indica* (L) Gaertn) in Malaysia. Pest. Manage Sci., 56: 336–339.

Lee, E. A., Strahan, A. P. and **Thurman, E. M.** (2002a): Methods of analysis by the U.S. geological survey organic geochemistry research group-determination of *glyphosate*, aminomethylphosphonic acid, and *glufosinate* in water using online solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. Open-File Report 01-454. Lawrence, KS, USA. (http://ks.water.usgs.gov/pubs/abstracts/ofr.01-454.abs.html)

Lee, E. A., Zimmerman, L. R., Bhullar, B. S. and **Thurman, E. M.** (2002b) Linker-assisted immunoassay and liquid chromatography/mass spectrometry for the analysis of *glyphosate*. Anal. Chem., 74: 4937–4943.

Lioi, M. B., Scarfi, M. R., Santoro, A., Barbieri, R., Zeni1, O., Salvemini, F., Di Berardino, D. and **Ursini, M. V.** (1998): Cytogenetic damage and induction of pro-oxidant state in human lymphocytes exposed in vitro to *glyphosate*, *vinclozolin*, *atrazine*, and DPX-E9636. Environ. Mol. Mutagen., 32: 3946.

Ludvigsen, G. H. and **Lode, O.** (2001a): "JOVA" – The agricultural environmental pesticides monitoring programme in Norway. Page 199-206. In. Vijgen, J., Pruszynski, S. and Stobiecki, S. (Eds) Proc. 6th International HCH and Pesticides Forum in Poznan. 2022 March.

Ludvigsen, G. H. and **Lode, O.** (2001b): Results from the agricultural and environmental monitoring program of pesticides in Norway 1995–1999. Fresenius Environ. Bull., 10: 470474.

Mann, R. M. and **Bidwell, J. R.** (1999): The toxicity of *glyphosate* and several *glyphosate* formulations to four species of Southwestern Australian frogs. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 36: 193–199.

Marc, J., Mulner-Lorillon, O. and **Bellé, R.** (2004a): *Glyphosate*-based pesticides affects cell cycle regulation. Biol. Cell, 96: 245–249.

Marc, J., Bellé, R., Morales, J., Cormier, P. and **Mulner-Lorillon, O.** (2004b): Formulated *glyphosate* activities the DNA-response checkpoint of the cell cycle leading to the prevention of G2/M transition. Toxicol. Sci., 82: 436–442.

Marc, J., Le Breton, M., Cormier, P., Morales, J., Bellé, R. and **Mulner-Lorillon, O.** (2005): A *glyphosate*-based pesticide impinges on transcription. Toxicol. Appl. Pharmacol., 203: 18.

Mariana, A., de Alaniz, M. J. T. and **Marra, C. A.** (2009): The impact of simultaneous intoxication with agrochemicals on the antioxidant defense system in rat. Pesticide Biochem. Physiol., 94: 93–99.

McComb, B. C., Curtis, L., Chambers, C. L., Newton, M. and **Bentson, K.** (2008): Acute toxic hazard evaluations of *glyphosate* herbicide on terrestrial vertebrates of the Oregon Coast Range. Env. Sci. Pollut. Res., 15: 266–272.

Mörtl M., Maloschik E., Juracsek J. és Székács A. (2010): Növényvédőszer-maradékok gázkromatográfiás és immunanalitikai meghatározásának eredményei vizekben és talajokban. In. Komplex monitoring rendszer összeállítása talaj-mikroszennyezők analitikai kimutatására és biológiai értékelésére a fenntartható környezetért. MONTABIO-füzetek IV. 307. old. MTA Növényvédelmi Kutatóintézet, Budapest.

Mulet, J. M. (2011): Letter to the editor regarding the article by Paganelli *et al.* Chem. Res. Toxicol., 24: 609.

Nedelkoska, T. V. and **Low, G. K-C.** (2004): High-performance liquid chromatographic determination of *glyphosate* in water and plant material after pre-column derivatisation with 9-fluorenylmethyl chloroformate. Anal. Chim. Acta, 511: 145–153.

