

DIPLOMADOLGOZAT

Ivánka-Tóth Benedek
Növényorvos MSc

KESZTHELY
2023



Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem
Georgikon Campus
Növényorvosi MSc Szak

**Kerti árvácska (*Viola x wittrockiana*) virológiai vizsgálata DAS
ELISA módszerrel**

Belső konzulens: Pásztor György

Egyetemi adjunktus

Készítette: Ivánka-TóthBenedek

JQVLGZ

Nappali

Intézet/Tanszék: Növényvédelmi Tanszék

KESZTHELY

2023

Tartalomjegyzék

1.	BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉS.....	3
2.	IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	4
2.1.	KERTI ÁRVÁCSKA SZÁRMAZÁSA.....	4
2.2.	MEGJELENÉSE, ÉLETFORMÁJA.....	5
2.2.1.	<i>Fajtabesorolás, felhasználás.....</i>	<i>6</i>
2.2.2.	<i>Termesztéstechnológiája.....</i>	<i>7</i>
2.3.	FONTOSABB BETEGSÉGEI, KÁRTEVŐI.....	9
2.3.1.	<i>Kórokozói.....</i>	<i>9</i>
2.3.2.	<i>Kártevői.....</i>	<i>12</i>
2.4.	NÖVÉNYI VÍRUSOK FELFEDEZÉSE.....	13
2.4.1.	<i>Növénypatogén vírus fogalma, felépítése.....</i>	<i>14</i>
2.4.2.	<i>Növénypatogén vírusok replikációja, terjedése.....</i>	<i>15</i>
2.4.3.	<i>Vírusátvitel.....</i>	<i>17</i>
2.4.4.	<i>Fertőzések tüneti diagnosztikája.....</i>	<i>19</i>
2.4.5.	<i>A növények védekezési reakciói vírushatáskor.....</i>	<i>21</i>
2.4.6.	<i>A növényi vírusok kimutatása.....</i>	<i>23</i>
3.	ANYAG ÉS MÓDSZER.....	28
3.1.	A MINTAVÉTELEZÉS HELYE ÉS IDŐPONTJA.....	28
3.2.	A KÍSÉRLET HELYE ÉS MÓDJA.....	28
3.3.	A KÍSÉRLET PONTOS MENETE.....	30
4.	VIZSGÁLATI EREDMÉNYEK ÉS KIÉRTÉKELÉSÜK.....	32
4.1.	A MINTÁK KÖZÖTT A FERTŐZÖTTSÉG MEGOSZLÁSA.....	32
4.2.	A FERTŐZÖTT MINTÁK KÖZÖTT A KÓROKOZÓK ARÁNYA.....	32
4.3.	AZ ÖSSZES MINTA KÖZÖTT A FERTŐZÉSEK SZÁMA.....	33
4.4.	KOMPLEX FERTŐZÉSEK A MINTÁKBAN.....	34
5.	KÖVETKEZTETÉSEK, JAVASLATOK.....	35
6.	ÖSSZEFOGLALÁS.....	36
7.	FELHASZNÁLT IRODALMI FORRÁSOK.....	38

1. Bevezetés és célkitűzés

Dolgozatom a kerti árvácska (*Viola x wittrockiana*), rövid tenyészidejű kétnyári dísznövény vírusfertőzöttségének kimutatását dolgozza föl, amelyet Double Antibody Sandwich ELISA teszt segítségével állapítottunk meg.

A növényt megtalálhatjuk minden közparkban, sétányok mentén, kiskertekben, valamint temetőekben is az őszi, illetve tavaszi időszakban az egynyári dísznövények előtt és után.

Hazánkban található közterületi virágágyakba közel 10-12 millió egy- és 5-6 millió kétnyári palántát ültetnek ki minden évben. A kétnyári palánták 95%-a rövid tenyészidejű és ennek pedig körülbelül 80-85%-a árvácska (Schmidt, 2002).

A nagy mennyiségű növényanyag potenciális fertőzési gócot jelenthet a növénypatogén vírusok oldaláról nézve is, ezért esett a választásom a hazánkban leggyakrabban felhasznált kétnyári dísznövényre.

A szerológiai vizsgálatok közül pedig a DAS ELISA tesztet alkalmaztuk, mivel a hasonló eljárások közül a legérzékenyebb. A kultúrnövényeinket is fertőző vírusok közül, pedig a leginkább széles gazdanövénykörrel rendelkező kórokozók felderítésére törekedtünk és elemeztük megoszlásukat.

A kerti árvácska termesztéstechnológiáján végighaladva ismertetem a legégetőbb növényegészségügyi problémákat, különös tekintettel a különböző növénypatogén vírusbetegségekre. A jellemzően élő- és élettelen határán elhelyezkedő kórokozók közül eltérő megjelenési formát mutató képviselőikkel foglalkoztam, megtalálhatóak közöttük helikális, fonál alakú; izometrikus (gömbszerű) illetve bacillus alakú virionnal rendelkező fajok egyaránt.

A kerti árvácska esetében ugyan nem lehet jelentékeny kártételről beszélni, viszont fertőzési gócot jelenthet, amely területről könnyedén átjuthat egy adott kórokozó valamely, a közelben elhelyezkedő kultúrnövényre, ahol viszont már számottevőbb, gazdasági kárt okozhat.

2. Irodalmi áttekintés

2.1. Kerti árvácska származása

A kerti árvácska (*Viola x wittrockiana*, 1. ábra) hibridet Európában és Közép Ázsiában honos fajokból nemesítési eljárással alakították ki. Az eljárás során felhasznált fajok között találjuk a háromszínű vadárvacskát (*Viola tricolor* L.), sárga árvácskát (*Viola lutea* Huds.), vékonyka árvácskát (*Viola gracilis*), illetve az altáji árvácskát (*Viola altaica* Ker Gawl.). A hibridek döntő többségében megtalálható bársonyos kék színt pedig a szarvacskás árvácska (*Viola cornuta*) bevonásával érték el (Schmidt, 2002).



1. ábra: Közterületi virágágy (Forrás: saját kép)

A növény az ibolyafélék (*Violaceae*) családjába tartozik, amely 15 nemzetséget és mintegy 400 fajt foglal magába, amelyek között találunk fás- és lágyszárú növényt egyaránt. A fás szárú fajok zömében trópusi területek magas hegyvidékeiről származnak (Nagy, 1975).

2.2. Megjelenése, életformája

A vad fajok, amelyek mezőkön, legelőkön, réteken nyílnak akár 25 cm magas növénné fejlődhetnek és virágaik sárga, fehér és lila színben pompáznak (INTERNET1).

A kerti árvácska hibridek (2. ábra) esetében általában kevesebb, de nagyobb méretű virágaik szirmlevelei kerekdedebbek, gyakran foltosak. A virágzás hossza bár időjárás függő, nálunk jellemzően 1-2 hónapig tart, téli és tavaszi, nyári virágzási időszakokkal. A növény különlegességét adja a szinte kimeríthetetlen színskála- és kombináció, a tiszta fehértől a majdnem teljesen feketéig a zöld kivételével bármi megtalálható a kínálatban (Hessayon, 1993).

A virágformát illetően az eredetileg inkább kissé nyújtott, enyhén szögletes formák helyett nőtt a szabályos, kerek virágú, enyhén hullámos szirmlevelű fajták aránya.

Előfordulnak egészen apró virágú, úgynevezett miniatűr árvácskák, amelyek szintén egyre gyakoribbak. Leginkább virágtálak, ámpolnaedények beültetésére, továbbá házikerti virágágyak gazdagítására használható fajták, legjobban közkedvelt sorozat az 'Alpensommer' F1, amelyre a bőven elágazó, zömök habitus és 2,5-3 cm-es virág a jellemző, melyek nagy tömegben nyílnak egészen a nyári szárazság és meleg beköszöntéig (Schmidt, 2002).

Általános morfológiai jellemzésként a 15-50 cm-es növénymagasság, félig elfekvő szár, nagy számú elágazás, valamint az alsó levelek szív, illetve tojásdad, a felsők lándzsás alakja, csipkés széllel említhető meg (Nagy, 1975).

2.2.1. Fajtabesorolás, felhasználás

A rengeteg fajta között nehéz az eligazodás, ezért célszerű a fajtacsoportok ismerete. F. Encke például a virágszín és forma, illetve a virágzási idő alapján végezte el az osztályozást.

A virág morfológiája szerint megkülönböztet:

- egy-vagy kétszínű fajtát, a virág közepén szempettyel,
- három alsó szirmon szemfoltos fajtákat,
- mind az öt szirmon szemfoltosokat,
- vegyes színű, csíkozott virágokat, továbbá
- fodros, hullámos szirmú képviselőket.

Virágzási idő alapján pedig:

- a korán virágzó Pirnaer,
- télen virágzó Hiemalis és
- a későn virágzó Maxima-Roggli fajtakört (Nagy, 1975).

Előfordul még az előbb említett szempontok mellett a virág- és növényméret szerinti besorolás is. A növekedési hajlamtól függően alacsony, kompakt (15-18 cm) és közép magas, lazább elágazású (18-25 cm) növények különíthetők el. A fő díszértéket meghatározó virágzat mérete szerint pedig 4 csoportot emelnek ki; a kisvirágú, miniatűr árvácskától (2,5-3 cm) az úgynevezett óriás, akár 8-10 cm-es virágzattal rendelkezőkig (Schmidt, 2002).

Kétnyári dísznövényként a mi éghajlatunkon „hézagpótló” szerepe van, az egynyáriak számára kedvezőtlen időjárás mellett is gyönyörűen és tartósan díszít. Kiültethető közparkok vagy éppen házikertek ágyásaiba szegélynövényként, de gyakran találkozni balkonládába, cserépbe ültetett növényvel is. A megfelelő díszítőértéket nagy tömegű, csoportos ültetéskor adja, virágágyakban tavasszal igen mutatós színfolt hagymás dísznövényekkel párosítva, például tulipánnal.

A PanAmerican Seeds elnevezésű nemesítő cég által kifejlesztett új változatok futó habitusúak, tehát a szintén futó megjelenésű muskátli fajták mellett új alternatívaként szolgálhatnak balkonládába, esetleg függő kaspóba ültetve (INTERNET2).

A cég által Cool Wave-nek nevezett sorozatba tartozik a „*Blueberry Swirl*” és a „*Fire*” fajták (2. ábra).



2. ábra: Futó árvácska fajták (*Blueberry Swirl*-bal oldali, *Fire*-jobb oldali)(Forrás: INTERNET2)

Közterületen az őszi kiültetések aránya elmarad a tavaszihoz viszonyítva, ugyanis az árvácska sóérzékeny növény, emellett a taposást sem tűri jól. Az összes megnevelt palánta egyharmada kerül kiültetésre ősszel (Schmidt, 2002).

A kerti árvácska azonban nem csak, mint dísnövény használható, hanem például a konyhaművészetben is alkalmazzák ehető virágai által, leginkább salátákba vagy desszertek dekorálására. Nyári italokhoz is adható menta levelével jégkocka formájában.

Szirup is készíthető a virágból, amely jégkrémek, sorbet vagy akár vodka ízesítésére is alkalmas. Európában az árvácskából készített sziruppal ízesíti néhány méhész a termékeit.

További érdekességgént említhető, hogy a korábban úttörőnek számító természetgyógyász, Maud Grieve (1858-1941) a mezei árvácska virágának, magjának és levelének számos jótékony hatásáról számolt be, így például epilepszia, szív működési zavarok, ödéma és különböző légúti gyulladások enyhítésére szolgálhat (INTERNET3).

2.2.2. Termesztéstechnológiája

A kerti árvácskát leginkább generatív úton, tehát magról szaporítják, kiemelt fontosságú tehát a teljes mértékben egészséges, fertőzésmentes és lehetőleg gyommagmentes vetőmag használata. Termesztése során az egyik legnagyobb kihívást jelentheti a magvetések során szükséges alacsony hőmérséklet biztosítása. A növény optimális csírázási hőmérséklete 15-18 C° körül alakul, ennél

magasabb hőmérsékleten csökkenhet a csíraszám és egyenetlen lesz a kelés. A vetés időpontját minden esetben a tervezett virágzási idő határozza meg (INTERNET⁴).

Őszi kivirágztatáshoz például június-július a megfelelő időpont, tavaszi kivirágztatáshoz pedig attól függően, hogy szabadföldi vagy zárt termesztő berendezésben (3. ábra) történik a vetés lehet már augusztus végétől egészen októberig.



3. ábra: Üvegházi nevelés (Forrás: INTERNET⁵)

Szabadföldi vetésre inkább csak a hűvösebb, párásabb klímájú Nyugat-Dunántúl választható. Az úgynevezett palántagyárakban a csíráztató kamrákban gond nélkül tartható az optimális hőmérséklet (18 C°), a növények fényigényét mesterséges megvilágítással biztosítják (Schmidt, 2002).

Nagyjából 7-14 napos csíráztatást követően már a szabadba is kihelyezhetők a szaporítóládák, viszont továbbra is árnyékolást és párásítást igényelnek a növények, egészen a tűzdelésig. A tűzdelés történhet 8-9 cm-es cserepekbe, illetve szabadföldi ágyba egyaránt. A cserepes növényeket begyökeresedésükig árnyékolni kell majd ezt követően nevelhetők szabadban is. Egy részüket ősszel értékesítik, a termesztőknél maradt többi növényt viszont hidegházi, hidegágyi körülmények mellett, fagymentesen telettetik, általában 0-4 C° közötti hőmérsékleten (Schmidt, 2002).



