

DIPLOMAMUNKA

OLÁH ANETT

Oláh Anett
2023

**MAGYAR AGRÁR- ÉS ÉLETTUDOMÁNYI EGYETEM
NÖVÉNYVÉDELMI INTÉZET
BUDAPEST**

Tobamovírus fertőzés különleges esete paprikán (*Capsicum annuum* L.)

Oláh Anett

Növényorvosi mesterképzési szak

Készült a Növénykórtani Tanszéken

Közreműködő tanszék(ek): MATE, Szent István Campus, Genetika és Biotechnológiai Intézet, Alkalmazott Növénygenomikai Csoport

Tanszéki konzulens: Koósné Dr. Szathmáry Erzsébet, egyetemi adjunktus

Konzulens(ek): Dr. Salamon Pál, önkéntes kutató

Dr. Szabó Zoltán, csoportvezető, tudományos főmunkatárs

Bírálok:

Budapest, 2023.

tanszékvezető/szakirányfelelős

konzulens

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS	6
1.1. Célkitűzés.....	7
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	8
2.1. A paprika jellemzése és jelentősége	8
2.2. A paprika, mint vírus gazdanövény	10
2.3. A paprikát fertőző tobamovírusok és a paprika enyhe foltosság vírus (<i>Pepper mild mottle virus</i> , PMMoV) jellemzése	11
2.4. A paprikát fertőző vírusok elleni védekezés	14
3. ANYAG-ÉS MÓDSZER	16
3.1. A vizsgálatok helye és ideje	16
3.2. A vizsgálatok anyaga	16
3.2.1. A vizsgált paprika minták származása	16
3.2.2. Vírusizolátumok	16
3.2.3. Tesztnövények.....	16
3.2.4. Felhasznált eszközök, vegyszerek, enzimek, kitek, műszerek	16
3.2.5. Felhasznált primerek (indítószekvenciák).....	17
3.3. A vizsgálatok módszere	17
3.3.1. A vizsgálatba vont paprika minták kezelése	17
3.3.2. Növények nevelése és gondozása	17
3.3.2. Mechanikai vírusátvitel és biotesztek.....	18
3.3.3. Gazdanövénykör vizsgálata.....	18
3.3.4. Keresztvédetség	18
3.3.5. Vetőmag preparálás és csávázás.....	18
3.3.6. Vírusok magátvitelének vizsgálata.....	18
3.3.7. Molekuláris vizsgálatok.....	19
3.3.7.1. Össznukleinsav (TNS) kivonása a növényi mintákból.....	19
3.3.7.2. Reverz transzkripció (cDNS szintézis).....	19
3.3.7.3. Polimeráz láncreakció (PCR)	20
3.3.7.4. Gélelektroforézis.....	20
3.3.7.5. A PCR-termékek tisztítása	20
3.3.7.6. Nukleiotid szekvenciák meghatározása és elemzése	21
4. EREDMÉNYEK	22
4.1. Különleges vírusos megbetegedés paprika növényeken: előfordulás és betegség tünetek	22
4.2. Vírusok kimutatása biotesztekkel különböző növényi részekből	23
4.3. A vírusizolátumok tulajdonságai.....	24
4.3.1. Gazdanövénykör és szimptomatológia	24

4.3.2. Keresztvédetség	26
4.3.3. A vetőmag szennyezettségének és csávázó szerek hatékonyságának vizsgálata.....	27
4.3.4. Magátvitel vizsgálata.....	27
4.3.5 Molekuláris vizsgálatok.....	28
4.3.5.1 Tobamovírusok kimutatása különböző növényi részekből RT-PCR módszerrel	28
4.3.5.2 Nukleotid szekvenciák meghatározása és a szekvencia adatok elemzése.....	29
5. KÖVETKEZTETÉSEK.....	31
6. ÖSSZEFOGLALÁS	33
7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	34
8. IRODALOMJEGYZÉK.....	35
ÁBRAJEGYZÉK	41
TÁBLÁZATJEGYZÉK.....	41

OLÁH ANETT

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

AMV= *Alfalfa mosaic virus*, lucerna mozaik vírus

bp =bázispár

cDNS= komplementer DNS, RNS-ről másolt DNS

CMV= *Cucumber mosaic virus*, uborka mozaik vírus

CP = coat protein, köpenyfehérje

CTAB=cetil-trimetil-ammonium-bromid

DNS= dezoxiribonukleinsav

dNTP= dezoxiribonukleotid

fw= forward

HeMV = *Henbane mosaic virus*, beléndek mozaik vírus

HR = hypersensitive reaction, hiperszenzitív reakció

ICTV = International Committee on Taxonomy of Viruses, Nemzetközi Vírus Taxonómiai Bizottság

MATE= Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem

MP = movement protein, mozgásfehérje

NaOH= Nátrium-hidroxid

NCBI= National Center for Biotechnology Information

nt= nukleotid

ObPV = *Obuda pepper virus*, óbuda paprika vírus

ORF= nyílt leolvasási keret (Open Reading Frame)

PCR= polimeráz láncreakció (Polymerase Chain Reaction)

PMMoV= *Pepper mild mottle virus*, paprika enyhe foltosság vírus

PVY= *Potato virus Y*, bugronya Y vírus

rev= reverse

RNS= ribonukleinsav

rpm= Revolutions Per Minute – per centkénti fordulatszám

RT= reverz transzkripció/reverz transzkriptáz

RT-PCR= reverz transzkripció-polimeráz láncreakció

TBE= Tris-borate-EDTA

TEV= *Tobacco etch virus*, dohány karcolatos vírus

TMV= *Tobacco mosaic virus*, dohány mozaik vírus

TNS= össznukleinsav (totálnukleinsav)

TSWV= *Tomato spotted wilt virus*, paradicsom foltos hervadás vírus

1. BEVEZETÉS

A burgonyafélékhez (*Solanaceae*) tartozó közép és dél-amerikai eredetű paprika (*Capsicum annuum* L.) magas C, B, A és P vitamin, karotinoid és ásványi anyag tartalma, valamint kedvező élettani hatása miatt az emberiség táplálkozásában fontos szerepet tölt be. Frissen vagy tartósított zöldségként (étkezési paprikák), illetve fűszernövényként hasznosítjuk, de jelentős szerepe van a gyógyászatban is. A paprika különböző kórokozókkal szemben különösen fogékony kultúrnövény, termesztésének sikere sokszor az ellenük való védekezés eredményességétől függ.

A paprika termesztésben világszerte súlyos károkat okoznak a növényi vírusok, melyek ellen a védekezés sokszor nem megoldott. Hatékony viricidek hiányában a vírussal fertőzött növény gyógyítására nincs lehetőség, így a védekezés a megelőzésre, a vektorok elleni növényvédő szeres kezelésre, valamint az ellenálló, rezisztens fajták termesztésére korlátozódik.

A paprikát közel 100 vírusfaj képes megfertőzni, melyek közül a termesztésben kb. 20 faj okoz jelentős kártételt (Edwardson és Christie, 1997; Moury és Verdin, 2012; Ojina et al., 2022). Közülük különösen figyelemre méltók a tobamovírusok, amelyek súlyos minőségi és mennyiségi veszteséget okoznak. A tobamovírusok ellen van lehetőségünk genetikai védekezésre, ami a leghatékonyabb és egyúttal környezetkímélő védekezési lehetőségnek bizonyult (Salamon, 2004).

A tobamovírusokkal szembeni genetikai védekezés a hiperszenzitív reakción (HR) alapul, ami a fertőzés helyén gyors szöveti elhalással ún. nekrotikus lokális léziók kialakulásával és a vírus lokalizálásával jellemezhető. A rezisztenciával nem rendelkező, fogékony paprikákon látens lokális fertőzés vagy klorotikus lokális foltok figyelhetők meg, és ezt követően a vírus a növényben szisztemizálódik, ami súlyos betegség tünetek kialakulását eredményezheti (Salamon, 2004).