Palma, G. (2011): Letter to the editor regarding the article by Paganelli *et al.* Chem Res. Toxicol., 24: 775–776.

Paganelli, A., Gnazzo, V., Acosta, H., López, S. L. and **Carrasco, A. E.** (2010): *Glyphosate*-based herbicides produce teratogenic effects on vertebrates by impairing retionic acid signaling. Chem. Res. Toxicol., 23: 1586–1595.

Perez, A. and **Kogan, M.** (2003): *Glyphosate*-resistant *Lolium multiflorum* in Chilean orchards. Weed. Res., 43: 12–19.

Perkins, P. J., Boermans, H. J. and **Stephenson, G. R.** (2000): Toxicity of *glyphosate* and *triclopyr* using the frog embryo teratogenesis assay – *Xenopus*. Environ. Toxicol. Chem., 19: 940–945.

Poletta, G. L., A. Larriera, A., Kleinsorge, E. and **Mudry, M. D.** (2009): Genotoxicity of the herbicide formulation Roundup *(glyphosate)* in broad-snouted caiman *(Caiman latirostris)* evidenced by the comet assay and the micronucleus test. Mut. Res. Gen. Toxicol. Environ. Mutagen., 672: 95–102.

Popp, M., Hann, S., Mentler, A., Fuerhacker, M., Stingeder, G. and **Koellensperger, G.** (2008): Determination of *glyphosate* and *AMPA* in surface and waste water using high-performance ion chromatography coupled to inductively coupled plasma dynamic reaction cell mass spectrometry (HPIC-ICP-DRC-MS). Anal. Bioanal. Chem., 391: 695–699.

Powell, J. R. and **Swanton, C. J.** (2008): A critique of studies evaluating *glyphosate* effects on diseases associated with *Fusarium* spp. Weed Res., 48: 307–318.

Powles, S. B. (2008): Evolved *glyphosate*-resistant weeds around the world: lesson to be learnt. Pest. Manage. Sci., 64: 360–365.

Powles, S. B., Lorraine-Colwill, D. F., Dellow, J. J. and **Preston, C.** (1998): Evolved resistance to *glyphosate* in rigid ryegrass *(Lolium rigidum)* in Australia. Weed Sci., 46: 604–607.

Pratley, J., Baines, P., Eberbach, R., Incerti, M. and **Broster, J.** (1996): *Glyphosate* resistant annual ryegrass. Page 126. *In.* Virgona, J. and Michalk, D. (Eds) Proc. 11th Ann. Conf. Grassland Soc. New South Wales. Wagga Wagga, Australia

Prasad, S., Srivastava, S., Singh, M. and **Shukla, Y.** (2009): Clastogenic effects of *glyphosate* in bone marrow cells of swiss albino mice. J. Toxicol., Epubl.http://www.hindawi.com/journals/jt/2009/308985/

Relyea, R. A. (2005): The lethal impacts of Roundup and predatory stress on six species of North American tadpoles. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 48: 351–357.

Relyea, R. A. and **Jones, D. K.** (2009): The toxicity of Roundup Original Max to 13 species of larval amphibians. Environ. Toxicol. Chemistry, 28: 2004–2008.

Richard, S., Moslemi, S., Sipahutar, H., Benachour, N. and **Séralini, G.-E.** (2005): Differential effects of *glyphosate* and Roundup on human placental cells

and aromatase. Environ. Health Perspect., 113: 716–720.

Royer, A., Beguin, S., Tabet, J. C., Hulot, S., Reding, M.-A. and **Communal, P.-Y.** (2000): Determination of *glyphosate* and aminomethylphosphonic acid residues in water by gas chromatography with tandem mass spectrometry after exchange ion resin purification and derivatisation. Application on vegetable matrices. Anal. Chem., 72: 3826–3832.

Rubio, F., Veldhuis, L. J., Clegg, B. S., Fleeker, J. R. and **Hall, J. C.** (2003): Comparison of a direct ELISA and an HPLC method for glyphosate determination in water. J. Agric. Food Chem., 51: 691–696.