4. ábra: Szabadföldi vetés árnyékolóval (Forrás: INTERNET6)

A tavaszi virágoztatáshoz elterjedt őszi vetés (október) és nevelés során a fagymentességről és szellőztetésről kell gondoskodni, a bimbók megjelenésekor pedig már kissé magasabb hőmérsékletről (INTERNET4).

Kései vetésnél is legtöbbször cserepekbe tűzdelnek és 12-16 C°-os hőmérséklet mellett nagyjából egy hét során megtörténik a gyökeresedés, ezt követi a szintén fagymentes teletetés. Február közepétől kezdik a hajtatast, március közepétől már értékesíthetők a „kész” növények. A bokrosodást, növekedést a hajtatas során folyékony tápoldat adagolásával segítik elő (Schmidt,2002).

A termesztés folyamán időponttól és helytől függetlenül a megnyúlás megakadályozása érdekében alacsony koncentrációjú Cycocellel vagy Alarral 1-3 alkalommal szükséges permetezni, kiemelten a növekedés korai szakaszaiban (INTERNET4).

2.3. Fontosabb betegségei, kártevői

2.3.1. Kórokozói

Legsúlyosabb növényvédelmi problémát jelenthetik a termesztés során a talajlakó növénypatogén gombák, amelyek fertőzése által legtöbbször a növények gyökerei halnak el. A fekete gyökérrothadás betegséget okozó *Thielaviopsis basicola* faj például a növény sárgulásában, zsugorodásában mutatkozik meg.

A *Fusarium oxysporum* var. *aurantiacum* gomba fertőzésekor a növény váratlanul elhervad, rövid időn belül el is pusztul, nem véletlen a kórokozó a fuzáriumos hervadás elnevezést kapta. A

levéllemezeken rozsdaszerű foltokat idézhet elő a *Ramularia lactea*, fehér levélfoltosság gomba (Nagy, 1975). Az említett kórokozóra jellemző tünetek között említhető meg a levélen keletkező 5-8 mm átmérőjű, eleinte sárga, majd kifehéredő foltok, melyek idővel papírvékonyá válnak, illetve a foltokban koncentrikus zonáltság is megfigyelhető, terjedése maggal történik (Martinovich et al., 1975).

Szintén levélfoltosságot tapasztalhatunk a növényeknél *Cercospora violae* Sacc. illetve a *Phyllosticta violae* Desm. fertőzés következményeként.

Több szerző is az árvácska gombás megbetegedését előidéző fajok közé sorolják még a lisztharmat, illetve peronoszpóra fajokat, nevezetesen az *Erysiphe cichoracearum* DC. ex Mérat. és *Peronospora violae* de By képviselőket, melyek közül a lisztharmat igen gyakori megjelenésű a *Viola tricolor*, *cornuta* fajokon továbbá a *wittrockiana* hibridjén, míg a peronoszpóra sokkal ritkábban jelentkezik (Martinovich et al., 1975; Schmidt, 2002).

Teljes fejlődésmenetű rozsdagombája az ibolyaféléknek a *Puccinia violae* DC., legjellegzetesebb tünetei a narancssárga kidudorodások a növények számos részén, például a levélfonákon, száron, csészeleveleken. Ezeket a későbbiekben apró sárga, majd barna foltok követik a levél színi részén, a fonákon szintén barna, de szétporzó képletek, ezek a már kifejlődött teleutotelepekre utalnak. Ilyen formában történik a telelése is. Az ecidiumok képzésekor nem ritkán akár 80-90%-os pusztulást is okozhat, így a védekezés mindenképp szükséges. Fertőzött növények összegyűjtése, megsemmisítése, a szaporításhoz kizárólag egészséges egyedek felhasználása, emellett kora tavasztól biszditio karbamát hatóanyagú fungicidekkel történő kezelések nyújthatnak megfelelő védelmet.

Teliospórákkal fertőző üszöggomba faj az *Urocystis violae* Fisch. v. Waldh.. A föld feletti részek nagy részén okozhat fémesszürke kidudorodásokat, amelyekből felszakadva koromszerű anyag, teliospórák tömege szabadul ki. A fertőzött növényi részek erősen görbültek, deformáltak lehetnek. Maggal is átvihető gomba. A védekezés a rozsdabetegséghez hasonlóan zajlik, ugyanakkor a vetőmagvakat 0,5%-os formaldehid oldatban kell csávázni, állománykezelésre pedig kaptán tartalmú fungicid javasolt (Martinovich et al., 1975).

A kétszikű növényeket fertőző *Botrytis* sp. is megjelenhet az árvácskán, elsősorban a virágon és száron okozva homályos, szürkés színű bevonatot. Virágfertőző mivolta miatt az előregedett virágok eltávolításával is lehet védekezni, emellett a megfelelő állománysűrűség és a légáramlás biztosítása nyújt védelmet. Súlyos fertőzés alkalmával esetleg klorotalonilt, mankocebet vagy rézgombaölő szereket használhatunk fel (INTERNET7).

Atraknózis jellegű tüneteket okoz a *Colletotrichum violae-tricoloris* faj; 3-6 mm-es sötétbarna szegélyű, szürkés közepű foltokat eredményezve. A foltok belsejében koncentrikus zonáltság (5. ábra) tapasztalható.



5. ábra: Antraknózis tünete árvácska levelén (Forrás: INTERNET8)

2.3.2. Kártevői

Szipókás rovarkártevők közül elsősorban a levéltetvek, takácsatkák és tripszek okozhatnak problémát, védekezni viszont inkább csak a levéltetvek ellen indokolt. Utóbbi fajok a vírusbetegségek terjesztésében is szerepet játszanak, potenciális vektor fajok, nevezetesen például az uborka levéltetű (*Aphis gossypii* Glou.). Mindemellett a mézharmat kiválasztásuk által másodlagos fertőzőként korompenész gomba telepedhet meg a növények levélzetén. Az ellenük való védekezés természetes ellenségeik felhasználása mellett, biológiai úton is lehetséges, többek között a mindenki által közismert katica fajokkal (*Coccinellidae*, 6. ábra), illetve a tetürentő fémfürkészek (*Aphelinidae*) családjába tartozó *Aphelinus abdominalis* faj bevethető, a levéltetű gyilkosfürkészek alcsaládjába (*Apidiinae*) pedig kizárólag levéltetveket predáló fajok tartoznak.



6. ábra: Uborka levéltetveket ragadozó Harlekin katica lárva (Forrás: INTERNET9)

A takácsatkák megjelenése kevésbé jellemző, hiszen a száraz, meleg időjárás kedvez a felszaporodásuknak, amelyet egy zárt termesztőberendezésben könnyedén kiküszöbölnek, emellett az őszi szaporítás esetén például erre nincs is szükség.

Kisebb jelentőségű kártevői közé tartozik a gyökérfonálféreg, bundásbogár, ibolyagyökérmányos, illetve gubacsszúnyog. A gubacsszúnyog fertőzés esetén az erősen fertőzött növényeket távolítsuk el a termesztő berendezésből és semmisítsük meg őket. Vegyszeres kezelésre a paration, dimetoát vagy metidation hatóanyagok használhatóak. Megelőzőképpen áprilistól kezdve lindán hatóanyagú szerrel való kezelés segíthet (Martinovich et al., 1975).

2.4. Növényi vírusok felfedezése

A virológia, azon belül is a növényvirológia mára már több, mint 100 éves múltra tekint vissza, a mikrobiológia megjelenésével egyidőben alakult ki. A legelső feljegyzett növénypatogén vírus általi tünet a tulipán színtörése volt (Carolus Clusius, 1576) még a 16.-ik századból, ezen tünetek a későbbiekben több németalföldi festő alkotásain megjelentek, amelyek „Rembrandt-tulipán” néven váltak közzismertté (Érsek, 1998).

Az első részletesen tanulmányozott és leírt növényi vírus a dohánymozaik vírus (TMV) volt, amelyet már a betegségeket előidéző kórokozóként azonosítottak. Adolf Eduard Mayer nevéhez köthetjük azt a kijelentést, miszerint a dohány mozaikbetegségét előidéző kórokozó a növényi nedvekkel képes terjedni. 1892-ben Dmitrij Ivanovskij pedig a fertőzött növényi nedvet baktériumszűrőn átvezetve azt tapasztalta, hogy a minta továbbra is megőrizte fertőzőképességét. Az eredmények alapján Ivanovskij kis baktériumnak, illetve baktérium toxinnak vélte a kórokozót, figyelembe véve azt a megfigyelését is, hogy a fertőzött szövetekben zárványtesteket fedezett fel.

1898-ban, néhány évvel Ivanovskij eredményeit követően, Martinus Willem Beijerinck ugyancsak arra a megállapításra jutott, hogy a fertőzött növényi szövetnedv filtrálás, illetve hígítás után is fertőzőképes maradt. Beijerinck már azt is megállapította, hogy a tanulmányozott patogén különbözik a baktériumoktól és valamilyen fogékony ragályanyagnak (*contagium vivum fluidum*), illetve a latin virus szó alapján méregnek nevezte (Beijerinck, 1898). A mai, valójában helytelen elnevezés, tehát Beijerinck nevéhez köthető.

A 20.-ik század második felére égetővé vált, hogy egy teljesen átfogó és hivatalos taxonómia kerüljön kiadásra a virológia területén, ezért az 1966-ban, Moszkvában ülésezett nemzetközi kongresszusa és a mikrobiológiai csoportok nemzetközi egyesülete (IAMS) megalapította az akkori a vírusok névjegyzékéért felelős nemzetközi bizottságot (ICNV), amely 1974-ben a ma is élő a vírusok taxonómiájáért felelős nemzetközi bizottság (ICTV) nevet viseli (INTERNET10).

A szervezet vezetésével 2005-ben látott napvilágot a vírus taxonómia elnevezésű könyv, amely széleskörűen mutatja be az eddig feljegyzett mintegy 1938 vírus fajt, 287 nemzetségét, 9 alcsaládot, 73 családot; magában foglalva természetesen a növényeket fertőző fajok mellett, az állat- és humánpatogén vírusokat egyaránt (INTERNET11).

2.4.1. Növénypatogén vírus fogalma, felépítése

A vírusok maguk fertőző genetikai információk, az élő anyag szerveződésének legegyszerűbb formái, amelyek életciklusa két szakaszra bontható. A még sejten kívüli, inaktív formát virionként, míg a sejten belüli, önmagát megsokszorozó vírust vegetatív vírusként különítjük el.

A virion egyrészt áll egy szabályos elrendeződést mutató fehérjeburokból, illetve a fehérjeburok közé foglalt nukleinsavláncból, amely lehet dezoxiribonukleinsav és ribonukleinsav (DNS, RNS) egyaránt. A nukleinsav felelős a fertőzőképességért (Érsek, 1985).

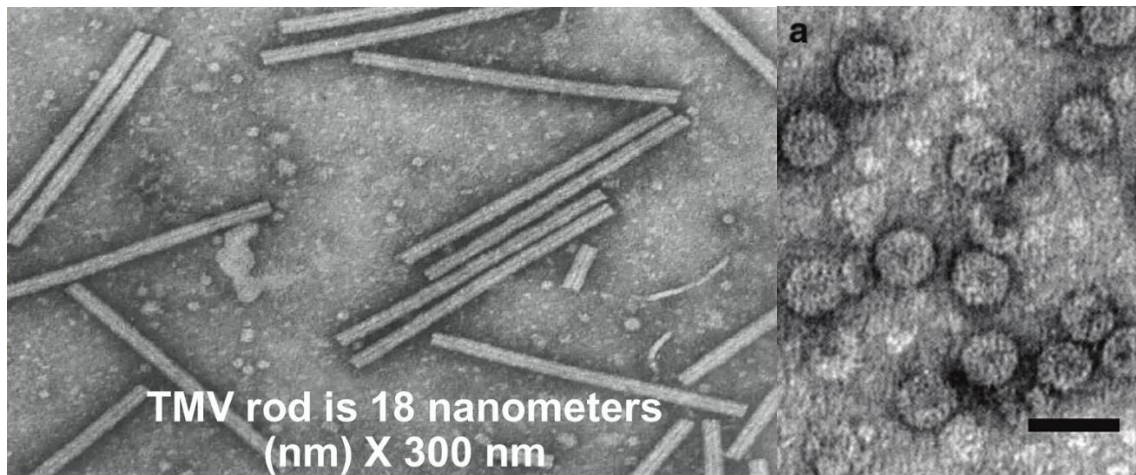
A fehérjeburok vagy más néven kapszid kapszomerekből (monomerekből) épül föl, a kapszomer a nukleinsavval együtt pedig alkotja a nukleokapszidot (Réczey, 2008).

Jelen állás szerint nagyjából 1200 vírus ismert, ezek sokféle taxonómiai csoportba oszthatók. Gazdasági kártételüket tekintve körülbelül 250 fajt tartanak számon, amelyek jelentős terméseszkendést okozhatnak a szántóföldi és kertészti növényeknél.