A tobamovírusok közül az elmúlt 30-35 évben a paprika enyhe foltosság vírus (*Pepper mild mottle virus*, PMMoV¹) vált a legveszélyesebb kórokozóvá részben, mert rezisztencia törő törzsei is ismertek, illetve azért is, mert fertőzése gyakran csak nehezen ismerhető fel az enyhe levéltünetek miatt, ugyanakkor a bogyón súlyos tüneteket okozhat.

Ilyen különleges, tobamovírus fertőzésre utaló elváltozások jelentek meg egy hibrid vetőmag előállítással foglalkozó üzemben, melyek kóroktani vizsgálata nem csak a kórokozók pontos azonosítása, hanem a hasonló esetek megelőzése szempontjából is indokolt volt.

¹ A *Pepper mild mottle virus* magyar nyelvű megnevezése a szakirodalomban nem egységes. Egyes szerzők (pl. Kálmán, 2003) a vírus nevében a „mottle” angol szót „tarkulásnak”, mások „foltosságnak” (pl. Horváth, 1999; Salamon, 2006) fordítják. Munkánkban Salamon (2007) javaslatait követve a vírus magyar megnevezésére a „paprika enyhe foltosság vírus” nevet használjuk.

1.1. Célkitűzés

Munkánk során célul tűztük ki, hogy

- a) dél-magyarországi gazdaságból a MATE Szent István Campus, Genetikai és Biotechnológiai Intézet, Alkalmazott Növénygenomikai Csoportjához küldött vírusos boggyótüneteket mutató paprika növények vírusfertőzöttségét igazoljuk,
- b) az izolált vírusokat patológiai és molekuláris tulajdonságaik alapján jellemezzük és meghatározzuk,
- c) ismereteink alapján javaslatokat tegyünk a jövőbeni védekezés lehetőségeire, módszereire.

OLÁH ANNETT

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A paprika jellemzése és jelentősége

A paprika, tudományos nevén *Capsicum annuum*, a *Solanaceae* (burgonyafélék) családjába tartozó zöldségnövény, származási helye Közép- és Dél Amerika. Amerika felfedezését követően először Spanyolországban jelent meg Európában 1493-ban, majd Ázsiában, később az egész világon elterjedt (Somos, 1966).

Hazánkban az étkezési célra termesztett paprika meghonosodása szorosan kapcsolódik a török terjeszkedés elől Magyarországra vándorló bolgárokhoz. A bolgárokat megszálló török sereg élelmezésének tetemes részét a fejlett bolgár zöldségkertészet biztosította. Ezt a kiemelkedő zöldségkertészeti szaktudást tovább erősítette a magyar kertészeti gyakorlat, amiből később létrejött a világon példátlan bolgárkertészeti technológia (Zatykó, 2006).

Az étkezési paprika rendszertani helye Soó (1963) által kidolgozott növényrendszer alapján:

Spermatophyta (magvas növény)

XIV.törzs: *Angiospermae* (zárvatermők)

A osztály: *Dicotyledones* (kétszikűek)

2. ágazat: *Malvales-Tubiflorae*

XXI.sorozat: *Personatae*

1. család: *Solanaceae*

Nemzetség: *Capsicum*

Az étkezési paprikák Amerikában, a kontinens középső- és déli tájain őshonos *C. annuum* var. *annuum*, illetve *C. annuum* var. *aviculare* vadpaprika fajok nemesített, később termesztésbe vont változatai (Lantos, 2018).

A *Capsicum* nemzetséghez Barboza (2022) legújabb monográfiája szerint 43 faj tartozik, melyek közül öt fajt (*C. annuum* – étkezési paprika; *C. frutescens* - cserjés paprika; *C. chinense* - kínai paprika; *C. baccatum* - bogyós paprika és *C. pubescens* - szőrös paprika) vont az emberiség termesztésbe.

A *C. annuum* gyökérzete jól fejlett orsógyökérből, és egyenletesen elosztott oldalgyökerekből áll. A gyökerek a talaj felszínéhez közel, 30-40 cm mélységben helyezkednek el (Gyúros és Szöriné, 2005). A hajtásnövekedés módja alapján a folytonos és a fürtös (determinált) növekedésű típusokat lehet megkülönböztetni (Terbe et al., 2005). A különböző paprikafajták és hibridek eltérő számú levelet nevelhetnek. A levelek rendszerint tojás- vagy lándzsa alakúak.

A paprika egylaki növény, virágai kétivarúak, a virágok átmérője 10-15 mm, melyben általában öt szirmlevél és öt porzó található (Munting, 1974, Bosland et al., 2012). A virágok az ágvillákon egyesével képződnek. A szirmlevél leggyakrabban fehér színű, vajsárga, de lila változatok is előfordulnak (Somos, 1966). Egy paprikanövényen akár 100 virág is fejlődhet (Bosland et al., 2012). A virágok nagyrészt öntermékenyülők, vagyis a paprika virágának megporzása autogám módon zajlik, a növény saját virágporával termékenyül, de idegentermékenyülés is történhet (Gyúros és Szöriné, 2005). Jellemzően kb. 17% az idegen beporzás aránya, szél

vagy rovarok által (Idrees et al., 2020). A virág megtermékenyülése 20-28 órával a megporzás után történik (Tiwari et al., 2013).

A termés felfújó bogyó, amire a nagymértékű formai változatosság jellemző. A bogyó gazdasági érettségi állapotban sárgás-fehér vagy zöld színű, ritkán lila, biológiai érettségben általában piros vagy narancssárga (Lantos, 2018).

Az étkezési paprika számos mediterrán országban az egyik legfontosabb kertészeti kultúra (Fallik és Ilic, 2014). Magyarországon magas C-vitamin-tartalmáról ismert, de ezenfelül más fontos vitaminokat és ásványi anyagokat, valamint számos alapvető tápanyagot is tartalmaz (1. táblázat). A C-vitamin-tartalom fajtánként és érettségi fokunként változik, jellemzően 150-250 mg/100 g között van (Zatykó, 1999).

1. táblázat

A paprika ásványi anyag- és vitamintartalma (Lorenz és Maynard, 1980)

Ásványi anyagok és vitaminok	Éretlen termés		Érett termés
	nyers	főtt	nyers
Ca (mg)	9	9	13
P (mg)	22	16	30
Fe (mg)	0,7	0,5	0,6
Na (mg)	13	9	-
K(mg)	213	149	-
B1 vitamin	0,08	0,06	0,08
B2 vitamin	0,08	0,07	0,08
A-vitamin	420	420	4450
Nikotinsav	0,5	0,7	0,6
Aszkorbinsav	125	96	204

Európában évente 3,8-4 millió tonna paprikát tesznek, míg a világon termesztett mennyiség eléri a 25 millió tonnát. A világ paprika termésének több, mint 50%-át Kína termeli és fogyasztja is el. Európában a legnagyobb termelők: Törökország, Spanyolország, Olaszország, Hollandia, Románia (FruitVeb, 2020).

A paprikatermesztés hazánkban több, mint 150 évre tekint vissza. A felhasználás alapján két csoportot különböztetünk meg: az étkezési és fűszer paprikát. Az étkezési paprikán belül további csoportosítás alakul ki termés színe és az alakja szerint (Terbe, 1999). Magyarországon étkezési paprikából 200-205 ezer tonnát, fűszerpaprikából 17-20 ezer tonnát tesztünk évjárattól függően.

Az 1960-as évek második felétől hazánkban is elterjedt a fóliás berendezések alkalmazása, és ezzel nagy minőségi fejlődés vette kezdetét a paprikatermesztésében. A paprikát ma már legnagyobb területen hajtató berendezésekben tesztjük (Terbe, 2005). A frisspiaci fogyasztásra termesztett paprikát főként hajtják, az ipari feldolgozásra szánt paprikát intenzív körülmények között, szabadföldön tesztik (FruitVeb, 2019). Szabadföldön

a fehér tölteni való paprika termesztése megszűnni látszik, ezen a területen 40%-ban kápia típusú paprikát, 40%-ban almapaprikát, valamint a maradék 20%-ban a feldolgozás számára termesztenek (FruitVeb, 2020).