Saltmiras, D., Bus, J. S., Spanogle, T., Hauswirth, J., Tobia, A. and **Hill, S.** (2011): Letter to the editor regarding the article by Paganelli *et al.* Chem Res. Toxicol., 24: 607–608.

Sanogo, S., Yang, X. B. and **Scherm, H.** (2000): Effects of herbicides on *Fusarium solani* f. sp. *glycines* and development of sudden death syndrome in *glyphosate*-tolerant soybean. Disease Cont. Pest Manag., 90: 57–66.

Savitz, D. A., Arbuckle, T., Kaczor, D. and **Curtis, K. M.** (1997): Male pesticide exposure and pregnancy outcome. Amer. J. Epidemiology, 146: 10251035.

See, H. H., Hauser, P. C., Sanagi, M. M. and **Ibrahim, W. A.** (2010): Dynamic supported liquid membrane tip extraction of *glyphosate* and aminomethylphosphonic acid followed by capillary electrophoresis with contactless conductivity detection. J. Chromatogr. A, 1217: 5832–5838.

Shaner, D. L. (2009): Role of translocation as a mechanism of resistance to *glyphosate*. Weed Sci., 57: 118–123.

Sparling, D. W., Matson, C., Bickham, J. and **Doelling-Brown, P.** (2006): Toxicity of *glyphosate* as Glypro and LI700 to red-eared slider *(Trachemys scripta elegans)* embryos and early hatchlings. Environ. Toxicol. Chem., 25: 2768–2774.

Shrestha, A. and **Hemree, K.** (2007): *Glyphosate*-resistant horseweed (*Conyza canadensis* L. Cronq.) biotype found in the South Central Valley. Calif. Agric., 61: 267–270.

Stenrød, M., Eklo, O. M., Charnay, M.-P. and **Benoit, P.** (2005): Effects of freezing and thawning on microbial activity and *glyphosate* degradation in two Norwegian soils. Pest Manag. Sci., 61: 887–898.

Stenrød, M., Charnay, M.-P., Benoit, P. and **Eklo, O. M.** (2006): Spatial variability of *glyphosate* mineralization and soil microbial characteristics in two Norwegian sandy loam soils as affected by surface topographic features. Soil Biol. Biochem., 38: 962–971.

Struger, J., Thompson, D., Staznik, B., Martin, P., McDaniel, T. and **Marvin, C.** (2008): Occurrence of *glyphosate* in surface waters of Southern Ontario. Bull. Environ, Contam. Toxicol., 80: 378–384.

Székács A. (2006): 13. Gyomirtó szerek. 95–112 oldal In. **Darvas B. és Székács A.** (szerk.) Mezőgazdasági ökotoxikológia. l'Harmattan, Budapest

Tsui, M. T. K. and **Chu, L. M.** (2003): Aquatic toxicity of *glyphosate*-based formulations: comparison between different organisms and the effects of environmental factors. Chemosphere, 52: 1189–1197.

US FDA (1977): FDA/ACA-77/144A. Pesticide Analytical Manual. Vol. II. U.S. Food and Drug Administration, Rockville, MD, USA.

You, J., Kaljurand, M. and **Koropchak, J. A.** (2003): Direct determination of *glyphosate* in environmental waters using capillary electrophoresis with electrospray condensation nucleation light scattering detection. Int. J. Environ. Anal. Chem., 83: 797–806.

VanGessel, M. J. (2001): *Glyphosate*-resistant horseweed from Delaware. Weed Sci., 49: 703–705.

Vereecken, H. (2005): Mobility and leaching of the *glyphosate*: a review. Pest. Manag. Sci., 61: 1139–1151.

Vreeken, R. J., Speksnijder, P., Bobeldijk-Pastorova, I. and **Noij, Th. H. M.** (1998): Selective analysis of the herbicides *glyphosate* and aminomethylphosphonic acid in water by on-line soild-phase extraction-high-performance liquid chromatography-electrospray ionisation mass spectrometry. J. Chromatogr. A, 794: 187–199.