A növénypatogén vírusok genomja lehet egy- vagy kétszálú; pozitív, illetve negatív polaritású. Ezenfelül a nukleinsavszál szensz, antiszensz a leolvasás iránya alapján vagy esetleg mindkettő tulajdonságait magán hordozhatja. A növényfertőző vírusok 70 %-ának genomjában az örökítő anyag RNS, így ebben általában különböznek a humán- és állatpatogén vírusoktól, amelyek DNS-t tartalmaznak (Heszky, 2014).

A vírusok alakját tekintve az elektronmikroszkópos képek és a vizsgálati módszerek, különösképpen a virionok negatív festése adtak megfelelő támpontot. A virionok minimális részénél (elsősorban Rhabdoviridae, Tospoviridae) megfigyelhető egy lipo- vagy glikoproteid burok, ezek inkább a humán- és állatpatogén vírusokkal mutatnak rokonságot. A növényeket fertőző vírusok döntő hányadánál ez a burok hiányzik (Érsek, 1998).

A korszerű felvételezés alapján két csoportra osztották a virionokat. Az egyik esetben ezek merev pálcika vagy hajlékony fonál alakúak (7. ábra), itt a köpenyfehérje alegységek, kapszomerek csigavonalat követve helyezkednek el, ezeket helikális vírusoknak nevezzük. A másik csoport esetében az alegységek közel gömb alakban helyezkednek el, ezeket izometrikus virionoknak nevezték el. Az osztályozás, rendszerezés egyik kezdetleges alapját jelentette ez a formabeli különbözőség (Érsek 1998).



7. ábra: TMV vírus (bal) és CMV vírus (jobb) elektronmikroszkópos képe (Forrás: INTERNET12)

A növénypatogén vírusok genomja lehet egykomponensű, osztatlan, illetve többkomponensű, osztott. Utóbbi esetben a különálló nukleinsav darabok egymástól elhatároltan burkolódnak be, de ugyanazon fehérje alegységekkel. Érdekesség a multikomponensű vírusoknál, hogy a fertőzőképesség csak akkor jelentkezik, ha az összes komponens együttesen, egyidőben jelen van (Érsek, 1998).

2.4.2. Növénypatogén vírusok replikációja, terjedése

A növényi vírusok, az egyéb élő szervezeteket parazitáló hasonló fajokhoz, önálló replikációs és reprodukciós mechanizmusokra nem képesek. A vírusreplikáció tulajdonképpen a vírusnukleinsav-láncok megsokszorozódása, mely folyamat a sejtmagban zajlik.

A vírusok önmaguk nem rendelkeznek nukleinsav-, és fehérjeszintetizáló képességgel, e tekintetben teljes mértékben a gazdaszervezetre utaltak, anyagaik előállításához annak enzimbizetét használják fel. A virionok bioszintéziséhez vezető mechanizmusok összességét produktív infekciónak hívjuk, amely 6 szakaszra bontható: adszorpció, penetráció, dekapszidáció, eklipszis, maturáció, és végül kiszabadulás (Horváth, 1999).

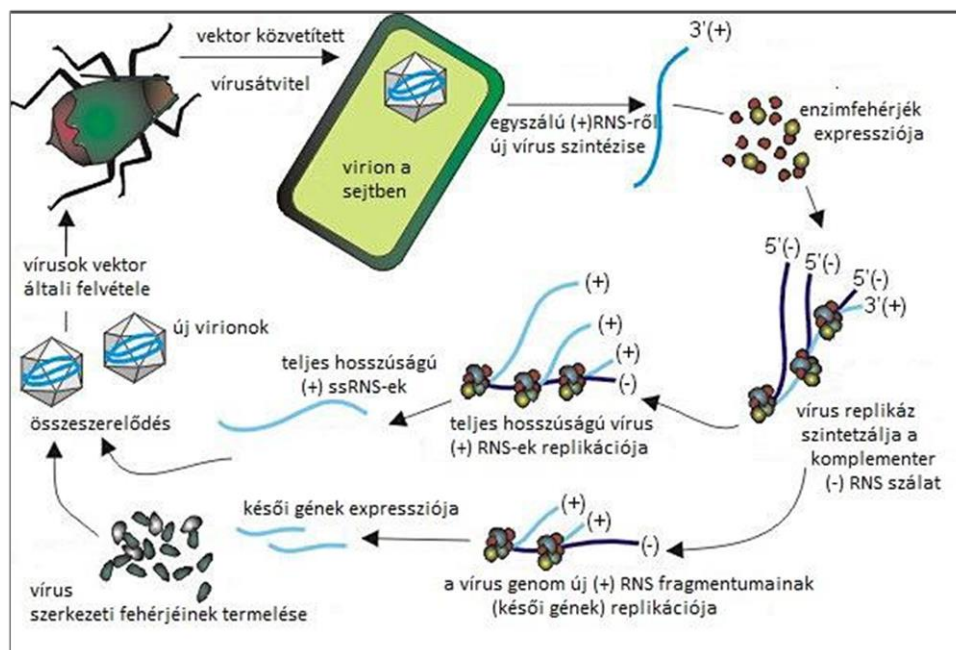
Az adszorpció fázis során a virion és a gazdasejt között stabil kötődés alakul ki. A növényfertőző vírusok passzív módon képesek csak eljutni a még egészséges gazdasejthez és az abba való behatolás során (penetráció) is szükséges valamilyen segítő mechanizmus, például fagocitózis vagy olyan vektor használata, amely egyenesen a sejtbe hatol.

A harmadik szakasz során a dekapszidáció történik, ami egyet jelent a vírus fehérjeburkának elemésztésével, ehhez egy kapszidbontó enzim szükséges, mely elvégzi a fehérjeburok

deproteinizálódását. Ez feltétlenül szükséges ahhoz, hogy az új vírusok keletkezéséhez a nukleinsav teljes egészében hozzáférhető legyen az enzimek számára.

A negyedik lépés, az eklipszis során zajlanak le azok a szintetikus folyamatok, amely során a vírus nukleinsavban tárolt információja alapján, a gazda polimeráz enzimjeinek segítségével szintetizálódnak az új vírus elemei. Legtöbbször a pozitív szálról először egy negatív szál szintetizálódik, majd arról nagy számú új pozitív szál képződik, így történik a nukleinsav megsokszorozódása, replikációja.

A maturáció alatt a szintetizálódott nukleinsav és fehérje virionná épülnek össze (assembly), a folyamat végeredményeként jelennek meg a teljesen új virionok, amelyek a gazdasejtben szabadon vagy zárványok formájában halmozódhatnak föl. Az összeépülés a növényvírusok esetében nem minden esetben megy végbe, hiszen a plazmodezmákon át történő terjedéshez a virion létrehozása nem nélkülözhetetlen. Az utolsó fázisban, a kiszabadulás során a fertőzőképes vírus vagy virion kijut a sejtből (8. ábra).



8. ábra: A produktív replikáció folyamata (Forrás: INTERNET13)

Az RNS vírusok esetében a replikáció szemikonzervatív, tehát csak az egyik szál alkalmas az új nukleinsavlánc kialakítására. Ezzel szemben a DNS vírusok a messenger RNS-sel egyenértékű, új RNS darabokat is létrehoznak, amelyet transzkripciónak nevezünk. Ideiglenesen előfordulnak kettős, továbbá hármas szálú nukleinsav láncok, ezek a replikációs formák vagy intermedierek (Érsek, 1985).

2.4.3. Vírusátvitel

A növényi vírusok önmaguk által képtelenek bejutni adott növénybe, illetve újabbakat megfertőzni, mindenképpen szükség van valamilyen mechanikai sérülésre, sebzésre a növények felületén, tehát passzív folyamatról beszélhetünk. A terjedés történhet anélkül is, hogy a vírus elhagyná a növényt, ez történik a vegetatív szaporítás során, hiszen a már fertőzött növényi rész új területre kerül. A generatív szaporítás során is történhet a tovább terjedés, tehát akár a mag külső (perikarpium), akár belső (endospermium) sejtjeiből kiindulva fertőzheti a csíranövényt (Heszky, 2014).

Növényről növényre való terjedés, viszont csakis mechanikai sérülés, továbbá élő szervezetek közreműködésével valósulhat meg, utóbbiakat vektoroknak nevezzük. Az átviteli mód adott vírusra, víruscsoportra jellemző és egyetlen fajnak is többféle módon végbemehet (Érsek, 1998).

Az egyik fontos átviteli forma, amikor a közvetlen fertőzés sebzéseken, sérüléseken keresztül történik, ezt mechanikai átvitelnek nevezzük. Okozhatja ezt növényápolási munkák során például a mirigyszőrök letörése, vagy a metszés, emellett a talajmunkák elvégzése során a gyökérzet sérülésein át is bejuthat a kórokozó. Az időjárás is előidézhethet ilyen bejutási pontokat, például a szél vagy a jégverés.

Az átvitelnek egy sokkal speciálisabb, viszont ezzel együtt ritkább módja is, amikor élősködő növények, konkrétan az aranka fajok (*Cuscuta spp.*, 8. ábra) hausztóriumaiuk segítségével képesek felvenni, majd leadni a virionokat.



9. ábra: Aranka fertőzés parlagon hagyott területen (INTERNET14)

A vektorral történő vírusterjesztési mód a leggyakoribb a természetben, történhet ez akár talajlakó gombákkal, például a cukorrépa rizómánia nevezetű betegségét előidéző répa nekrotikus sárgaerűség vírusát a *Polymyxa betae* rajzóspórái terjeszthetik. A talajlakó élőlények közül a fonálférgék számítanak a legjelentősebbnek. A *Trichodorus*, *Xiphinema* és *Longidorus* fajok képesek vírusok átadására. A vektorok legnépesebb csoportját azonban kétségkívül a rovarok teszik ki, azok között is inkább a szűrő-szívó szájszervvel rendelkező fajok alkalmasak járványok kialakítására, itt már magas fokúnak tekinthető a specializáltság kórokozó és vektora között.

Legnagyobb mértékű fertőzéseket általában a szinte mindenféle kultúrnövényen vagy például gyomnövényeken megjelenő és táplálkozó levéltetvek okozzák. A vírusok ráadásul a szűrő-szívó szájszerves rovarok által többféleképpen is képesek terjedni (INTERNET15).

Az egyik lehetőség, amikor a víusrészecskék csak a szűrősertén (*styletum*) tapadnak meg, a rovar testébe, emésztőrendszerébe nem kerül be, ezt a formát stylet borne átvitelnek vagy nem cirkulatív átvitelnek is hívják. Ebben az esetben már egyetlen próbászívást követően is fertőzőképessé válik az egyed, tehát a próba- és fertőző szívás között nincsen látenciaidő. A potyvirusokra jellemző ez a terjedési mód, illetve a levéltetvek által terjesztett búza csíkos mozaik vírusnál (WSMV) is ugyanezt tapasztalták. A védekezés ebben az esetben a legkomplikáltabb, hiszen nem számítható ki előre a természetes terjedés ideje, az adott vektor faj tömeges megjelenésének időpontjára kell igazítani azt.

A nem cirkulatív átvitelnek két alcsoportját jelenti a nem perzisztens, illetve a félig perzisztens (szemiperzisztens) forma. A nem perzisztens terjedésnél a kórokozó felvétele néhány perc, míg az utóbbi esetben néhány óra is szükséges. A fertőző szívást nézve a nem perzisztens vírusoknak pár másodperc, miközben a szemiperzisztens vírusoknál ez perceket vesz igénybe. Mindazonáltal viszont a nem perzisztens vírusok hamarabb elvesztik a fertőzőképességüket, szemiperzisztens rokonaikhoz képest.

A másik nagy csoportja az átviteli formáknak a cirkulatív vagy perzisztens típusú átvitel, ahol a víusrészecskék már az emésztőszervrendszerbe is bejutnak és onnan transzlokálódnak a nyálmirigyekbe. A legfontosabb különbség a nem cirkulatív átvittel szemben, hogy itt a felvételi és a fertőző szívás között jól mérhető látenciaidő figyelhető meg. A cirkulatív átvitel tovább bontható szintén két alcsoportra, az egyik a csak cirkulatív, míg a másik az úgynevezett propagatív forma. Jelen esetben a különbség abban rejlik, hogy a propagatív vírusok a vektor szervezetében nem csak keringenek, hanem felszaporodni is képesek.

Mindkét esetben biztosított a kórokozó hosszú távú fennmaradása a vektor szervezetében, a propagatív vírusoknál a fertőzőképesség a vektor teljes élete során megmaradhat (Érsek, 1998).

2.4.4. Fertőzések tüneti diagnosztikája

A növényeket fertőző kórokozó fájának pontos meghatározásához mindenképpen szükségesek a laborvizsgálatok, hiszen sok esetben a szabad szemmel látható szimptómák alapján lehetetlen lenne elkülöníteni őket. A vírusok esetében sincsen ez másképp, itt ugyanis ráadásul nagyon gyakori, hogy együttes fertőzést tapasztalnak, sok faj egyidőben megfigyelhető az adott növényben, viszont a különböző életciklusuk miatt a fertőzések kis hányadának van csak végzetes hatása a gazda sorsára.