A paprika Magyarországon egész évben hajtatható, a téli hónapokban nehezítő tényező a megfelelő fényellátás biztosítása. A paprikahajtásra igénybe vett terület csaknem 1500-1550 ha. A technológiai és technikai előrehaladást jelzi, hogy a termőterület csökkenése ellenére a teljes hozam nem változik. A talajnélküli termesztés is teret hódít, a területek több, mint a felén már ezt a technológiát alkalmazzák. Napjainkra előtérbe került az integrált biológiai növényvédelem, melyet a művelt területek csaknem 70%-án alkalmaznak (FruitVeb, 2020).

Az utóbbi időben a szabadföldön termesztett étkezési paprika termőterülete csökkent. A fél évtizeddel ezelőtti 1000 hektáros termőterület mára már 600 hektár alá esett vissza. Ennek következtében az öt évvel ezelőtti 30 ezer tonna termésmennyiség 16,5 ezer tonnára csökkent (FruitVeb, 2020).

A paprika termesztéséhez nélkülözhetetlen a kézi munkaerő, így a termőterület csökkenésében feltehetően a munkaerőhiány is szerepet játszott (Nagy, 2021).

2.2. A paprika, mint vírus gazdanövény

A paprika a legtöbb burgonyaféléhez hasonlóan a vírusokkal szemben különösen fogékony (virofil) növényfaj. A paprikát természetes körülmények között mintegy 70 vírusfaj fertőzi, melyek közül 20 faj okoz a termesztés során jelentős károkat hajtásban és szabadföldön is (Pernezny et al., 2003; Moury és Verdin, 2012).

Ezek közül egyes vírusok kozmopoliták [pl. paradicsom foltos hervadás vírus (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV), uborka mozaik vírus (*Cucumber mosaic virus*, CMV)], míg mások csak egy-egy földrészen okoznak kárt (Kenyon et al., 2014).

Az egyes vírusfajok jelentősége és az általuk okozott veszteség eltérő mértékű a világ különböző országaiban. Egy Hawaii-on végzett felmérés szerint a burgonya Y vírus (*Potato virus Y*, PVY), a dohány mozaik vírus (*Tobacco mosaic virus*, TMV), a dohány karcolatos vírus (*Tobacco etch virus*, TEV) és a TSWV (Milbrath és Cook, 1971), az USA-ban végzett tanulmány alapján a PVY és a TEV bizonyult gyakorinak (Makkuak és Gumpf, 1974). Észak-nyugat Olaszországban termesztési módtól függően eltérő vírusfajokat találtak dominánsnak a paprikán. Hajtásban a TMV, szabadföldön a CMV fordult elő leggyakrabban (Conti és Masenga, 1977). Tóbiás és Molnár (1983) tanulmánya szerint hazánkban is a TMV és a CMV fordultak elő leggyakrabban. Gáborjányi et al. felmérései alapján szabadföldön a lucerna mozaik vírus (*Alfalfa mosaic virus*, AMV), a CMV és a beléndek mozaik vírus (*Henbane mosaic virus*, HeMV), hajtásban a paradicsom mozaik vírus (*Tomato mosaic virus*, ToMV), a CMV, a PVY és a TSWV voltak a leggyakoribbak (Gáborjányi et al., 1997; 1998a; 1998b). Salánki et al. (2021) Szentes környéki mintákból leggyakrabban a TSWV-t, a CMV-t és a PMMoV-t mutatták ki.

A különböző vírusok fertőzése következtében kialakuló tünetek a paprikán lehetnek enyhék pl. levél klorózis, levél hullámosodás, vagy súlyosak pl. nekروزis, hervadás, teljes pusztulás. A vírusok pontos azonosítása azonban csak a tünetek alapján legtöbbször nem lehetséges, mivel több vírusfaj is okozhat nagyon hasonló tüneteket, másrészt mert egyazon vírusfaj különböző törzsei ugyanazon növényfajon nagyon eltérő tüneteket idézhetnek elő (Kenyon et al., 2014). Idősebb növényeken előfordulhat, hogy az un. késői fertőzések esetében a

vírus szisztemizálódása után a levélzeten tünetek nem alakulnak ki, de a bogyókon különböző, a vírusok fertőzésére jellemző tünetek jelennek meg (Salamon et. al, 2008).

2.3. A paprikát fertőző tobamovírusok és a paprika enyhe foltosság vírus (*Pepper mild mottle virus*, PMMoV) jellemzése

A *Tobamovirus* nemzetséget egymással közeli rokonságban álló növényi vírusfajok alkotják, melyek a virion és vírusgenom tulajdonságaiban különböznek a többi vírusnemzetségtől (Faquet et al., 2005). A nemzetség a nevét a dohány mozaik vírusról (*Tobacco mosaic virus*) kapta, amely az elsőként felfedezett növényvírus, a virológia egyik fontos modell vírusa (Knapp és Lewandowski, 2001). Gibbs (1999) szerint a tobamovírusok és a zárvatermő gazdák közös evolúciós múlttal rendelkeznek, amelynek becsült kora 120-140 millió év.

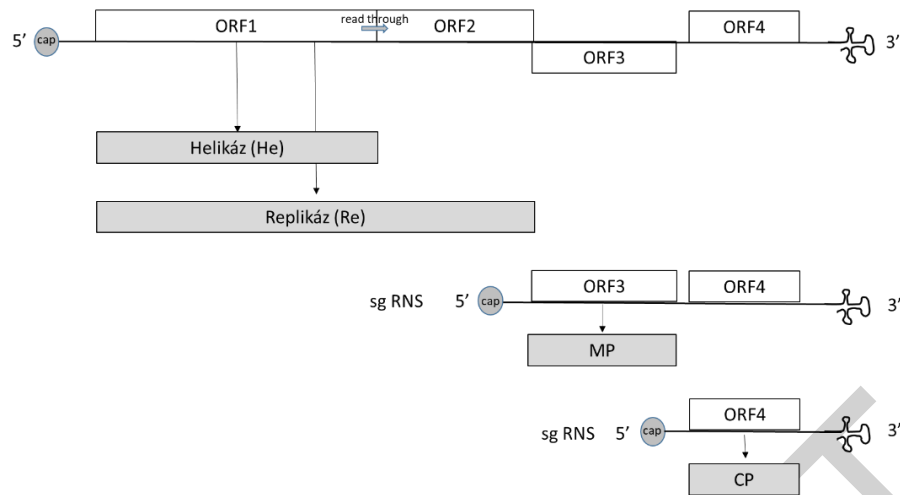
A *Tobamovirus* nemzetség fajainak száma az utóbbi években lényegesen megnőtt. 2005-ös adatok szerint 22 vírusfajt soroltak a tobamovírusokhoz (Faquet et al., 2005), míg ez a szám 2009-ben már 25 volt (Adams et al., 2009). Jelenleg a Nemzetközi Vírustaxonomiai Bizottság (International Committee on Taxonomy of Viruses, ICTV) 37 vírus fajt sorol a tobamovírusokhoz (ICTV, 2023).

A *Tobamovirus* nemzetség rendszertani helye az ICTV legújabb besorolása szerint:

- Birodalom: *Riboviria*
- Királyság: *Orthornavirae*
- Törzs: *Kitrinoviricota*
- Osztály: *Alsuviricete*
- Rend: *Martellivirale*
- Család: *Virgaviridae*
- Nemzetség: *Tobamovirus*

A tobamovírusok virionjai helikális szimmetriával rendelkeznek, merev pálcika alakúak, 290-310 nm hosszúak és 17-18 nm szélesek (Brunt et al., 1996). A virionok összetételüket tekintve 95% fehérjéből és 5% RNS-ből állnak (Lewandowski, 2008), belül üregesek, közepükön egy csatorna látható az elektronmikroszkópos felvételeken (Hull, 2002).