Walsh , L. P., McCormick, C., Martin, C. and **Stocco, D. M.** (2000): Roundup inhibits steroidogenesis by distrupting steroidogenic acute regulatory (StAR) protein expression. Environ. Health Perspect., 108: 769–776.

Weaver, M. A., Krutz, L. J., Zablotowicz, R. M. and **Reddy, K. N.** (2007): Effects of *glyphosate* on soil microbial communities and its mineralization in a Mississippi soil. Pest Manag. Sci., 63: 388–393.

Wigfield, Y. Y. and **Lanquette, M.** (1991): Residue analysis of *glyphosate* and its principal metabolite in certain cereals, oilseeds and pulses by liquid chromatography and post-column fluorescence detection. J. Assoc. Offic. Anal. Chem., 74: 842–847.

Zablotowicz, R. M., Accinelli, C., Krutz, L. J. and **Reddy, K. N.** (2009): Soil depth and tillage effects on *glyphosate* degradation. J. Agric. Food Chem., 57: 4867–4871.

Zhao, P., Yan, M., Zhang, C., Peng, R., Ma, D. and **Yu, J.** (2011): Determination of *glyphosate* in foodstuff by one novel chemiluminescence-molecular imprinting sensor. *Spectrochim.* Acta A Mol. Biomol. Spectrosc., 78: 1482–7486.

Zobiole, L. H. S., Kremer, R. J., Oliveira, Jr. R. S. and **Constantin, J.** (2011): *Glyphosate* affects microorganisms in rhizospheres of *glyphosate*-resistant soybean. J. Appl. Microbiol., 110: 118127.

ENVIRONMENTAL HEALTH PROBLEMS OF GLYPHOSATE APPLICATIONS

B. Darvas, Ágnes Fejes, Mária Mörtl, Katalin Bokán, Hajnalka Bánáti, G. Fekete and A. Székács
Hungarian Academy of Sciences, Plant Protection Institute, Department of Ecotoxicology and Environmental Analysis, Budapest

Glyphosate-based herbicides are leading products of the current pesticide market, and this trend has further strengthened outside Europe with the spread of *glyphosate*-tolerant GM crops. *Glyphosate* forms complexes with metal ions (Al, Fe, Mn, Zn) in the soil, but precipitation washes it into deeper soil layers. Its primary metabolite, AMPA, is more mobile than the parent compound. Their detection in environmental samples is rather problematic, this is why these compounds are not listed in most countries among commonly detected pesticide residues. The expansion of *glyphosate*-tolerant GM crops is likely to result in more common occurrence of *glyphosate* in food and feed, and metabolites AMPA and NAG may also call for special attention depending on given genetic events. Severe professional debates are going on regarding the side-effects of *glyphosate* and its herbicide preparations (particularly those containing POEA as formulating agent). *Glyphosate* reduces disease tolerance of certain plants, while facilitating fungal root colonization e.g., *Fusarium* species. It is toxic to amphibians, and is suspected to exert teratogenicity on birds and amphibians. Mutagenicity and carcinogenicity of *glyphosate*-based preparations are at a cross-fire of debates. The hormone modulant effect of *glyphosate* is exacerbated by the formulating agent (POEA). Upon extended application, *glyphosate* resistant (GR) populations are selected from given weeds: the number of such species identified is 21, including GR *Amaranthus*, *Conyza* and *Lolium* populations besides ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*) and Johnsongrass (*Sorghum halepense*).

Keywords: glyphosate, AMPA, glyphosate-tolerant plant, secondary effects, hormone modulant, mutagenicity, teratogenicity

Érkezett: 2011. augusztus 14.