Akut fertőzés során súlyos tünetek jelentkeznek, amelyek letálisak lehetnek a gazdanövényre nézve, ezzel szemben például perzisztens fertőzés során a kórokozó hosszú ideig életben maradhat a gazdanövényben enyhe tüneteket okozva, de időnként látens is maradhat. Akut fertőzések során lehet számítani komoly gazdasági vagy ökológiai kárra, ezért több kutatás is irányult a kétféle fertőzési mód közötti eltérések azonosítására (Éva, 2020).

Várallyay et al. (2020) kísérleteikben azt tapasztalták, hogy a vizsgált növényeknél (*Nicotiana benthamiana*, *Solanum lycopersicum*) a perzisztens fertőzéshez képest az akut fertőzésnél a gazdanövény génjeinek expressziója jelentősen csökkent (shut off), továbbá arra is fényt derítettek, hogy a változások nem a fertőzés által okozott nekrosis következményei, és függetlenek a virális géncsendesítést gátló fehérje jelenlététől.

Kompatibilis vírus-növény kapcsolat során a kórokozó képes hatékonyan elterjedni a gazdaszervezetben és ezt követően megváltoztatni annak génexpressziós rendszerét, ami végül a tünetek kialakulásához vezetnek (Jaksa-Czotter, 2019).

A tünetek egy része szabad szemmel is észlelhető, ezeket makroszimptómáknak nevezzük. A csakis mikroszkóppal (elektronmikroszkóppal) vizsgálható elváltozásokat pedig mikroszimptómaként ismertek.

A látható tünetek között is tudunk különbséget tenni, azokat amelyek a fertőzés közvetlen helyén képződnek, lokális szimptómának, amelyek viszont a fertőzött növény egyéb, távolabb eső részein is megjelennek lesznek a szisztemikus szimptómák, ez arra utal hogy a kórokozó már tovább terjedt a gazdanövényben.

A lokálisan jelentkező tünetek a fertőzhető és a megfertőzött helyek számáról is árulkodnak (fertőzésfogékonyság), például a klorofill helyi bomlása által kialakuló sárgulások, a lokális klorózisok (10. ábra). A lokális léziók (keményítő léziók), illetve nekrosisok a hiperszenzitív reakció eredményei, ekkor az inkompatibilitás miatt a fertőzött sejt hirtelen pusztulása következik be, amely

folyamat pedig a kórokozó lokalizálásával jár (Érsek, 1998). Ezt egyre többen a növény saját védekezési mechanizmusának tekintik, erről majd a következő fejezetben térek ki részletesebben.



10. ábra: Óbuda paprika vírus okozta tünetek paprikán (Forrás: INTERNET16)

A szisztemikus tünetek rendkívül változatos formában jelentkezhetnek, ezek a kompatibilitás során alakulnak ki. A legáltalánosabbak talán a sárgulás, mozaik- vagy gyűrűsfoltosság, érnekrózisok. Gyűrűs foltokat okozhat a TRSV vírus dohányon, érkivilágosodást, majd érnekrózist idézhet elő szintén dohány növényen a PVY érbarnulást kiváltó törzse, továbbá szisztemikus nektrózisokat a paradicsomon a TSWV vírus generálhat (Érsek, 1998).

Sok esetben nem csak a vegetatív, hanem a generatív növényi részeken is jelentkeznek a tünetek, mint például a PPV vírus kajszi csontthéján is megfigyelhető besüppedő, gyűrűs foltok.

Amennyiben a vírusos fertőzés kizárólag szöveti vagy sejtszinten idéz elő elváltozásokat, mikroszimptomákról beszélünk. Itt is nagy változatosságot mutathatnak a kórképek, aszerint hogy kompatibilis vagy inkompatibilis kapcsolat alakul ki növény és kórokozó között.

Előbbi esetben igen gyakori lehet a kloroplasztiszok károsodása. A kloroplasztiszok száma rendszerint lecsökken, deformáltak és duzzadtak lesznek, emellett belsejükben ozmofil granulátumok és keményítő zárványok halmozódnak föl. A zárványok deformálják

végegredményben a kloroplasztiszok struktúráját, amelyek gyakran torz és kerek formájúak a klorotikus sejtekben. A zárványtestek egyedi csoportját alkotják a potyvirus-ok replikációja során a citoplazmában felhalmozódó tűkerék zárványtestek (Érsek, 1998).

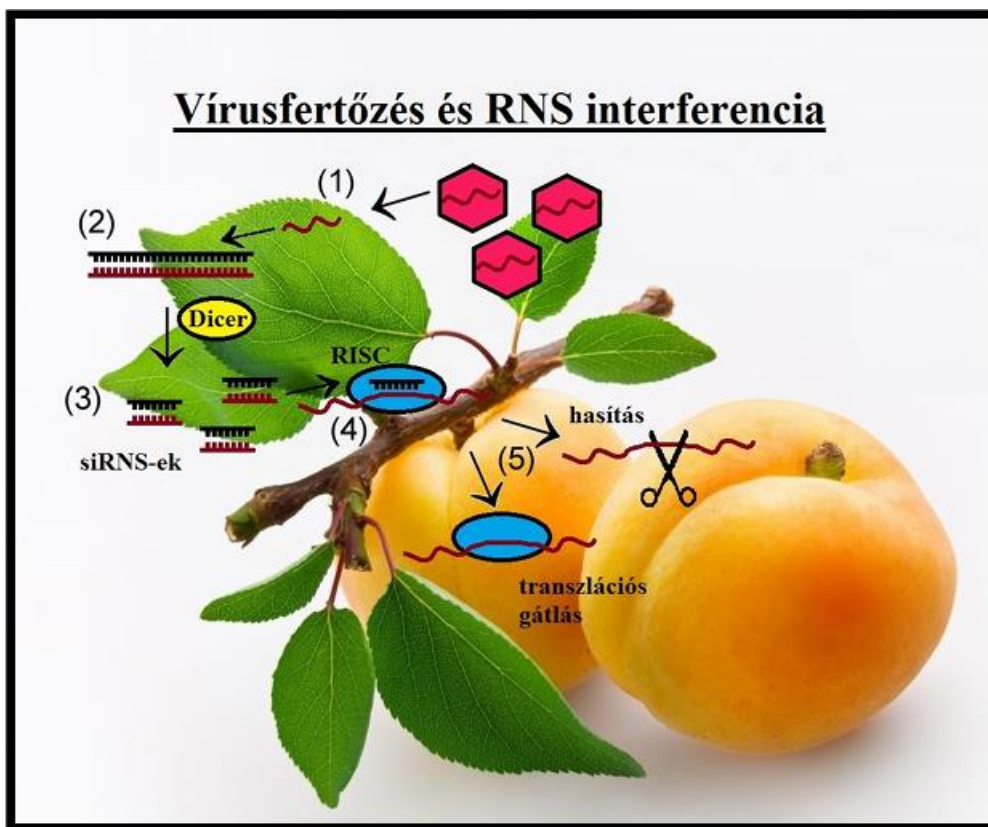
További szövettani rendellenességeként a rostacsövek nekrozisa vagy a floem hipertrófia említhető (Esau, 1967; Schmidt, 1980). Fertőzött növénynél gyakori jelenség a sejt falának megvastagodása is, amelynek oka a sejt fenil-propanoid anyagcsere-folyamatainak kóros megváltozása. A növény a mérgező vegyületek felhalmozódását úgy akadályozza meg, hogy a sejtfalban található enzimei segítségével átalakítja azokat ligninné vagy egyéb polimerekké, ezáltal azokat a sejt anyagformából kivonja. A sejtfal vastagodás pedig ezen anyagok kiválása, majd lerakódása által következik be (Mc Mullen et al., 1978). A plazmodezmák szerkezetében is megfigyelhető deformáció, a fertőzés hatására. A plazmodezmák átmérőjének jelentős növekedése által például a virionok sejtről sejtre történő mozgása lehetővé válik (Davison, 1969).

Inkompatibilitás fellépésekor jellemzőek a sejthalállal kapcsolatos elváltozások, melyek a lokális léziók környékén, azok belsejében mennek végbe. A léziók megjelenésekor a membránok károsodása megkezdődik, az alakos elemek eltávolodnak a sejt falától, eközben a sejtelemek dezorganizálódnak. A légzés intenzitása fokozódik, amire a mitokondriumok növekvő száma ad magyarázatot (Érsek, 1998).

2.4.5. A növények védekezési reakciói vírushajtózkor

A növények több módon is képesek arra, hogy a vírushajtózkok által okozott betegségek kifejlődését korlátozzák. Egyrészt passzív rezisztenciáról lehet szó, amikor a növényből úgymond hiányzik a fogékonyági faktor, illetve azon védelmi vonalakról, amelyeken a vírusnak át kell „küzdnie” magát. Ha a kórokozó túl is jut számos fizikai, kémiai barrieren, még mindig ott van a gazdaszervezetnek a nem specifikus védekező reakciója, amellyel a különböző patogénekben általánosan meglévő molekuláris mintázatokra reagál. A vírusok tehát jellemzően akkor tudnak fertőzést indukálni, hogyha az evolúció során virulencia faktorokra tettek szert, amelyekkel ellensúlyozni tudják ezt az alapvető növényi védekezést. A növények evolúciójuk során, viszont erre is reagálva már fajspecifikus védelmi vonalat aktiváltak, amely csak akkor „kapcsol” be, amikor az adott virulencia faktorért felelős vírussal találkozik. Azon gazdaszervezetekben, ahol ez a szintű védelmi funkció nem működik, ott létrejöhet a kórokozó általi fertőzés (Pallas, 2011).

Egy másik út, amely válaszreakciót indít meg a növényben a virális RNS által indukálódik, a folyamat pedig az RNS csendesítés, RNS interferencia megnevezést kapta (11. ábra).



11. ábra: A vírusfertőzés következtében kialakuló növényi RNS interferencia lépései: (1) vírus bejutása (2) vírus eredetű dsRNS-ek keletkezése (3) siRNS-ek keletkezése (4) siRNS szálak RISC komplexbe épülése (5) komplementer RNS-ek hatástalanítása (Forrás: Balássy, 2016)

A mechanizmus lényege, hogy a vírus replikációja során képződött duplaszálú vírus eredetű RNS-eket a növények képesek felismerni és hatástalanítani. Első lépésként a növényi Dicer komplex a duplaszálú virális RNS-t 21-24 nukleotid hosszúságú, kis interferáló RNS-ekre (siRNS) hasítja.

Ezt követően kap szerepet az úgynevezett RISC enzim komplex (RNS induced silencing complex), amelybe az interferáló RNS egyik szála beépül és az enzim egyfelől gátolhatja a szállal komplementer szekvenciák transzlációját, vagy pedig hasítja azokat, amelyek ennek köszönhetően védtelenné válnak a nukleinsav bontására képes nukleázokkal szemben. Az így „csendesített” vírus RNS-ekről fehérje már nem fog képződni, tehát a vírus megsokszorozódása ellehetetlenül (Parent et al., 2012).

A növényi ellenállóképesség egyik leginkább tanulmányozott formája a hiperszenzitív reakció. Ilyenkor a fertőzés helyén néhány sejt, tehát egy viszonylag kis szövetrész hirtelen elhal,

nekrotizálódik. Ezáltal a kórokozó nem tud felszaporodni és tovább terjedni a gazdaszervezetben, hatásos gátlást szenved. A jelenség felfedezője H. M. Ward (1902) volt, aki a pázsitfűfélék rozsdabetegségeivel kapcsolatban figyelt fel erre a típusú ellenálló képességre.

A reakció specifikussága egy igen fontos jellemző, hiszen csak némely gazdanövénytörzseknél (fajták) jelentkezik ez a „rezisztencia” és csak bizonyos kórokozó törzsekkel, azaz rasszokkal szemben. A növénynemesítés szempontjából ez a magas fokú specializáltság hátránként tudható be.

A HR típusú rezisztencia akkor jöhet létre, amikor a növényben lévő rezisztenciagén kapcsolatba kerül a kórokozó úgynevezett avirulencia génjével, voltaképpen a géntermékek reagálnak egymással. Az eredmény a növény ellenállósága, ami a rezisztencia "gén-gén kapcsolati hipotézisének" (gene-for-gene hypothesis, Flor, 1971) lényege. Fontos kérdésként merült föl a kutatókban, hogy vajon a HR aktív része az ellenálló képességnek, vagy csak indikátora a rezisztenciának.

Király et al. (1972) kísérleteikben arra a következtetésre jutottak, hogy egy gombakórokozóval szemben a HR reakció a burgonya rezisztenciájának következménye, és nem pedig az oka. Későbbiekben további tanulmányok kapcsán is hasonló megállapítást tettek, többek között baktériumos (Yu et al., 1998) és vírusbetegségek (Bendahmane et al., 1999; Cole et al., 2001; Schoelz et al., 2003) rezisztenciájával kapcsolatban egyaránt. Elmondható tehát, hogy a hiperszenzitív reakció során lezajló nekrózis és a patogén gátlása két különböző reakciója a rezisztens növénynek.