A tobamovírusok genomját egyetlen, 6,3 - 6,6 kb méretű, pozitív értelmű, egyszálú RNS (+ssRNS) alkotja. A genomi RNS három nem strukturális és egy strukturális fehérjét kódol. A vírusreplikációban fontos szerepet betöltő helikáz (He) és replikáz (Re) fehérjék közvetlenül a virális RNS-ről, a mozgási fehérje (MP) és a strukturális köpenyfehérje (CP) szubgenomi RNS-ekről íródnak át (**1. ábra**). A tobamovírusok strukturális és funkcionális genomi elemzését részletesebben Hull (2002) munkájában találjuk.



1. ábra A tobamovírusok genomszerveződése

A tobamovírusok rendkívül stabil növényvírusok, szövetnedvben szobahőmérsékleten legalább 50 évig fertőzőképesek (Silber és Burk, 1965). Mechanikailag könnyen átvihetők és fennmaradnak magokban, növényi maradványokban valamint üvegház felületén (Spence et al., 2001). Kötődnek a talajkolloidokhoz (Blanco-Sanches et al., 1986), de kimutathatók felszíni álló és folyóvizekből, felhőkből, ködből valamint glaciális jégből (ToMV) (Juretic et al., 1986; Castello et al., 1995; 1999). A PMMoV fertőzőképesen fennmarad az ételekben és az emberi székletben (Zhang et al., 2006).

A paprikát természetes körülmények között 12 tobamovírus fertőzi (2. táblázat). Világszerte a legjelentősebb paprikapatogén tobamovírus a PMMoV (Lozovay et al., 2022), melyet először 1952-ben McKinney izolált Dél-Karolinában és a TMV „dohány látens” törzsének tartotta (McKinney, 1968). Később biológiai tulajdonságai, szerológiai rokonsága, valamint a CP aminosav sorrendje alapján új fajként való elkülönítését javasolták (Wetter et al., 1984). A PMMoV virionja, más tobamovírushoz hasonlóan merev pálcika alakú, kb. 312 x 18 nm méretű (McKinney, 1952; Wetter, 1984). Genomja kb. 6357 nukleotid (nt) hosszúságú, pozitív értelmű, egyszálú RNS (Alonso et al., 1991).

A PMMoV mind a szabadföldi, mind a hajtott paprikatermesztésben jelentős gazdasági károkat okozhat (Berzal-Herranz et al., 1995). A vírus által okozott tünetek a paprika leveleken általában enyhék, a termésen azonban súlyosak lehetnek (Caciagli, 2008). Előfordul, hogy a levélen elváltozás nem látható, azonban a termésen klorotikus foltokat, ráncosodást, deformációt, valamint akár nekrozist is megfigyelhetünk. A növények gyengén fejlődnek és a termések kisebbek. A szabadföldi kultúrákban a fertőzöttség elérheti a 100%-ot, ami drasztikusan csökkenti a piacképes termés mennyiségét (Wetter és Conti, 1988; Green, 2003).

A PMMoV patogenitását különböző növényfajokon és a vírus által okozott tüneteket Wetter et al. (1984) tanulmányozták. Vizsgálataik szerint a PMMoV különbözött más tobamovírusoktól többek között abban, hogy az általa okozott nekrotikus lokális léziók a hiperszenzitív reakcióval válaszoló dohány fajokon (*Nicotiana glutinosa*, *N. tabacum* cv. Xanthi-nc) fehérebb színűek, és szignifikánsan kisebbek voltak más tobamovírusok okozta lézióknál.

2. táblázat

A paprikát természetes körülmények között fertőző tobamovírusok

Vírusfaj	Gazdanövények	Elterjedés	Hivatkozás
<i>Bell pepper mottle virus</i> (BPeMV), csemegepaprika foltosság vírus	paprika, tojásgyümölcs	Argentína, Hollandia	Wetter et al., 1987
Chilli pepper mild mottle virus (CPMMoV)* Csilipaprika enyhe foltosság vírus	paprika	Peru	Vélez-Olmedo, 2020
<i>Obuda pepper virus</i> (ObPV) Óbuda paprika vírus	ebszőlőcsucor (<i>Solanum</i> . <i>dulcamara</i>) paprika	Magyarország	Csilléry és Ruskó, 1980 Salamon et al., 1987
<i>Paprika mild mottle virus</i> (PaMMV) fűszerpaprika enyhe foltosság vírus	paprika	Hollandia, Japán, Bulgária	Rast, 1979; Hamada et al. 2003; Stoimenova és Jordanova, 2005
<i>Pepper mild mottle virus</i> (PMMoV) paprika enyhe foltosság vírus	paprika	világszerte	McKinney, 1952; Wetter, 1984
<i>Tobacco mild green mosaic virus</i> (TMGMV) dohány enyhe zöld mozaik vírus	dohány, paprika, <i>Nicotiana glauca</i>	világszerte	McKinney, 1929 Wetter, 1984 Wetter, 1986
<i>Tobacco mosaic virus</i> (TMV) dohány mozaik vírus	több, mint 100 gazdanövény	világszerte	Mayer, 1886
<i>Tomato brown rugose fruit virus</i> (ToBRFV) paradicsom barna termésráncosodás vírus	paradicsom, paprika gyomnövények	világszerte	Salem et al., 2016
<i>Tomato mosaic virus</i> (ToMV) paradicsom mozaik vírus	több, mint 100 gazdanövény	világszerte	Hollings és Huttinga, 1976
<i>Tomato mottle mosaic virus</i> (ToMMV) paradicsom foltos mozaik vírus	paradicsom, paprika borsó	Mexikó Kína Kína	Li et al., 2013 Li et al., 2014 Zhang et al., 2022
<i>Rehmannia mosaic virus</i> (ReMV) Rehmannia mozaik vírus	paprika, paradicsom, dohány	Kína, Japán, Dél- Korea, USA	Kubota et al., 2011
Yellow pepper mild mottle virus (YPMMoV)* Sárga termésű paprika enyhe foltosság vírus	paprika	Peru	Vélez-Olmedo, 2020

*Megjegyzés: A kórokozók javasolt magyar nevét a tudományos név alatt tüntettük fel. A Peruban felfedezett két új faj (CPMMoV és YPMMoV) még nem szerepel az ICTV adatbázisban a tobamovírusok között.

Megállapították továbbá, hogy a PMMoV nem fertőzte a paradicsomot, valamint a *Nicotiana glauca*, a *N. tabacum* 'Cavala', a *N. africana* és az *Eryngium planum* növényeket. A PMMoV biotesztekben a különböző indikátor növényeken okozott tünetek alapján egyértelműen elkülöníthető a TMV-től és ToMV-től, mert azoktól eltérően, nem fertőzi szisztemikusan a *N. tabacum* cv. Samsun dohány fajtát, csak az inokulált leveleken okoz tünetmentes fertőzést. A PMMoV-re jellemző, hogy dohányban felszaporítva a TMV-hez és a ToMV-hez viszonyítva lényegesen alacsonyabb koncentrációt ér el (Wetter et al., 1984; García-Luque et al., 1990).

A PMMoV a tobamovírusokra jellemzően mechanikai úton, vagyis mechanikai sérüléseket okozó állatok, és az emberi tevékenységek (pl. metszés, kötözés) által terjed (Wetter és Conti, 1988). Specifikus rovar vektora nem ismert. A tobamovírusokra általában jellemző, hogy vetőmaggal átvihetők (Dombrovsky és Smith, 2017). A PMMoV-re külső és belső magátvitel is jellemző (Demski, 1981; Nagai, 1988; Tanzi et al., 1989; Beczner et al., 1997). A vírus Európába való behurcolása is feltételezhetően fertőzött vetőmaggal történt. A külsőleg szennyezett paprikamag felületéről a vírus a csíranövényeket apró sebeken keresztül fertőzheti (Beczner et al., 1997). Több tobamovírus, köztük a PMMoV fertőzőképesen kimutatható a paprika pollenről, ezért pollennel való terjedése is valószínűsíthető (Salamon és Kaszta, 2000).