PUBLIKÁCIÓS PÁLYÁZATOK (PUB)

Az Országos Tudományos Kutatási Alapprogramok (OTKA) Bizottsága pályázatot hirdet az OTKA által támogatott kutatások eredményeinek közzétételére, valamint forrásművek kiadására

A publikációs pályázat (PUB) céljai:

Az OTKA által támogatott kutatások eredményeinek közérthető ismertetése, a kiemelkedő eredményeknek tudományos közléséhez szükséges kiegészítő költségek biztosítása, valamint forrásmunkák kiadásának támogatása három pályázati kategóriában, utólagos finanszírozással.

http://www.otka.hu/index.php?akt_menu=3531

A Debreceni Egyetem AGTC MÉK Növényvédelmi Intézete,
a Növényvédelem Oktatásának Fejlesztéséért Közhasznú Alapítvány,
az MTA Debreceni Akadémiai Bizottsága,
a Hajdú-Bihar Megyei Növényvédő Mérnöki és Növényorvosi Kamara,
valamint a Hallgatók Gulyás Antal Növényvédelmi Köre szervezésében
megrendezésre kerül a

16. Tiszántúli Növényvédelmi Fórum



2011. október 19–20-án

Helyszín: Debreceni Akadémiai Bizottság Székháza
Debrecen, Thomas Mann u. 49.

A programból:

október 19. (szerda) délelőtt: Plenáris ülés
délután: Poszterbemutató
Szekcióülések:
Növénykórtani
Növényvédelmi állattani
Gyomirtás és integrált növényvédelmi technológia
este: Szakember találkozó (fogadás)

október 20. (csütörtök): Szakmai kirándulás

Általános részvételi díj: 15 000 Ft, PhD hallgatóknak 5 000 Ft
Szakembertalálkozó: 5 000 Ft
Szakmai kirándulás (ebéddel, pálinkakóstolóval, belépőkkel): 7 000 Ft
Szálláslehetőség: a DAB Székház, a Veres Péter Kollégium
1–2 ágyas vendégszobáiban vagy a Kincses Panzióban

Jelentkezni lehet:
Dr. Dávid István szervezőtitkár címén:
DE AGTC MÉK Növényvédelmi Intézet
4015 Debrecen, Pf. 36.
telefon/fax: (52) 508-459
E-mail: davidi@agr.unideb.hu
Internet: http://portal.agr.unideb.hu/tanszekek/novenyvedelmi/sajat_oldalak/tnf/index

MEGHÍVÓ

A FÓTI BOGLÁRKA ALAPÍTVÁNY tisztelettel meghívja Önt a



Herman Ottó Biológiai Kör

2011. október 5-én (szerdán)
18 órai kezdettel
tartandó ülésére

Helyszín: Aranytíz Művelődési Központ,
Holbein terem
(1051 Budapest, Arany János u. 10)



Előadók: **Retezár Imre és Podlussány Attila**
Előadás címe: **Abházia 2011, Kaukázusi helyzetkép**

Az ülésre minden érdeklődőt szeretettel várunk!

Az Aranytíz Művelődési Központ megközelíthető: a 3-as metró Arany János utcai megállójától, a 72-es és 73-as trolibuszok Arany János utcai végállomásától, a 2-es villamos Roosevelt téri megállójától. További információ: http://www.aranytiz.hu/

Az Európai Unió Kutatásfejlesztési és technológiai 7. keretprogramja (2007–2013) aktuális felhívásai

Információ:

Nemzeti Kutatási és Technológiai Hivatal
1117 Budapest, Neumann János u. 1/c.
telefon: 061 484-2500
Koordinátor: *Csúzdi Szonya* (061 484-2560)
http://www.nkth.gov.hu (pályázati naptár)

Pályázók köre: az Európai Unió tagállamaiból és a társult államokból kutatóintézetek, egyetemek, vállalkozók legalább három tagú konzorciuma (az összevont táblázatban pályázatonként eltérő kritériumok)

http://www.nih.gov.hu/nemzetkozi-tevekenyseg/eu-7-keretprogram/naptar-7-keret-program