2.4.6. A növényi vírusok kimutatása

A növényvirológia kialakulását követő néhány évtizedben a vírushatások kimutatása kizárólag vizuális alapon, a tünetek felvételezésével történt, ez volt a biológiai diagnosztika. Az adott kórokozó faj pontos beazonosítása, viszont ilyen módon problémába ütközik, hiszen egy komplex fertőzés során például a különböző kórokozók egymásra antagonisták vagy éppen additív módon hathatnak. A már korábban is említett elektronmikroszkóp feltalálása és alkalmazása hatalmas előrelépést jelentett ezen a téren is, a kórokozók elkülönítése alakjuk, szerkezetük és összetételük alapján lehetővé vált (Horváth, 1999).

A műszer és a még modernebb módszerek kombinálása lehetővé tette a pontos meghatározást, rendszertani besorolást. Nagy számú minta feldolgozására ellenben magas költségigénye miatt nem igazán alkalmas (Király, 2014).

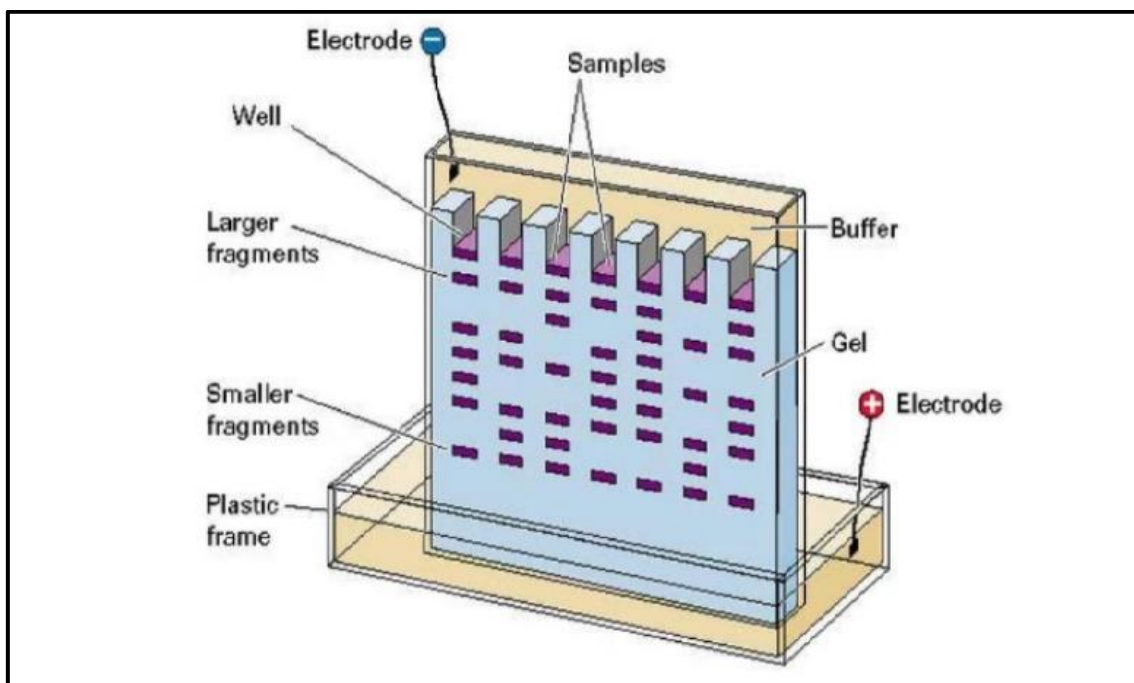
Az egyik leggyakrabban használt módszer a diagnosztikában a szerológiai vizsgálatok lettek, amelyek alapja az antigén-antitest reakció. Köztük is a leginkább elterjedt az úgynevezett ELISA

teszt (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), amelyet elsőként Avrameas (1969) alkalmazott a növénypatogén vírusok kimutatására. Tömeges vizsgálatok esetén is gazdaságosan kivitelezhető, amely szempont alapján az első helyen szerepelt a hasonló típusú vizsgálatok között. Kísérletünkben szintén ELISA tesztet végeztünk a lehetséges fertőzések megállapítására, ezért az eljárás pontos menetére az anyag és módszer című fejezetben térek ki.

A harmadik és egyben legújabb csoportba tartoznak az úgynevezett nukleinsav alapú, in vitro meghatározási módszerek. Hibridizációs és amplifikációs eljárásokkal a DNS és RNS vírusok egyaránt kimutathatók és jellemezhetők. A sikeres detektálás alapja a keresett kórokozó örökítőanyagának, genomjának legalább részleges szekvenciaismerete. A nukleinsav-hibridizációs eljárásokhoz a purin-pirimidinbázisok komplementaritását hívják segítségül.

A Southern-, Northern- és dot-blot-hibridizáció pedig általánosan elterjedté vált módszerek a növényvirológiában, ráadásul ezen eljárások segítségével sikerült kimutatni elsőként a BYDV (Barley yellow dwarf virus) és a WSMV (Wheat streak mosaic virus) vírusokat (Habibi et al., 1987; Sherwood, 1987).

A polimeráz láncreakció (PCR) eljárásokat szekvenciaspecifikus amplifikációra használhatjuk, ha a kimutatni kívánt nukleinsav kis mennyiségben van jelen. Az automatizált folyamat során, mely ciklikusan ismétlődik a termékek mennyisége exponenciálisan növekszik, ezért akár pikogramm mennyiségű kiindulási nukleinsav is elegendő az eredményhez. A felszaporított DNS szakaszt a későbbiekben gélelektroforézissel (12. ábra) kimutatható.



12. ábra: Gélelektroforézis működési elve (Forrás: INTERNET17)

A módszert Kary Mullis vegyész dolgozta ki 1983-ban, amelyért 10 évvel később Nobel-díjat kapott (Mullis és Faloona, 1987).

A PCR használata gyorsan elterjedt a vírusdiagnosztikában, hiszen erősen specifikus, rövid időn belül (akár 4-6 óra) eredményt ad és hogyha sikerül optimalizálni a reakció paramétereit, akkor akár egyidőben többféle vírus is detektálható ugyanazon növényi mintából (Deb és Anderson, 2008).

A szerológiai módszerek érzékenységét is meghaladó specifikussága, azonban hátrányt is jelenthet, mivel könnyen félrevezető következtetéseket lehet levonni a gélfotó alapján.

A hagyományos PCR inkább minőségi, mintsem mennyiségi eredményt ad, tehát a fertőzöttség tényét igazolja, viszont annak mértékét még megbecsülni is nehéz.

A qRT-PCR (quantitative real time PCR), egy precízebb változata, viszont már kiküszöböli ezt a problémát is, így a nukleinsavamplifikációt az egyik legmegbízhatóbb diagnosztikai módszerré teszi. A legtöbb gabonavírus kimutatásánál sikerrel alkalmazták az eddigiekben ((Malmstrom és Shu, 2004; Mumford és mtsai, 2004; Jarosova és Kundu, 2010).

A kísérletben szereplő 6 db növénypatogén vírus közül legjobban tanulmányozott faj a dohány mozaik vírus (*TMV-Tobacco mosaic virus*), amely egyértelműen polifág természetű, tehát széles gazdanövénykörrel rendelkezik és tipikus mozaik tüneteket okoz például a fogékony dohány növényeken, időnként ez teljes növénypusztuláshoz is vezethet. Ez volt a legelső növényi vírus, amelyről elektronmikroszkópos felvételt készítettek, illetve kristályos formában tisztítottak (Érsek, 1985).

A virionjai merev, pálcika alakú, helikális szerkezetűek és egykomponensűek. Átvitel tekintetében mechanikai úton könnyen tud terjedni, de emellett még akár magvak felületére tapadva, a szaporítóanyaggal is képes tovább fertőzni. Speciálisabb átviteli lehetőségként még szóba jöhet az aranka fajokkal, mint élősködő gyomnövényekkel való fertőzés.

A *Virgaviridae* családba és a *Tobamovirus* nemzetségbe sorolták, rendkívül széles gazdanövénykörét nézve pedig elmondható, hogy leggyakrabban a burgonyafélék (*Solanaceae*) családját fertőzi, azon belül pedig a különböző dohány fajok emelhetők ki, de emellett a paradicsomon, paprikán, uborkán, sőt számos dísnövényen is képes tüneteket produkálni.

A begyűjtött árvácska mintákban a szilva törpülés vírust (*PDV-Prune dwarf virus*) is próbáltuk azonosítani, amely a csonthéjas gyümölcsfélék gazdasági oldalról tekintve egyik legjelentősebb vírusbetegsége.

Virionja izometrikus, 3 db, egyszálú, burok nélküli RNS, tehát multikomponensű víusról van szó, amely szemzéssel, oltással és esetleg pollennel is terjedhet.

A PDV-t a *Bromoviridae* család, *Ilarvirus* genuszába sorolták a család 6 nemzetsége közül. Az *Ilarvirus* nemzetség, pedig 19 fajt tartalmaz (INTERNET18). Az elnevezésből kiindulva logikusan elsőként szilván írták le a tüneteit, annak ellenére, hogy más csonthéjas gyümölcsfajon sokkalta gyakoribb, így például cseresznye vagy meggyfákon. Jelentősebb termés kiesést inkább csak más vírusfajokkal való együttes fertőzéskor okoz.

A makroszimptómák között előfordul a klorózis, levéltorzulás, gyűrűs foltok, esetleg mézgafolyás is tapasztalható, a törpülés viszont nagymértékben gazdanövényfüggő.

A következő, fontosabb vírus, amit kerestünk a burgonya Y vírusa, amely a dohány mozaikhoz hasonlóan szintén polifág természetű, mintegy 400 gazdanövényét írtak már le, 31 növénycsalád, 72 nemzetségéből.

A virionok helikális, fonál alakúak, egyszálú RNS-ből álló, egykomponensű és burok nélküliek. Az átvitelnél előfordulhat mechanikai úton való terjedés, burgonya esetében a vegetatív szaporítóanyaggal, tehát gumóval is végbe mehet, emellett a vírus 4 törzse közül a PVY^C, C törzset kivéve a zöld őszibarack-levéltetű egy fontos vektora a kórokozónak.

A PVY a *Potyviridae* család, *Potyvirus* nemzetségébe tartozik, amely genusz a gazdaságilag talán legfontosabb vírusokat foglalja magába, például ide tartozik még a cukornád mozaik vírus (SCMC) vagy a szilvahimlő vírus (PPV) is (Érsek, 1998). A kórokozó az *Amaranthaceae*, *Chenopodiaceae* és természetesen a *Solanaceae* növénycsaládokat fertőzi és egyik legjelentősebb gazdanövénye a burgonya (*Solanum tuberosum*), köszönhetően az igen széles körben való elterjedtségének.

A tünetek legtöbbször mozaikfoltosság, érkielégosodás, levéldeformációként jelentkeznek, illetve a burgonya gumóján kialakuló nekrosisok is utalhatnak erre a patogénre.

A lucerna mozaik vírus (AMV- *Alfalfa mosaic virus*) ismét egy polifág kórokozó, 70 növénycsalád közel 600 fajánál állapítottak meg valamilyen szintű fogékonyságot.

Virionjai bacillus alakú, 4 komponensből álló, tehát multikomponensűek, illetve egyszálú, burok nélküli RNS alkotja a genomját. Sokféleképpen megtörténhet az átvitele, elsősorban a mechanikai, maggal (akár 60%-ot is elérheti) és vektorokkal történő fertőzés a jellemzőbb, de itt is fertőzési forrást jelenthetnek az aranka (*Cuscuta spp.*) fajok. A vektorok közül pedig leginkább a zöld őszibarack-levéltetű terjeszti, az úgynevezett stylet-borne átvittel, de a fekete répalévéltetű vagy a zölborsó-levéltetű is vektora lehet (INTERNET19).

Az AMV kórokozóját a *Bromoviridae* családjának *Alfavirus* nemzetségébe sorolták. A legfontosabb gazdanövénye az elsősorban szálas takarmányként hasznosított lucerna (*Medicago sativa*), de zöldségnövényeken is okozhat súlyosabb elváltozásokat. A megfigyelt tünetek között szerepel a mozaikfoltosság, levélfodrosodás és a levelek normálshoz képest kis mérete.

Az uborka mozaik vírus (CMV-*Cucumber mosaic virus*) megint csak egy polifág, sok gazdanövényes faj. A fogékony fajoknak a száma megközelíti az ezret is.

Ennek a kórokozónak izometrikus, három komponensből álló, azaz osztott genomú virionja van, amely szintén egyszálú, burok nélküli RNS vírust alkot. Az átviteli formák közül kiemelhető a maggal való terjedés, mivel mintegy 19 növényfajnál figyelték meg ezt a típusú terjedési módot. A patogén emellett mechanikai úton és vektorral nem perzisztens módon is tud tovább fertőzni.

Az uborka mozaik vírus a *Bromoviridae* család *Cucumovirus* genuszába tartozik, leginkább a zöldségnövényeknél okoz súlyosabb problémákat, az uborka mellett például a salátát, spenótot is fertőzi.

Jellegzetes tünete lehet a fejlődésgátlás, salátánál elmaradhat a fejesedése a növénynek, ezen felül a tipikusabb makroszimptómák, mint például a mozaik tünetek és levéldeformáció is megjelenik.