2.4. A paprikát fertőző vírusok elleni védekezés

A vírussal fertőzött növény gyógyítására alkalmas növényvédő szerek (viricidek) nem állnak rendelkezésre, így a vírusok elleni védekezés alappillére a fertőzések megelőzése.

Ezért fontos a vírusmentes vetőmag használata, a fertőzési forrásként szolgáló gyomnövények irtása, valamint az általános higiéniai rendszabályok betartása. Utóbbi esetében fontos a fóliasátrak, vödörök, ládák és esetleg a termesztő közeg (kókuszrost) fertőtlenítése, melyhez az utóbbi években új fertőtlenítő szereket ajánlanak pl. Ecowian HIGÉN+99 (Anonymus, 2022).

A vírusok elleni biológiai védekezés történhet a keresztvédetség (cross protection) felhasználásával, melynek alapja, hogy a vírus enyhe megbetegedést okozó gyenge törzsével végzett fertőzés védelmet biztosít egy későbbi, súlyos megbetegedést okozó vírustörzs fertőzésével szemben (Horváth, 1999). A keresztvédetség gyakorlati felhasználása azonban problémás lehet, mivel a célzott gazdanövényen „gyenge” vírus más növényfajokon súlyos betegség tüneteket okozhat (Gáborjányi, 1986).

A paprikát fertőző tobamovírusok elleni védekezés eddigi legsikeresebb módja a rezisztens fajták nemesítése és termesztésbe vonása (Salamon, 2004). A tobamovírusokkal szembeni rezisztenciát a *Capsicum* nemzetségben az L gén különböző alléljai biztosítják (Boukema et al., 1980; Daskalov és Poulos, 1994). A rezisztencia a hiperszenzitív reakción alapul, ami abban nyilvánul meg, hogy a primer fertőzött sejtek és a velük közvetlen (szöveti kapcsolatban álló) sejtcsoport rövid időn belül elhal, a leveleken nekrotikus lokális léziók alakulnak ki, ahol a vírus lokalizálódik (Salamon, 2004).

A tobamovírus patotípusok megkülönböztetése annak alapján történik, hogy az izolátumok az L gén mely alléljével rendelkező *Capsicum*-fajokat, -fajtákat fertőzik szisztemikusan. Jelenlegi ismereteink szerint a tobamovírusok öt paprika patotípusba (P₀, P₁, P_{1.2}, P_{1.2.3}, P_{1.2.3.4}) sorolhatók (Boukema, 1980; Boukema, 1984; Gilardi et al., 2004; Antignus et al., 2008; **3. táblázat**). Az L⁺ allélt hordozó *Capsicum*-fajok valamennyi patotípusba

tartozó tobamovírussal szemben fogékonyak, az L¹ allél rezisztenciát biztosít a P₀, az L² a P₀ és P₁, az L³ a P₀, a P₁ és a P_{1.2}, az L⁴ a P₀, a P₁, a P_{1.2} és a P_{1.2.3} patotípussal szemben. A PMMoV három patotípusa közül Magyarországon a P_{1.2} (Kálmán, 2003) és a P_{1.2.3} (Salamon, 1993; Kiss et al., 2007) fordul elő. A modern étkezési paprika fajták ma már hibridek (Zatykó, 2006), ahol a rezisztencia géneket a keresztezések alkalmával valamelyik szülőből viszik be a hibridbe. A vetőmag cégek a fajták ismertetőjében Tm jelzéssel megjelölik a fajták tobamovírus rezisztencia szintjét, amit a fajtaválasztásnál a termelő figyelembe vehet.

3. táblázat

A paprikát fertőző tobamovírusok patotípusainak osztályozása a különböző L allélekkel rendelkező paprikák fogékonyága és/vagy rezisztenciája alapján (Salamon, 2006 után módosítva)

Tobamovírus fajok és izolátumok	Vírus patotípus	Az L gén különböző alléljeivel rendelkező paprika növények fogékonyága vagy ellenállósága				
		L ⁺	L ^{1, 1C, 1a}	L ²	L ³	L ⁴
<i>Bell pepper mottle virus</i> (BPemV)	P ₀	F	R	R	R	R
Chilli pepper mild mottle virus (CPMMoV)	P ₀	F	R	R	R	R
<i>Tobacco mosaic virus</i> (TMV)	P ₀	F	R	R	R	R
<i>Tobacco mild green mosaic virus</i> (TMGMV)	P ₀	F	R	R	R	R
<i>Tomato brown rugose fruitvirus</i> (ToBRFV)	P ₀	F	R	R	R	R
<i>Tomato mottle mosaic virus</i> (ToMMV)	P ₀	F	R	R	R	R
<i>Tomato mosaic virus</i> (ToMV)	P ₀	F	R	R	R	R
Yellow pepper mild mottle virus (YPMMoV)	P ₀	F	R	R	R	R
<i>Obuda pepper virus</i> (ObPV)	P ₁	F	F	R	R	R
<i>Paprika mild mottle virus</i> (PaMMV)	P ₁	F	FL1/RL1a	R	R	R
<i>Rehmannia mosaic virus</i> (ReMV)	P ₁	F	FL1/RL1a	R	R	R
<i>Pepper mild mottle virus</i> (PMMoV)	P _{1.2}	F	F	F	R	R
	P _{1.2.3}	F	F	F	F	R
	P _{1.2.3.4}	F	F	F	F	F

Megjegyzés: F = fogékony, R = rezisztens.

3. ANYAG-ÉS MÓDSZER

3.1. A vizsgálatok helye és ideje

Patológiai vizsgálatainkat Gödöllőn a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem (MATE) Szent István Campus, Genetikai és Biotechnológiai Intézet, Alkalmazott növénygenomikai csoport üvegházában, a molekuláris vizsgálatokat a MATE Növényvédelmi Intézet, Növénykórtani Tanszékének laboratóriumában végeztük. A nukleotid sorrend meghatározását Hollandiában a BaeClear B.V. cég végezte.

3.2. A vizsgálatok anyaga

3.2.1. A vizsgált paprika minták származása

Dél-magyarországi hibridpaprika előállító gazdaságból 2022 júliusában két olyan beteg anyanövényt kaptunk, melyekről feltételeztük, hogy vírussal fertőzöttek.

3.2.2. Vírusizolátumok

Az Óbuda paprika vírus XM izolátumát (ObPV-XM, Salamon, 2006) valamint a paradicsom barna termésráncosodás vírus Jo2 izolátumát (ToBRFV-Tom2-Jo, Jewehan et al., 2022) a MATE vírus gyűjteményétől kaptuk.

3.2.3. Tesztnövények

A kísérleteinkhez az alábbi tesztnövényeket használtuk:

- *Capsicum annuum* cvs. Fehérözön, Kéra (különböző rezisztenciájú paprika fajták)
- *C. chinense* PI 159236
- *Chenopodium murale*
- *Ch. quinoa*
- *Ch. amaraticolor*
- *Solanum dulcamara*
- *S. lycopersicum* cv. Moneymaker
- *Nicotiana benthamiana*
- *N. clevelandii*
- *N. glutinosa*
- *N. tabacum* cv. Xanthi-nc
- *N. tabacum* cv. Samsun
- *N. sylvestris*

3.2.4. Felhasznált eszközök, vegyszerek, enzimek, kitek, műszerek

Az üvegházi vizsgálatainkhoz alkalmazott eszközök, vegyszerek: különböző méretű cserép, szaporítóláda, Klassmann-Deilman Traysabstra talaj, öntözőkanna, rovarfogó lapok, kézi permetezőgép,

hurkapálcák, nádpálca, csávázószerek (NaOH, Ecowian HIGÉN+99), növényvédőszer (Mospilan, Previcur), műtrágya (Volldünger).