TARTALOM

Kádár Katalin, Salánki Katalin, Gellért Ákos, Divéki Zoltán és *Balázs Ervin:* Olajtökről izolált uborka mozaik vírus molekuláris jellemzése 357
Cseh Eszter, Daragó Ágnes, Takács András Peter, Csöndes Izabella, Kocsis László, Kazinczi Gabriella és *Horváth József:* Magyarországi borvidékek vírusfertőzöttségének vizsgálata . 363
Tóbiás István, Kiss Balázs, Salánki Katalin és *Palkovics László:* A búza törpülés vírus (wheat dwarf virus) etiológiai vizsgálata és molekuláris jellemzése 371
Bese Gábor, Bóka Károly, Krizbai László és *Takács András Péter:* A paradicsom klorózis vírus (*Tomato chlorosis virus*, TOCV) első megjelenése paradicsomban Magyarországon 377
Daragó Ágnes, Cseh Eszter, Nagy Péter, Takács András Péter, Répási Viktória és *Gáborjányi Richard:* A tűfonálférgek (*Xiphinema* spp.) előfordulása egyes hazai szőlőültetvényekben . 381
Darvas Béla, Fejes Ágnes, Mörtl Mária, Bokán Katalin, Bánáti Hajnalka, Fekete Gábor és *Székács András*: A *glyphosate* alkalmazásának környezet-egészségügyi problémái 387

TABLE OF CONTENTS

Kádár, Katalin, Katalin Salánki, Á. Gellért, Z. Divéki and *E. Balázs:* Molecular characterization of cucumber mosaic virus isolated from oilseed pumpkin 357
Cseh, Eszter, Ágnes Daragó, A. P., Takács, Izabella Csöndes, L. Kocsis, Gabriella Kazinczi and J. Horváth: Investigation of viruses in different wine growing regions in Hungary 363
Tóbiás, I., B. Kiss, Katalin Salánki and *L. Palkovics:* Etiology and molecular characterization of wheat dwarf virus 371
Bese, G., K. Bóka, L. Krizbai and *A. P. Takács:* First occurence of tomatochlorosis virus (TOCV) in Hungary 377
Daragó, Ágnes, Eszter Cseh, P. Nagy, A. P. Takács, Viktória Répási and *R. Gáborjányi:* Plant parasitic nematodes occuring in some grapevine solis in Hungary 381
Darvas B., Ágnes Fejes, Mária Mörtl, Katalin Bokán, Hajnalka Bánáti, G. Fekete and *A. Székács:* Environmental health problems of *glyphosate* applications 387

A Debreceni Egyetem (DE) Agrár- és Gazdálkodástudományok Centruma (AGTC)
Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar (MÉK)
Növényvédelmi Intézete
költségtérítéses

Növényvédelmi szakmérnök
szakirányú továbbképzést indít

A jelentkezés feltétele: 5 éves alapképzésben szerzett egyetemi oklevél, illetve MSc diploma
A képzés formája: 2 éves (4 féléves, 623 tanóra) intenzív, levelező, egésznapos elfoglaltsággal
A képzés megfelel a felsőfokú növényvédelmi képesítést elismerő (43/2010. FVM rendelet 17. §) növényvédelmi előírások feltételeinek.
A képzés ideje: 1. félév: 2011. november – december
2. félév: 2012. január – február
3. félév: 2012. november – december
4. félév: 2013. január – február
A záróvizsga időpontja: 2013. június
A költségtérítés összege: 150.000 Ft/félév (elegendő jelentkező esetén)

Jelentkezés és tájékoztatás a következő címen:
DE AGTC MÉK Dékáni Hivatala, illetve Növényvédelmi Intézete
4032 Debrecen, Böszörményi út 138. tel./fax: (52) 508-378
E-mail: kovics@agr.unideb.hu

A KÖRNYEZETBARÁT NÖVÉNYVÉDELEMÉRT ALAPÍTVÁNY 2011. ÉVI DÍJAZOTTJAI

A Környezetbarát Növényvédelemért Alapítvány pályázatot hirdetett a 2011-ben, nappali tagozaton végző azon egyetemi hallgatók részére, akik környezetkímélő növényvédelem témakörben védték diplomamunkájukat.

Ebben az évben sajnálatos módon csak egy egyetemről érkeztek pályamunkák.

A Kuratórium által felkért Bíráló Bizottság a Budapesti Corvinus Egyetem Kertészettudományi Karáról beérkezett javaslatok és a diplomamunkák átnézése alapján megállapította, hogy a beérkezett pályaművek eredményes munkát tükröznek és megfelelnek a kiírás feltételeinek

A Bizottság ebben az évben két II. díj odaítélését javasolta, amely egybehangzó döntés alapján született.