A hatodik és egyben utolsó vizsgált patogén igazából egy teljes csoportot takar, méghozzá a *Tospovirus*-okat. A nemzetségből egyértelműen a paradicsom bronzfoltosság vírus (TSWV-*Tomato spotted wilt virus*) kerül ki elsőként, hiszen 1915-ös, ausztráliai megfigyelése óta évente mintegy egymilliárd dolláros kárt tulajdonítanak neki és mostanra minden földrészen elterjedt, ahol az elsődleges gazdanövényeit termesztjük, így például zöldségféléket (paradicsom, paprika, saláta) vagy akár dísnövényeket, mint amilyen a krizantém vagy a begónia (INTERNET20).

Az egyedüli víruscsoport a vizsgáltak közül, amelynek külső glükoproteid burka van, virionjai izometrikusak, egyszálú RNS genomú, viszont jellemzően amfiploid, tehát részben negatív, részben pozitív polaritás jellemző rájuk, ellenben az eddig taglalt fajok kivétel nélkül pozitív polaritásúak (Érsek, 1998). A TSWV inkább az állatpatogén Bunyavírusokkal mutat rokonságot.

A paradicsom bronzfoltosság vírusa a Nemzetközi Vírustaxonómiai Bizottság (ICTV) információi alapján a *Tospoviridae* család egy jelenleg 11 fajt magába foglaló nemzetségébe, az *Orthotospovirus* genuszába sorolták, a nemzetségnek ez a faj úgynevezett típusfaja (INTERNET20).

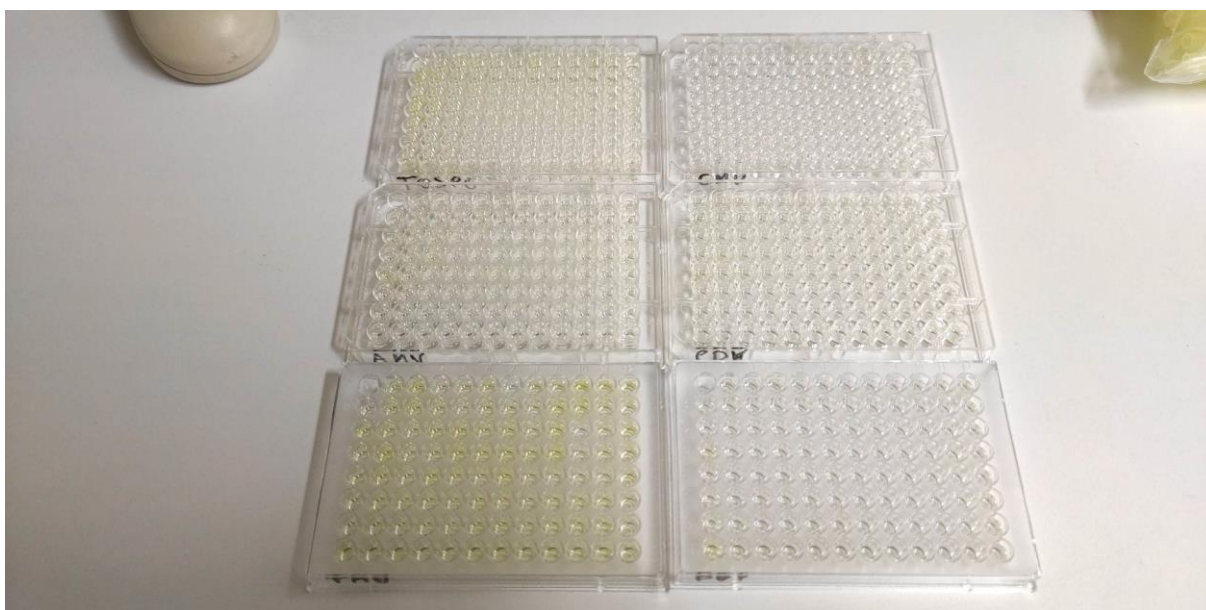
3. Anyag és módszer

3.1. A mintavételezés helye és időpontja

A növényi mintákat (55 db) a kísérlethez Gödöllőn gyűjtöttem, közterületi ágyásokból 2022. októberében. A mintákat ezt követően 2023. februárjáig, a kísérlet időpontjáig, -20°C -os hőmérsékletű fagyasztóban tároltuk. A mintavételezés pontos, földrajzi koordinátái a következők, északi szélesség 47.596, keleti hosszúság 19.349.

3.2. A kísérlet helye és módja

A vizsgálat helyszínéül a MATE, Georgikon campusának Festetics Imre Bioinnovációs Kutató- és Szolgáltató Központ Növényegészségügyi és Károsító Diagnosztikai Laboratóriuma szolgált. A növényi minták vírushatározásának megállapítására szerológiai módszert, pontosabban DAS (Double Antibody Sandwich) ELISA tesztet alkalmaztunk. Ez a legelterjedtebben alkalmazott, antigén-antitest kölcsönhatáson alapuló nem radioaktív immunoassay. Az eljáráshoz egy 96 (8x12) lyukú polisztirol alapú műanyag lemezt (ELISA plate, 13. ábra) használnak, amelynek a magyar származású dr. Takátsy Gyula által használt, még csak 6 x 12 lyukat tartalmazó mikrotitrátor lemez volt a mintája.



13. ábra: A polisztirol lemezek a 6 víruscsoport kimutatásához (Forrás: saját kép)

A lyukak aljához és falához fehérjéket adszorbeáltatunk. Az adszorpciót elsősorban van der Waals erők, hidrofób- és elektrosztatikus kölcsönhatások teremtik meg. Az ELISA során használt ellenanyagok lehetnek jelöletlenek vagy enzimmel illetőleg biotinnal konjugáltak. Az antitestek jelölését legtöbbször a tormaperoxidáz (HRP), illetve az alkalikus foszfatáz (AP) végzi.

Az enzim maga nem látható, szintelen, az enzimaktivitást általában a jelzőenzim kromofór szubsztrátjával adott színreakció segítségével mérik. A színreakció erőssége alapján pedig meghatározható az antitesthez kötődött szabad antigén, vagyis a kimutatandó vegyület mennyisége, illetve koncentrációja a vizsgált mintában (Hegedűs, 2003).

A begyűjtött és előkészített mintákban a következő növénypatogén víruscsoportok jelenlétét igyekeztünk kimutatni: PDV, PVY, TMV, AMV, CMV, TOSPO broadrange.

ELISA tesztek alaptípusai:

Indirekt ELISA

A reakció során a lemez felszínéhez adszorbeáltatunk egy adott fehérjét, például vírus antigént, ezt coating-nak nevezzük. Ezután blokkoljuk a lemezt indifferens fehérjével és amelyet a biológiai mintával inkubáltunk. Egy szigorú mosást követően a biológiai mintában található primer antitestnek megfelelő jelölt szekunder antitesttel végezzük a lemez újabb inkubálását. Megismételjük a mosást, majd pedig H_2O_2 és kromogén hozzáadásával a lyukakban létrejött színreakciót spektrofotométerrel az adott hullámhosszon megmérjük. Az ELISA lemezen ajánlott egy standard referencia szérum sorozathígítását is együtt tesztelni a vizsgálandó mintákkal, amely alapján kalibrációs görbét vehetünk fel és erre illeszthetjük az ismeretlen minták abszorbancia értékeit.

Szendvics ELISA

Ennél a típusú vizsgálatnál a lemez felületéhez úgynevezett elkapó/elfogó (capture) antitestet adszorbeáltatunk (coating), majd a blokkolást elvégezve a capture antitestnek megfelelő specifitású antigént inkubálunk a lemezzel. Egy mosást követően azonos antigénspecifitású, de az antigén más epitópjával reagáló, HRP-jelölt antitesttel inkubáljuk a lyukakat. Végző lépésként itt is hozzáadjuk a mintákhoz a H_2O_2 -t és kromogént, a kapott színreakciót pedig adott hullámhosszon spektrofotométerrel megmérjük.

Kompetitív ELISA

Itt első lépésként a jelöletlen antitesteket előinkubáljuk az antigént tartalmazó biológia mintákkal és miután megfelelő idő rendelkezésre állt nyílt antigén-antitest komplexek létrejöttére, az előinkubált biológiai mintákat visszük föl az antigénnel már fedett ELISA lemez felszínére. Minél több antigén található a biológiai mintában, annál kevesebb antitest marad szabadon, amely majd az ELISA lemezhez adszorbeáltatott antigénhez kapcsolódhatna. A reakció itt is hasonló módon

zárul, tehát enzimmel jelölt másodlagos antitestet, majd kromogén szubsztrátot adagolunk. Előnye ennek a módszernek, hogy kis mennyiségű, jelöletlen antigén kimutatására is használható.

A három altípus közül mi a szendvics ELISA módszert használtuk, amely rendkívül érzékeny és specifikus, ezáltal az antigének kimutatása és mennyiségi meghatározása még alacsony koncentrációk mellett is kivitelezhető. Az antigén eltérő epitópjait felismerő két különböző antitest alkalmazásával a módszer megbízható és pontos az antigén mennyiségi meghatározását illetően (INTERNET21).

3.3. A kísérlet pontos menete

A vizsgálat során tehát a DAS ELISA módszert alkalmaztuk. A kísérlethez felhasznált mintákból 0,4 g-ot kimértünk, majd minden egyes mintához 2 ml homogenáló oldatot adtunk és ezt dörzsmozsárban eldörzsöltünk. Az így kapott macerátum tetején kiváló réteget leválasztottuk és ezután 5 perces centrifugálás következett 12.000 rpm fordulatszámon.

A centrifugálás befejeztével a mikrotitráló lapok mélyedéseibe cellánként 200 µl IgG-t tartalmazó antiszérum-oldatot kellett kimérnünk pipettával. Az antiszérum-oldat ötszázszoros hígítását az antiszérum-fedőpuffer oldattal végeztük. A hígítást egy 4 órán át, 35C°-os hőmérsékleten történő inkubálás követte. Az inkubáció végeztével kétszeres lemosás történt puffer-oldattal, majd szintén két-két lemosás 3-3 perces inkubációval megszakítva. Ezt követően a lecentrifugált árvácska kivonatok kipipettázására került sor a titráló lemez mélyedéseibe. A kivonatok egy éjszakán át tartó, 4 C°-os hőmérsékleten zajló inkubációja után ismét többszörös puffer-oldatos lemosására került sor.

Abban az esetben, ha a készített kivonat tartalmazta a vizsgált vírusok valamelyikére jellemző antigént, az hozzákötődött a polisztirol lemezhez adszorbeáltatott IgG-hez. Egy újbóli mosást követően vírus-specifikus konjugátum pipettázását hajtottuk végre a cellákba. A vírust tartalmazó mélyedésekben létrejöhetett az immunkomplex. Ennek kialakulása után ismét 35C°-os, 4 órás inkubáció, illetve aztán többszöri puffer-oldatos átmosás történt.

Következő lépésként a mintákhoz adtuk a szubsztrát, jelen helyzetben a para-nitrofenil-foszfát pufferrel alkotott 1:1 arányú oldatát, amelyből 150 µl mennyiség került pipettázásra minden egyes cellába. A pipettázást ez esetben 35C°-on, 30 percig tartó inkubálás követte.

A kórokozókat tartalmazó, pozitív mintákban az inkubációt követően létrejött a színreakció. A folyamat leállításához 50 µl 3 N koncentrációjú NaOH-oldatot használtunk fel. A kapott

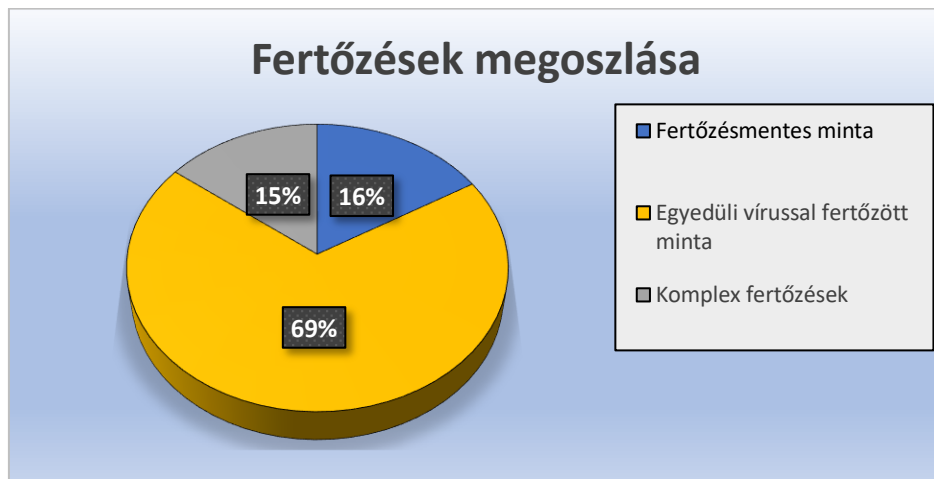
eredmények kiértékelése Labsystems Multiscan RC ELISA reader segítségével valósult meg 405 nm hullámhosszon.

A fertőzést pozitívnak tekintettük, ha az adott kivonat abszorbanciája elérte vagy meghaladta a negatív kontroll-oldat abszorbanciájának kétszeresét.