Az össznukleinsav-kivonáshoz kereskedelmi forgalomba kapható (AppliChem, Merck – EMSURE) vegyszereket alkalmaztunk. A reverz transzkripció során Thermo Fisher Scientific termékeket használtuk, többek között RevertAid reverz transzkriptáz enzimet, RiboLock ribonukleáz inhibitor, 5x RT puffert és 5 mM-os dNTPs-t. A PCR eljáráshoz szintén a Thermo Fisher Scientific által forgalmazott DreamTaqGreen PCR Master Mix-et (DreamTaq DNA Polymerase, 2X DreamTaqGreen buffer, dNTPs, 4 mM MgCl₂), valamint nukleázmentes vizet használtunk. PCR termékeinket a gyártó (Roche) utasításainak megfelelően a High Pure PCR Product Purification Kittel (11732668001) tisztítottuk.

A reverz transzkripció és a PCR GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems) készülékben zajlott. A tisztított PCR termékeink koncentrációját NanoDrop Spectrophotometerrel (Thermo Fisher Scientific) mértük meg.

3.2.5. Felhasznált primerek (indítószekvenciák)

A tobamovirusok kimutatására az RT-PCR tesztekhez az alábbi primer párokat használtuk:

Unitobamo 5' for G(AT)CGC(GC)GA(GT)C(GT)GATTCGT(AT)TTAAATATG; Unitobamo 3' rev TGGGCC(GC)CTACC(GC)G(GC)GG (Kálmán et al. 2001). Koltrollként használtuk a *C. annuum* actin for AGGGATGGGTCAAAGGATGC és *C. annuum* actin rev GAGACA ACACCGCCTGAATAGC primereket. A reverz transzkripcióhoz random hexamert használtunk.

3.3. A vizsgálatok módszere

3.3.1. A vizsgálatba vont paprika minták kezelése

A laboratóriumba érkezett paprika minták levélzetén és a bogyóin megfigyelhető tüneteket feljegyeztük. A két beteg anyanövény (jelölésük: Ap1 és Ap2) már bogyókat kötött 8-10 leveles hajtásait laboratóriumi viszonyok között csapvízben tartottuk. A növényekről a tüneteket mutató és tünetmentes bogyókat leszedtük és a további vizsgálatokhoz szobahőmérsékleten érleltük.

3.3.2. Növények nevelése és gondozása

A kísérletben felhasznált tesztnövények magjait növényházban szaporítótálcákba Klassmann-Deilman Traysabstra talajba vetettük. Tűzdeléses palántanevelést alkalmaztunk. A növényeket 2-3 leveles korban 6-8 cm átmérőjű cserepekbe ültettük. A tűzdeléskor fertőtlenített csipeszt, illetve fertőtlenített tálcákat a kiültetéskor fertőtlenített cserepeket használtunk. A palántadőlés ellen Previcur (propamokarb) növényvédőszeres kezelést alkalmaztunk. A vektorok ellen rendszeresen védekeztünk Mospilan (acetamiprid) készítménnyel. A növényházi hőmérsékletet 22-26 °C között tartottuk.

3.3.2. Mechanikai vírusátvitel és biotesztek

A mechanikai vírusátvitelhez a vizsgálati növények leveleit és magjait hűtött dörzsmozsárban steril desztillált víz hozzáadása után (1/5-10 v/w) homogenáltuk. Az így nyert présnedvekkel az előzőleg karborundum porral (400 mesh) enyhén leszórt teszt növények 2-3 levelét dörzsöltük be.

3.3.3. Gazdanövénykör vizsgálata

A gazdanövényköri vizsgálatokhoz a *Solanaceae*, valamint az *Amaranthaceae* növénycsaládhoz tartozó 13 növényfaj egyedeit inokuláltuk az Ap1 és az Ap2 izolátumokkal külön-külön. Az inokulált növények reakciót 3-4 héten keresztül folyamatosan figyelemmel kísértük és feljegyeztük. A szisztemikus tüneteket nem mutató növények csúcsi és inokulált leveleiről visszafertőzési kísérletet végeztünk lokális léziókkal reagáló *N. glutinosa*, *N. tabacum* cv Xanthi-nc növényekre. A *Ch. murale* fogékonyságát az A2 izolátummal szemben többszöri fertőzési kísérletben tanulmányoztuk.

3.3.4. Keresztvédettség

A keresztvédettség tanulmányozásához 6-8 leveles korú *Nicotiana tabacum* cv. Xanthi-nc indikátor növény egyik alsó kifejlett levelének a főértől balra eső felét mechanikailag inokuláltuk az ObPV-XM izolátumot tartalmazó növény présnedvével, majd 4 nap múlva ugyanennek a levélnek az egész felületét fertőztük a vizsgált vírust tartalmazó inokulummal. Az eredményt tüneti vizsgálattal ellenőriztük.

3.3.5. Vetőmag preparálás és csávázás

A biológiai érettségben lévő, tünetet mutató Ap1 és Ap2 bogyókból valamint az Ap2 tő tünetmentes bogyójából kinyertük a magokat. Szárítás után minden magtételből 10-10 magot eppendorf csövekbe helyeztünk, melyekhez külön-külön 2-2 ml 2%-os NaOH, illetve Ecowian HIGÉN+99 vegyszereket, mint csávázószereket adtunk. Kontrollként 10-10 magot desztillált vízzel kezeltünk. 10 perc rázatás után a vegyületeket a magokról leöntöttük, majd a kezelt magokhoz 2 ml desztillált vizet adtunk és rázatás után a felülúszóval lokális léziókkal reagáló teszt növényeket mechanikailag inokulálunk a vírus kimutatáshoz.

3.3.6. Vírusok magátvitelének vizsgálata

A magátviteli vizsgálathoz egy szaporító láda egyik felébe az Ap2 beteg bogyóból származó 72 db NaOH-val kezelt, míg a másik felébe ugyanazén bogyóból származó 72 db csávázatlan paprika magot vetettük el soronként 12 maggal. A kelést követően nyomon követtük a betegségi tünetek kialakulását a palántákon, és soronként feljegyeztük a tüneteket mutató növényeket. A vírushozzásra utaló tüneteket mutató növények közül 5 egyedet, míg a tünetmentes növények közül 3 palántát cserébe átültettünk, és 4-5 hétig figyeltük fejlődésüket. Az Ap1 minta esetében a csávázatlan magból, az Ap2 minta esetében a magátvitel után tüneteket mutató palántáról vettünk vizsgálati mintát a PCR tesztekhez.

3.3.7. Molekuláris vizsgálatok

3.3.7.1. Össznukleinsav (TNS) kivonása a növényi mintákból

Az össznukleinsav (TNS) kinyerésére módosított CTAB módszert alkalmaztunk (Xu et al., 2004).

- Fertőzött és egészséges paprika növényekről vett, kb. 2 cm² levélmintát, illetve beteg és tünetmentes paprika bogyóból származó nem csávázott 5-5 db magot jégen hűtött dörzsmozsárban eldörzsöltünk, roncsoltuk a sejtfalat. Ezzel egyidejűleg β-mercaptoetanolt adtuk a lízispufferhez.
- 1 ml, β-mercaptoetanolt tartalmazó lízis puffert mértünk a dörzsmozsárba, majd a homogenátumot 2,0 ml-es Eppendorf csövekbe töltöttük, alaposan összekevertük az elegyet, majd 10 percenkénti invertálás mellett vízfürdőben tartottuk azt 30 percig, 65 C-on.
- A következő mérést vegyifülkében végeztük. Hozzáadtunk 800 μl kloroform:izo-amilalkohol 24:1 arányú keveréket, valamint 100 μl 5M K-acetátot, ezután vortex-szel intenzíven homogenizáltuk, végül centrifugáltuk az elegyet (8000rpm/5 perc).
- A következő lépésként egy új steril 2,0 ml Eppendorf csőbe pipettával leszívtuk a teljes felülúszót (800-850 μl). Vegyi fülkében hozzáadtunk az elegyhez 800 μl kloroform:izo-amilalkoholt (24:1), majd ismételten intenzíven homogenizáltuk vortex segítségével, azután centrifugálás következett (8000 rpm/5 perc).
- Egy új 1,5 ml-es Eppendorf csőbe gondos odafigyeléssel, az interfázis nélkül, átpipettáztuk a felülúszót (~750 μl). Hozzáadtunk először 80 μl 3M Na-acetátot, majd 750 μl izo-propanolt. Óvatos forgatással összekevertük az elegyet, míg a homogén állapotot el nem érte. Ezután 20-30 percig szobahőmérsékleten állni hagytuk.
- A mintáinkat 8 percig maximális fordulatszámon (13.000 rpm) centrifugáltuk, ezután a felülúszót fokozott figyelemmel elöntöttük. Az össznukleinsav üledéket körültekintően kétszer átmostuk teljes térfogatnyi, (hozzávetőleg 1,5 ml) 70%-os etanollal. A mosások között 60 másodperc időtartam erejéig 13 000 rpm fordulatszámon centrifugálást végeztünk. Végezetül a megmaradt etanolt rövid (30 mp), teljes fordulatú (13 000 rpm) centrifugálással leüleptítettük, és 0,2 ml-es hegyes pipettavéggel leszívtuk.
- A mintáinkat nyitott tetővel 10-20 percig szárítottuk, ezt követően 30 μl mennyiségű steril desztillált vízben visszaoldottuk. A mintákat -70 °C-on tároltuk a soron következő munkafolyamatig.