A díjazottak az Alapítvány Kuratóriumának tagjai és a meghívott alapítók jelenlétében, ünnepélyes keretek között, szeptember 13-án vehették át az oklevelet és a kutatási támogatást (fejenként 50 000 Ft értékben) *dr. Balázs Klárától*, a Kuratórium elnökétől.



A Környezetbarát Növényvédelemért Alapítvány pályázatának 2011. évi nyertesei

II. DÍJ: PARÓCZAI NIKOLETT – Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar, Növénykórtani Tanszék
(Tanszéki konzulensek: Horváthné dr. Petróczi Marietta, Végh Anita, dr. Palkovics László)

A dolgozat címe: Fitostore F fertőtlenítő oldat hatásának in vitro vizsgálata növénypatogén kórokozókra

Indoklás: „*In vitro* kísérletekben megállapította a Fitostore F fertőtlenítő oldat *Erwinia amylovora, Pseudomonas syringae, Xanthomonas vesicatoria, Botrytis cinerea, Colletotrichum acutatum, Monilia fructigena, Monilia laxa, Sclerotinia sclerotiorum* elleni hatékonyságát, javasolta a további, *in vivo* kísérletek elvégzését."

II. DÍJ: FARKAS PÉTER – Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar, Rovartani Tanszék
(Tanszéki konzulensek: dr. Szabó Árpád, dr. Pénzes Béla, külső konzulens dr. Erdélyi Éva – BCE Kertészettudományi Kar, Matematika és Informatikai Tanszék)

A dolgozat címe: Az *Amblyseius swirskii* (Acari, Phytoseiidae) felhasználása a hajtatott paprika biológiai növényvédelmében

Indoklás: „Az *Amblyseius swirskii* hazánkban még kevéssé ismert ragadozó atka nyugati virágtripsz elleni védekezés lehetőségeit vizsgálta üvegházi körülmények között, hajtatott paprikában Eredményei jó kiindulási alapot adnak a további, tervezett vizsgálatokhoz."

Megköszönjük a most már végzett hallgatók és Témavezetőik munkáját, gratulálunk eredményeikhez, s kívánjuk, legyenek sikeresek további munkájukban is.

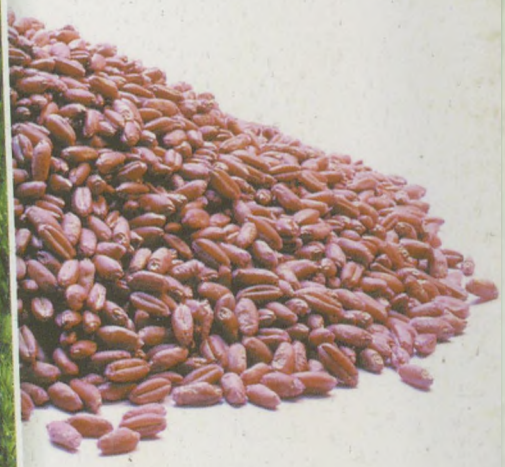
Az Alapítvány nevében

dr. Balázs Klára
a Kuratórium elnöke

Rancona®
15 ME



Új mikroemulziós gombaölő csávázószer



További információért szíveskedjen a Chemtura Europe Ltd. Magyarországi Fióktelepének helyi munkatársaihoz fordulni:

dr. Dienes Judit	Északkelet-Magyarország	(30) 9423 - 496
Weszp Mihály	Kelet-Magyarország	(30) 9325 - 444
Varga Sándor	Délkelet-Magyarország	(30) 9325 - 555
Véglesi János	Északnyugat-Magyarország	(30) 9345 - 196
Szilvágyi Erzsébet	Nyugat-Magyarország	(30) 4747 - 457
Somogyvári László	Délnyugat-Magyarország	(30) 9367 - 763

Chemtura AgroSolutions™

Web: www.chemtura.hu
E-mail: info@chemtura.hu