4. Vizsgálati eredmények és kiértékelésük

4.1. A minták között a fertőzöttség megoszlása

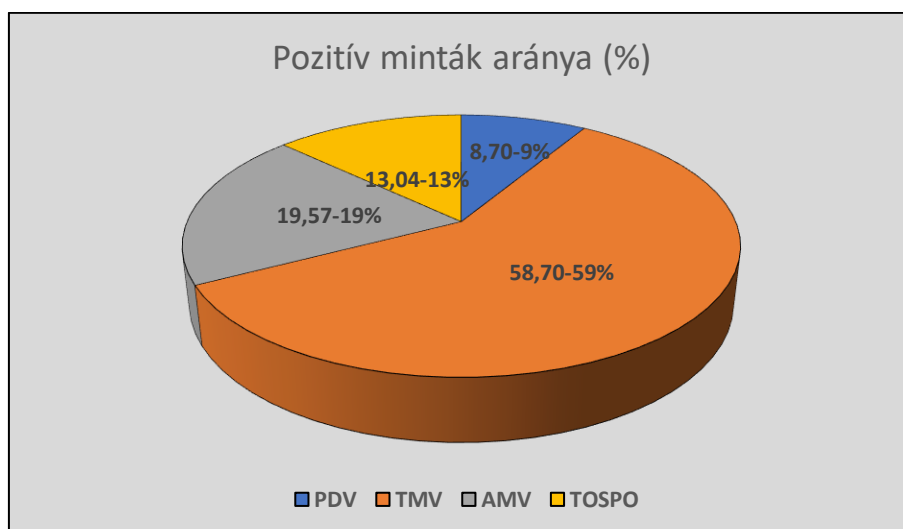
A vizsgálatnak alávetett 55 db növényi mintából 9 db bizonyult fertőzésmentesnek, 38 db-nál sikerült egyszeri vírusfertőzést detektálni, természetesen a 6 kiválasztott kórokozó csoport közül. A fennmaradó 8 db kivonatban, pedig komplex fertőzést állapítottunk meg, viszont ott is maximum két különböző kórokozóval. A minták ezen megoszlását szemlélteti a 14. ábra.



14. ábra: A vizsgált minták fertőzöttségének összehasonlítása

4.2. A fertőzött minták között a kórokozók aránya

Az 55 mintából 46 db volt, amiben előfordult legalább egy kórokozó a vizsgáltak közül és a következő ábra (15. ábra) ezen vírusok általi fertőzések egymáshoz való arányát mutatja százalékos értékben.

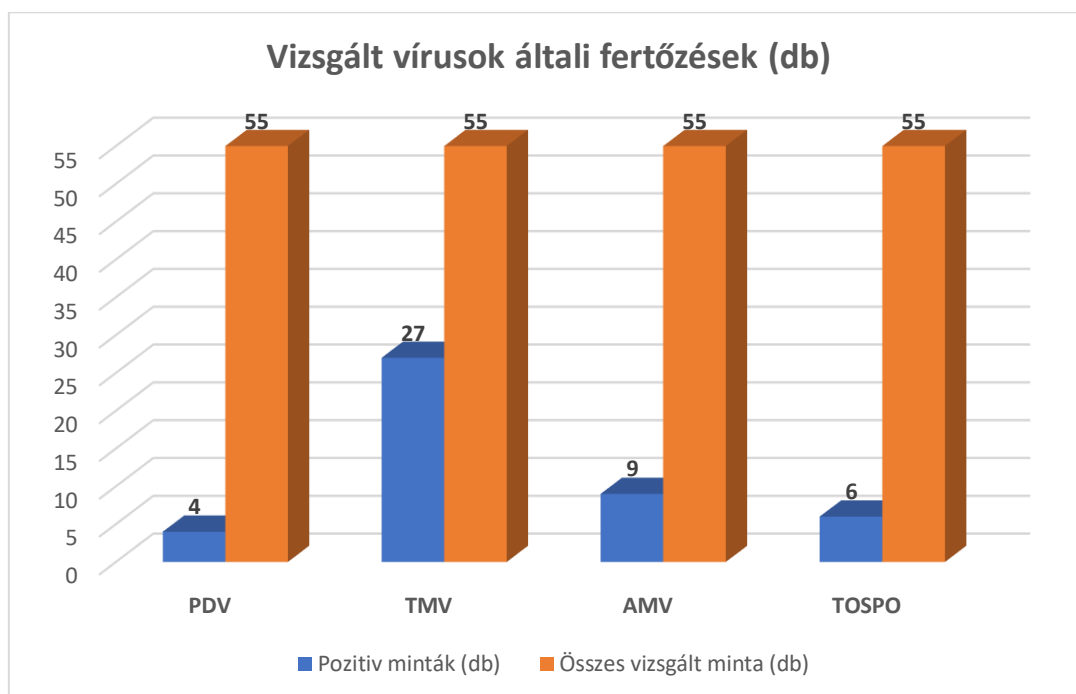


15. ábra: A fertőzött minták között a kísérletbe bevont vírusok megoszlása

A 46 kivonatot nézve körülbelül 59%-ban volt jelen a TMV vírus, ~19%-ban az AMV, ~13%-os arányban találtuk meg a különböző TOSPO vírusok képviselőit, illetve legkisebb százalékban a PDV volt jelen, ez mindösszesen ~9%-ot takar. A CMV és PVY fajokat egyik mintában sem sikerült azonosítani. A várakozásoknak megfelelően a két legmagasabb értéket, azoknál a fajoknál tapasztaltuk (dohánymozaik és lucerna mozaik vírus), amelyek a legszélesebb gazdanövénykörrel rendelkeznek, tehát abszolút polifágok.

4.3. Az összes minta között a fertőzések száma

A 16. ábrán az 55 db minta között csakis a fertőzött minták darabszáma van feltüntetve, szintén a kórokozók szerint. A PDV esetében ez 4 db-ot jelent, a dohány mozaik vírusnál 27 db, a lucerna mozaik vírusnál 9 db és végül a TOSPO vírusokat 6 db mintában sikerült kimutatni.

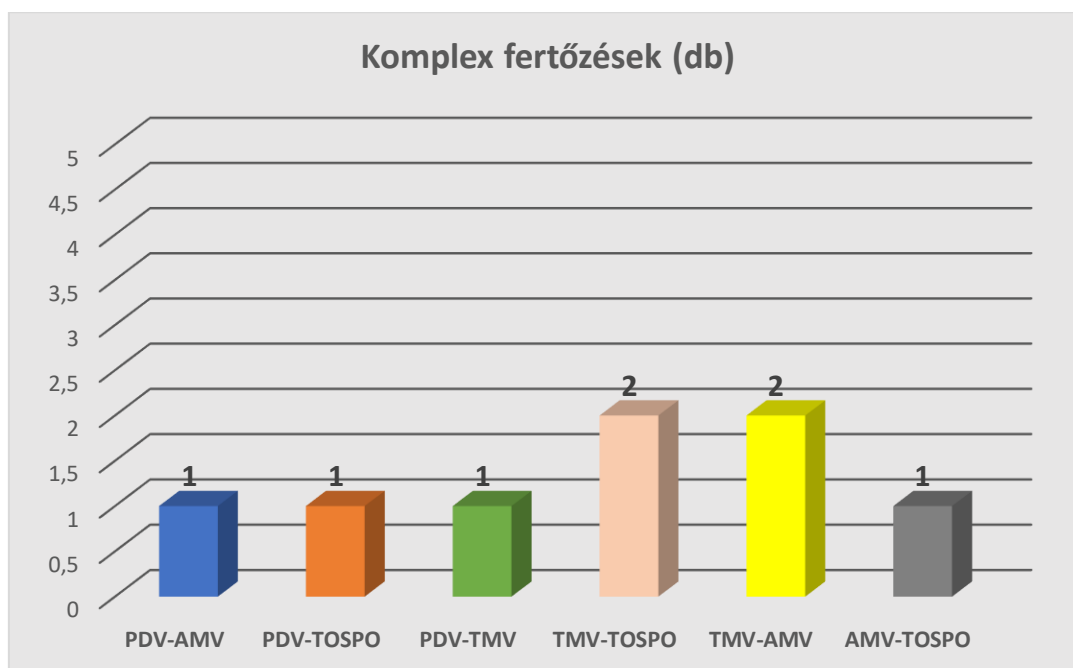


16. ábra: Fertőzések száma kórokozók szerint az összes mintához viszonyítva

4.4. Komplex fertőzések a mintákban

Az összes minta között ~14,55%-ban azonosítottunk komplex fertőzést, ez 8 db mintát jelent. Ezekben minden esetben összesen két vírust találtunk a kísérletbe bevont fajokat illetően, tehát dupla fertőzésekről volt szó. A kombinációk közül a TMV-TOSPO, illetve a TMV-AMV általi fertőzések domináltak, ezeket 2-2 mintában fedeztük föl, a maradék 4, többszörös fertőzés már mind különböző kombinációkban jelentkeztek, így például PDV-AMV, PDV-TOSPO, PDV-TMV, továbbá AMV-TOSPO vírusok között alakultak ki mintánként. Az ilyen együttes fertőzések gyakran szinergista módon jelentkeznek a tünetekben, elsősorban a kultúrnövényeknél okozva ezáltal akár jelentősebb veszteségeket is.

A kerti árvácska mintáknál felfedezett komplex fertőzéseket a 17. ábra szemlélteti.



17. ábra: A komplex fertőzések száma, illetve azok kórokozók szerinti kombinációi

5. Következtetések, javaslatok

A kísérletünk során kapott pozitív eredmények alapján egyértelműen látszik a bevont kórokozók közötti különbség a gazdanövények számát illetően, hiszen a két leginkább polifág vírus (TMV és AMV) okozta a legmagasabb számú fertőzést a *Viola x wittrockiana* mintákban, tehát itt a várákosoknak megfelelően alakultak.

Érdekesnek találtuk viszont, hogy a szintén nagy számú gazdanövénnyel rendelkező uborka mozaik vírus és a burgonya Y vírus esetében egyetlen pozitív mintát sem sikerült találnunk, valószínűsíthetően az árvácska ezen fajoknak nem elsődleges gazdaszervezete, az uborka mozaik leginkább a tökfélék (*Cucurbitaceae*) családjába tartozó fajokra specializálódott, a burgonya Y vírusa pedig elsősorban a *Solanaceae*, *Amaranthaceae* és *Chenopodiaceae* családokba tartozó fajokra.

A mintaszámhoz viszonyítva egész nagy arányban jelentkezett komplex, tehát többszörös fertőzés és ez csak az általunk vizsgált 6 kórokozó kapcsán is elmondható. A dísz- és kultúrnövényeknél egyaránt előfordulnak ilyen több faj általi megbetegedések, ezért a kis számú és inkább csak preventív védekezési módokra igen nagy hangsúlyt kell fektetni. Ha például már eleve a szaporítóanyag fertőzött, akkor a növények kezdeti fejlődése is nagymértékben gátlódik, kultúrnövényeknél ilyenkor a termés nagy része kárba veszhet.

A védekezési módszerek közül az egészséges, vírusmentes szaporítóanyag előállítása és forgalmazása kell első helyen szerepeljen, amelyhez hatékony segítséget nyújtanak a legújabb vizsgálati módszerek. A vírusok adott területre való behurcolása vektor szervezetekkel, jórészt az igen nagy nemzedékszámú levéltetű fajokkal, illetve egyéb más főképp szipókás rovarokkal megy végbe, így ezen fajok előrejelzésére megalapozott védekezéseken kell még további finomításokat eszközölni, illetőleg minél alacsonyabb százalékban inszekticidek kijuttatására alapozni a védekezéseket.

A kerti árvácska és egyéb dísnövények hasonlóan a szántóföldön megtalálható gyomnövényekhez, fertőzési forrást jelenthetnek adott távolságon belül, ezért a beteg, tünetes növények mielőbbi eltávolítása, megsemmisítése is fontos feladat a kórokozók szélesebb körben való elterjedésének megakadályozásában.

6. Összefoglalás

A diplomadolgozatom elkészítése során a kerti árvácska, mint egyik legfontosabb rövid tenészedejű kétnyári dísnövényünk vírusfertőzöttség vizsgálatát végeztem el DAS ELISA szerológiai módszerrel a begyűjtött 55 db növényi mintán.

A kísérlethez olyan vírusokat választottunk, amelyek nagy gyakorisággal fordulnak elő a kultúrnövényeink körében és a felmérés arra szolgált, hogy képet kapjunk arról, hogy a kiválasztott dísnövény esetében milyen arányban vannak jelen adott kórokozók, melyek fertőzik nagyobb eséllyel, illetve mértékben.

A kísérlet arra is irányult, hogy megvizsgáljuk vannak-e komplex fertőzések a növényi mintákban, illetőleg ha igen akkor mely vírusok fordulnak elő együttesen. Az ilyen együttes fertőzések nagyon változatosan jelenhetnek meg a szimptomatológiában, időnként a fertőzést okozó két vagy akár több faj egymás antagonistái lehetnek és ilyenkor a tünetek, kultúrnövények esetében elsősorban a veszteségek jelentéktelenek lehetnek, ellenben amikor szinergista módon hatnak egymásra a kórokozók jóval komolyabb elváltozások alakulhatnak ki mind a makro-, mind a mikroszimptomák terén.