3.3.7.2. Reverz transzkripció (cDNS szintézis)

Reverz transzkripció során állítottuk elő a vizsgált vírusaink RNS molekuláival komplementer DNS (cDNS) első szálát. A cDNS szintéziséhez az elkészített össznukleinsav-kivonatot használtuk fel, amely tartalmazta a vírus RNS-eket is. A reakcióhoz random hexamer primert (SO142 Thermo Scientific) használtunk.

A 10 µl végtérfogatú reakcióelegy az alábbi komponensekből állt:

- 3 µl TNS
- 1 µl, 100 pmol/µl koncentrációjú random hexamer primer
- 1 µl, 5mM konc. dNTPs
- 2 µl H₂O
- 2 µl, 5x reverz transzkriptáz (RT) puffer
- 0,5 µl, 200 U/µl konc. RevertAid reverz transzkriptáz enzim
- 0,5 µl, 40 U/µl konc. RiboLock ribonukleáz inhibitor

A TNS kivonatot a primerrel PCR csövekbe összemértük, és 65 °C-on 5 percig inkubáltuk. Ezt követően a PCR csöveket 2 percig 4 °C-on tartottuk, majd a reakcióelegy egyéb összetevőit is hozzáadtuk.

A cDNS szintézis 10 percig 25 °C-on, majd 60 percig 42 °C-on ment végbe, majd utolsó lépésként az enzim inaktivitása 10 percig 70 °C-on történt. Ily módon elkészült cDNS-eket -20 °C -on tároltuk.

3.3.7.3. Polimeráz láncreakció (PCR)

25 µl végtérfogatú reakcióelegyket készítettünk az alábbi összetevőkből:

- 1,5 µl cDNS
- 12,5 µl DreamTaq Green PCR Master Mix
- 10 µl nukleáz-mentes H₂O
- 0,5 µl forward primer, 20 pmol/µl konc.
- 0,5 µl reverz primer, 20 pmol/µl konc.

A PCR eljárás első lépése, az elődenaturáció 94 °C-on 3 percig tartott, majd 35-ször ismételtük a következőket: denaturáció 94 °C -on fél percig, a primerek kapcsolódása 60 °C -on fél percig, majd a lánchosszabbítás 72 °C -on 1 percig. A legutolsó lépés a végső lánchosszabbítás volt, ami 72 °C 10 perc alatt ment végbe.

3.3.7.4. Gélelektroforézis

A kapott össznukleinsav-kivonatokot, illetve PCR terméket 1%-os TBE agaróz gélben futattuk. A hozzáadott GelRed festéknek köszönhetően a fragentumokat UV fényben láthatóvá váltak. A fragentumok hosszának meghatározásához tömegmarkert alkalmaztunk, melyet mindig az első mintahelyre vittük fel.

3.3.7.5. A PCR-termékek tisztítása

A 10 vizsgált mintánk közül 2 mintát (Ap1 mag, Ap2 palánta pozitív magátvitel) tisztítottunk szekvenáláshoz. A PCR termékek tisztítását a High Pure PCR Product Purification Kittel (Roche) a gyártó utasításai alapján végeztük az alábbiak szerint:

- A PCR termékeket 100 µl végtérfogatra egészítettük ki nukleáz mentes vízzel, majd az elegyhez 500 µl Binding Buffer-t adtunk, és intenzíven homogenizáltuk.

- A mellékelt szűrőket a gyűjtőcsövekbe helyeztük, és az elegyeket átmértük a szűrőkbe, majd 5 perc centrifugálás következett.
- A gyűjtőcsövekbe átfolyt folyadékot a szűrőket kiemelve előtöttük, majd visszahelyeztük azokat a csövekbe.
- Rámértünk a szűrőre 500 µl Wash Buffer mosópuffert, azután 1 percig maximum fordulatszámon centrifugáltuk a csöveket.
- Ismét előtöttük az átfolyt folyadékot a gyűjtőcsövekből a szűrők kielemlésével, és ismét visszahelyeztük a szűrőket a gyűjtőcsövekbe. Hozzáadtunk 200 µl Wash Buffer-t, majd ismét 1 percig centrifugáltuk maximális fordulatszámon.
- Ismét előtöttük az átfolyt folyadékot a gyűjtőcsövekből a szűrők kielemlésével, és ismét visszahelyeztük a szűrőket a gyűjtőcsövekbe, majd ismét 1 percig centrifugáltuk a csöveket maximális fordulatszámon.
- A gyűjtőcsöveket az átfolyt folyadékkal együtt eldobtuk, a szűrőket pedig új, tiszta 1,5 ml Eppendorfokba helyeztük.
- A szűrőkre 30 µl Elution Buffer-t mértünk, majd 1 percig teljes fordulatszámon centrifugáltuk a csöveket.
- Gélelektroforézissel vizsgáltuk, hogy a számunkra szükséges tiszta nukleinsavat ténylegesen tartalmazza-e az elegyünk.
- A tisztított mintákat -20 °C- on tároltuk.

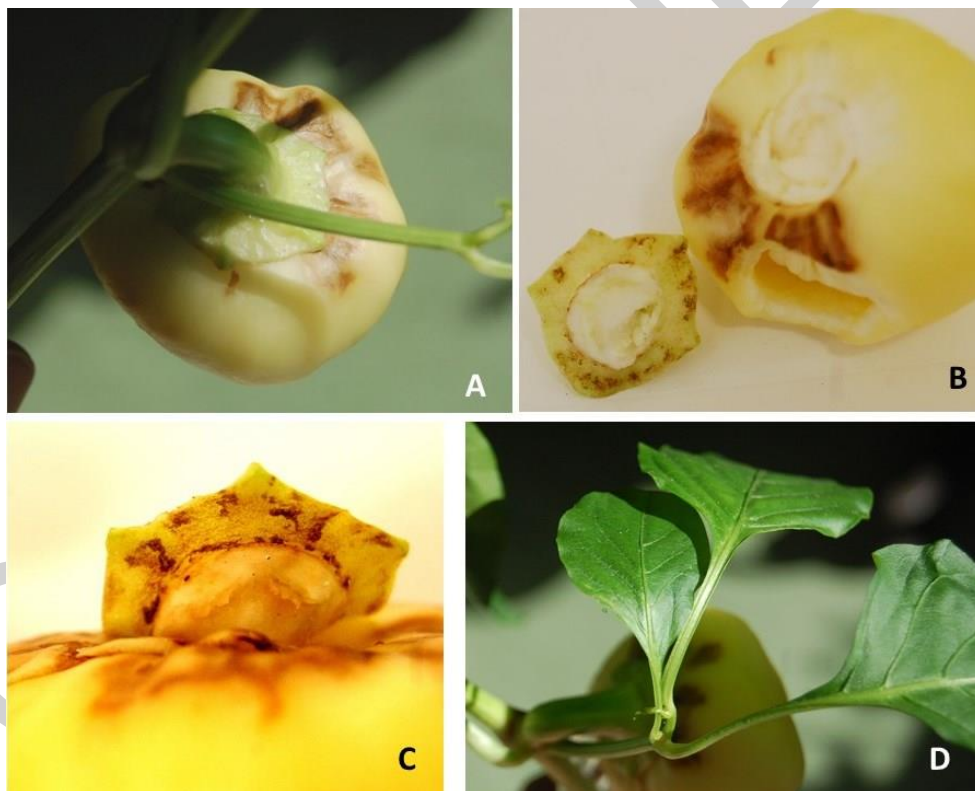
3.3.7.6. Nukleotid szekvenciák meghatározása és elemzése