A növénypatogén vírusokhoz hasonlóan a humán- és állatpatogén fajoknál is az egyedüli védekezést a megelőzés jelenti, a mezőgazdaságban és dísnövénytermesztésben ezt nagymértékben elősegítheti a hagyományos nemesítési, illetve géntechnológiai alapokon nyugvó eljárásokkal kialakított tolerancia vagy rezisztencia.

Köszönetnyilvánítás

Szeretném hálás köszönetemet kifejezni belső konzulensem, Dr. Pásztor György, a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem adjunktusának, aki kiváló szakértelmével és gyakorlati tapasztalataival hozzásegített a diplomamunkám elkészítéséhez, minden esetben, amikor kérdés merült föl bennem azonnal a rendelkezésemre állt.

Barátaim közül külön köszönettel tartozom Lórántfy Kolosnak, szaktársamnak, aki mindig segítségemre volt, elsősorban a dolgozat szerkesztését illetően.

Továbbá családomnak is köszönettel tartozom, amiért eddigi tanulmányaim során és a mester képzés alatt is folyamatosan támogattak, emellett szintén hozzájárultak a diplomamunkám létrejöttéhez.

7. Felhasznált irodalmi források

- BALÁSSY J. (2016): Vírusfertőzöttség vizsgálata csonthéjas gyümölcsfákon metagenomikai módszerek segítségével. Diplomamunka, Budapest. p. 9. (12. ábra)
- BEIJERINCK, M.W. (1898): On a Contagium vivum fluidum causing the spot disease of the tobacco-leaves. *Phytopathol. Classics*. 7(1):33-52.
- BENDAHDANE, A. - KANYUKA, K. - BAULCOMBE, D. C. (1999): The Rx Gene from Potato Controls Separate Virus Resistance and Death Responses. *Plant Cell*, 11: 781-791.
- COLE, ANTHONY B. - KIRÁLY, L. - ROSS, K. - SCHOELZ, J. E. (2001): Uncoupling Resistance from Cell Death in the Hypersensitive Response of Nicotiana Species to Cauliflower Mosaic Virus Infection. *Molecular Plant - Microbe Interactions*, 14: 31-41.
- Davison, E.M. (1969): Cell to cell movement of tobacco ringspot virus. *Virology*, 37:694-696.
- DEB M., ANDERSON J. M. (2008): Development of a multiplexed PCR detection method for barley and cereal yellow dwarf viruses, wheat spindle streak virus, wheat streak mosaic virus and soil-borne wheat mosaic virus. *Journal of Virological Methods*, 148 (1-2): 17-24.
- ESAU, K. (1967): Anatomy of plant virus infections. *Phytopath*, 5: 45–76.
- ÉRSEK T.- GÁBORJÁNYI R. (1998): Növénykórokozó mikroorganizmusok. ELTE Eötvös Kiadó, Budapest. pp. 61., 66-68.
- ÉRSEK T.-HORNOK L. (1985): Kórokozók és a fertőzött növény. Akadémiai Kiadó, Budapest. pp. 13., 17.
- FÜLÖP ANDRÁS K. (2012): Immunológiai szemináriumok. Kézirat, Budapest. pp. 29-30.
- HABILI, N.; MCINNES, J. L; SYMONS, R. H (1987): Nonradioactive, photobiotin-labelled DNA probes for the routine diagnosis of barley yellow dwarf virus. *Journal of virological methods*, Volume 16 (3): pp 225-237.
- HEGEDŰS GY.: (2003): Enzimjelzéses immunanalitikai (elisa) rendszerek fejlesztése és alkalmazása. Doktori értekezés, Budapest. p. 23.
- HESSAYON D. G. (1993): Virágágyi dísnövények Park Könyvkiadó, Budapest p. 80.
- HESZKY L. (2014): Transzgénikus vírusrezisztencia. *Agrofórum*, VI./10.: 130.
- HORVÁTH, J. - GÁBORJÁNYI R. (1999): Növényvírusok és virológiai vizsgálati módszerek. Mezőgazda Kiadó, Budapest.
- JAKSA-CZOTTER N. (2019): Magyar szőlőültetvények vírusdiagnosztikája új, nagyérzékenységű diagnosztikai módszerrel és kajszi ültetvények fitoplazma fertőzöttségének vizsgálata. Doktori értekezés, Keszthely. pp. 22-23.
- JAROSOVA J., KUNDU J. K. (2010): Validation of reference genes as internal control for studying viral infections in cereals by quantitative real-time RT-PCR. *BMC Plant Biology*, 10: Article 146.
- Király Z. (2014): Abiotikus és biotikus stresszekkel szemben rezisztenciát eredményező dns-szekvenciák expressziója búzában. Doktori értekezés, Gödöllő. pp. 33-35.

- KIRÁLY Z. - BARNA B. - ÉRSEK T. (1972): Hypersensitivity as a Consequence, Not the Cause, of Plant Disease Resistance to Infection. *Nature*, 239: 215-219.
- MALMSTROM C. M. - SHU R. (2004): Multiplexed RT-PCR for streamlined detection and separation of barley and cereal yellow dwarf viruses. *Journal of Virological Methods*, 120 (1): 69-78.
- MARTINOVICH V. (1975): Dísznövényvédelem Mezőgazdasági kiadó, Budapest. pp. 482-484.
- MC MULLEN, C.R.- GARDEN, W.S. - MYERS, G.A (1978): Aberrant plastids in barley leaf tissue infected with barley stripe mosaic virus. *Phytopathology*, 68: 317–325.
- MULLIS K. B., FALOONA F. A. (1987): Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods in Enzymology*, 155: 335-350.
- MUMFORD R. - SKELTON A.- METCALFE E. - WALSH K. - BOONHAM N. (2004): The reliable detection of barley yellow and mild mosaic viruses using real-time PCR. *Journal of Virological Methods*, 117 (2): 153-159.
- NAGY B. (1975): Dísznövénytermesztés Mezőgazdasági kiadó, Budapest. pp. 128, 223-224.
- RÉCZEY J.- SIPOS B. (2008): Mikrobiológia II. Részletes Mikrobiológia. Műegyetem
- SCHMIDT G. (szerk., 2002): Növényházi dísznövények termesztése Mezőgazda Kiadó, Budapest. pp. 617-619.
- SCHOELZ, JAMES E. - PALANICHELAM, K. - COLE, A. B. - KIRÁLY L. - CAWLEY, J. (2003): Dissecting the Avirulence and Resistance Components That Comprise the Hypersensitive Response to Cauliflower Mosaic Virus in *Nicotiana*. In: Stacey, G. - Keen, N. T. (Eds.): *Plant-Microbe Interactions*. Vol. 6. APS Press, St. Paul, Minn. USA, 259-283.
- SHERWOOD J. L. (1987): Comparison of a filter paper immunobinding assay, western blotting and enzyme linked immunosorbent assay for the detection of wheat streak mosaic virus. *Journal of Phytopathology*, 118 (1): 68-75
- VÁRALLYAY É. (2020): Növényeket fertőző vírusok diagnosztikája, gazdanövényre gyakorolt hatásának vizsgálata és felhasználása a molekuláris biológiában. Doktori értekezés, Gödöllő.
- YU, I-ching - PARKER, J. - BENT, A. F. (1998): Gen-for-Gene Resistance Without the Hypersensitive Response in *Arabidopsis* Dnd1 Mutant. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 95: 7819-7824.

Internetes források

INTERNET1: <https://hu.garden-landscape.com/pansy-planting-and-care-9288>

INTERNET2: <https://viragzodunakanyar.hu/cool-wave-futo-arvacska/>

INTERNET3: <https://www.seedneeds.com/blogs/flowers/growing-pansies-from-seed>

INTERNET4: https://www.floretum.hu/dokumentumok/termesztesi_tanacsok/Viola.pdf

INTERNET5: <https://pixabay.com/photos/greenhouse-nursery-flower-bed-4948726/>

INTERNET6: <https://www.growerssupply.com/cat/gs-shade-houses-shade-cloth-1.html>

INTERNET7: <https://hgic.clemson.edu/factsheet/pansy-diseases-insect-pests/>

INTERNET8: <https://ag.umass.edu/greenhouse-floriculture/photos/pansy-anthrachnose>

INTERNET9: <https://hu.pinterest.com/pin/408772103682854836/>

INTERNET10: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7157452/>

INTERNET11: <https://www.sciencedirect.com/book/9780122499517/virus-taxonomy>
2023.10.09.

INTERNET12: <https://www.slideshare.net/dawitg2/lect6-composition-architecture-of-plant-virusespdf>

https://www.researchgate.net/figure/Cucumber-mosaic-virus-particles-a-Negative-contrast-electron-micrograph-courtesy-of_fig2_333760256

INTERNET13: <https://www.apsnet.org/edcenter/disandpath/viral/pdlessons/Pages/BarleyYelDwarf.aspx>

INTERNET14: <https://www.agroinform.hu/szantofold/veszelyes-gyomnoveny-parlagfu-selyemkoro-aranka-fajok-kap-tamogatas-67300-001>

INTERNET15: <https://agraragazat.hu/hir/gyumolcsultetvenyek-karositoi-es-a-vedekezes-ellenuk-mezogazdasag/> 2023.10.03.

INTERNET16: http://novi.atk.hu/hu/kut_prog_novenyvirologia

INTERNET17: <https://www.studocu.com/hu/document/budapesti-muszaki-es-gazdasagtudomanyi-egyetem/az-elvalasztastechnika-korszeru-modszerei/gelektroforezis-gepelt-jegyzet-reszletes-leirassal-kepekkel/3692326> 2023.10.16.

INTERNET18: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5751334/>

INTERNET19: <https://www.magro.hu/agrarhirek/vedekezes-a-lucerna-mozaik-virus-ellen/>

INTERNET20: <https://agroforum.hu/szakcikkek/novenyvedelem-szakcikkek/paradicsom-foltos-hervadas-virus-szupervirus-szupervektorral/>

INTERNET21: <https://microbiologynote.com/hu/szendvics-Elisa-meghat%C3%A1roz%C3%A1s-elv%C3%A9nek-l%C3%A9p%C3%A9sei-el%C5%91nyei/> 2023.10.19

NYILATKOZAT

a záródolgozat/szakdolgozat/diplomadolgozat/portfólió¹ nyilvános hozzáféréseiről és eredetiségéről

A hallgató neve: WANKA-TÓTH BENEDEK
A Hallgató Neptun kódja: 202VLOZ
A dolgozat címe: Kerti dívadás (Viola x wittrockiana) biológiai vizsgálata
A megjelenés éve: 2023 DAS ELISA módszerrel
A konzulens intézetének neve: NÖVÉNYVÉDELMI INTÉZET
A konzulens tanszékének a neve: NÖVÉNYVÉDELMI TANSZÉK

Kijelentem, hogy az általam benyújtott záródolgozat/szakdolgozat/diplomadolgozat/portfólió² egyéni, eredeti jellegű, saját szellemi alkotásom. Azon részeket, melyeket más szerzők munkájából vettem át, egyértelműen megjelöltem, és az irodalomjegyzékben szerepeltettem.

Ha a fenti nyilatkozattal valótlant állítottam, tudomásul veszem, hogy a záróvizsga-bizottság a záróvizsgából kizár és a záróvizsgát csak új dolgozat készítése után tehetek.

A leadott dolgozat, mely PDF dokumentum, szerkesztését nem, megtekintését és nyomtatását engedélyezem.

Tudomásul veszem, hogy az általam készített dolgozatra, mint szellemi alkotás felhasználására, hasznosítására a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem mindenkor szellemi tulajdon-kezelési szabályzatában megfogalmazottak érvényesek.

Tudomásul veszem, hogy dolgozatom elektronikus változata feltöltésre kerül a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem könyvtári repozitóri rendszerébe. Tudomásul veszem, hogy a megvédett és

- nem titkosított dolgozat a védést követően
- titkosításra engedélyezett dolgozat a benyújtásától számított 5 év eltelté után nyilvánosan elérhető és kereshető lesz az Egyetem könyvtári repozitóri rendszerében.

Kelt: KESZTHELY, 2023 év 11. hó 05. nap

Wanka-Tóth Benedek
Hallgató aláírása

¹ A megfelelő dolgozattípus meghagyása mellett a többi típus törlendő.

² A megfelelő dolgozattípus meghagyása mellett a többi típus törlendő.

MATE Szervezeti és Működési Szabályzat

III. Hallgatói Követelményrendszer

III.1. Tanulmányi és Vizsgaszabályzat

6.13. sz. függeléke: A MATE egységes szakdolgozat /
diplomadolgozat / záródolgozat / portfólió készítési útmutatója

4.1. sz. melléklete: Konzulensi nyilatkozat

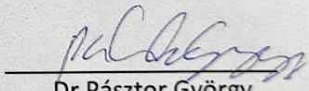
NYILATKOZAT

Ivánka-Tóth Benedek (JQVLGZ) konzulenseként nyilatkozom arról, hogy a záródolgozatot/szakdolgozatot/diplomadolgozatot/portfóliót¹ áttekintettem, a hallgatót az irodalmi források korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól tájékoztattam.

A záródolgozatot/szakdolgozatot/diplomadolgozatot/portfóliót a záróvizsgán történő védésre javaslom / nem javaslom².

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem^{*3}

Kelt: Kulldj 2023 év 11 hó 05 nap


Dr Pásztor György
belső konzulens