A tisztított PCR termékek koncentrációját NanoDrop Spectrophotometerrel meghatároztuk, a szekvenáláshoz szükséges reakcióelegyet összemértük, és azt a hollandiai székhelyű BaseClear B.V. céghez küldtük szekvenálásra. A szekvenciák elemzéséhez a Chromas (version 2.6.6) és a CLC SequenceViewer 8.0 programokat használtuk. A saját szekvenciáinkat a National Center for Biotechnology Information (NCBI) adatbázisában fellelhető szekvenciákkal az NCBI Basic Alignment Search Tool (BLAST) programját használva összehasonlítottuk.

4. EREDMÉNYEK

4.1. Különleges vírusos megbetegedés paprika növényeken: előfordulás és betegség tünetek

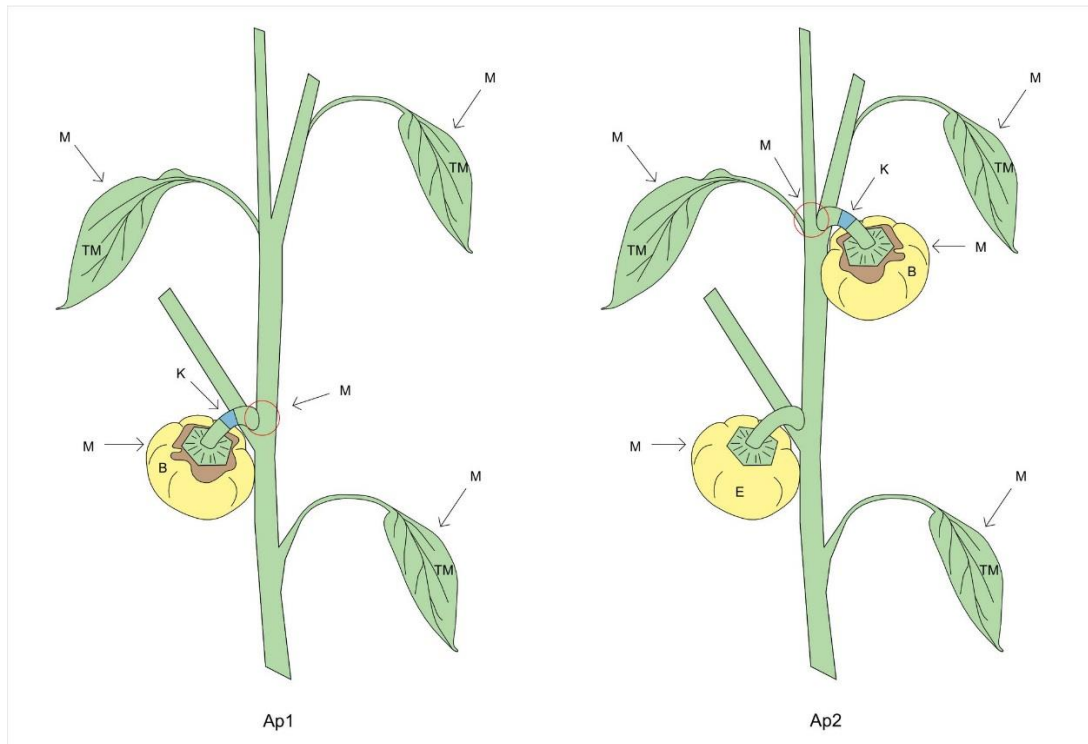
2022 nyarán paprika hibrid vetőmagot előállító hajtató üzemből olyan beteg paprika növényeket (jelzésük: Ap1 és Ap2) küldtek a MATE Szent István Campus, Genetikai és Biotechnológiai Intézet, Alkalmazott Növénygenomikai Csoporthoz, melyek biológiai érés előtt álló kifejtett bogyóin barna elhalásos tüneteket figyeltünk meg. A vírusfertőzésre utaló tünetek főként a kocsányhoz közeli szövetrészekben alakultak ki (**2. A ábra**). Az elhalások elsősorban a bogyó héjára terjedtek ki, a bogyóhúsban csak elvétve fordultak elő (**2. B ábra**). A csészelevelet a bogyóról leválasztva azt tapasztaltuk, hogy a csészelevél bogyóhússal érintkező belső részén szintén elhalt foltok jelentek meg, azonban sem a csésze külső részén sem a kocsányon elhalások nem fordultak elő (**2. C ábra**). A beküldött két paprika növényen tüneteket csak a terméseken figyeltünk meg, lombozatuk és száraik teljesen tünetmentesek voltak (**2. D ábra**). A beteg bogyók mindegyikének (5 bogyó) kocsányán a keresztelésre utaló festékfolt fordult elő. Egy bogyó tünetmentes volt keresztelésre utaló jelzés nélkül.



2. ábra Vírusfertőzésre utaló betegség tünetek paprika bogyókon és tünetmentes levelek a beteg bogyókat nevelő növényen

4.2. Vírusok kimutatása biotesztekkel különböző növényi részekből

A vírusok jelenlétének kimutatására az Ap1 és Ap2 paprika minták különböző részeiből (1-1 bogyó hús szelete, 3-3 tünetmentes levél, a beteg bogyóhoz közeli szárrész) vettünk szövetmintát (3. ábra), és az ezekből nyert szövetnedvvel minden esetben *Nicotiana glutinosa* növényeket, illetve a bogyóminták esetében ezen kívül *C. annuum* cv Fehérözön, *Ch. murale*, *Ch. amaranticolor* *N. clevelandii*, *N. tabacum*. Xanthi-nc teszt növényeket inokuláltunk (4. ábra).



3. ábra Ap1 és Ap2 növényi minták vázlatos rajza

Jelmagyarázat: M = Mechanikai átvitel (bioteszt); TM = tünetmentes; K = keresztelés jelzése a kocsányon; B = beteg; E = tünetmentes bogyó

Megállapítottuk, hogy beteg bogyók szövetnedvével inokulált *N. glutinosa* és *N. tabacum* cv. Xanthi-nc levelein 4-5 nappal az inokuláció után nagyszámú (>50) pontszerű, fehér nekrotikus lokális lézió jelent meg, melyek később jelentősen nem nőttek. A *Chenopodium* fajok közül a *Ch. amaranticolor*-on klorotikus-nekrotikus léziókat figyeltünk meg, míg a *Ch. murale* tünetmentes maradt. A *N. clevelandii* és a *C. annuum* cv. Fehérözön szisztemikus mozaik foltosságot és deformációt mutattak. Az Ap1 és Ap2 növényekről származó izolátumok között a teszt növények reakcióit tekintve jelentős különbséget nem tudtunk kimutatni, eltekintve attól, hogy a Fehérözön paprika fajtán az Ap1 izolátum enyhébb mozaik tüneteket okozott, később kigyógyult, majd az újabb leveleken ismételen enyhe tünetek jelentek meg. A beteg bogyók közeléből, a növények szárából vett szövetmintából készített inokulációkkal bedörzsölt *N. glutinosa* leveleken az Ap1 minta esetében nagy koncentrációban mutattunk ki nekrotikus léziókat előidéző vírust, míg hasonló teszt az Ap2 minta esetében negatív eredménnyel járt. Az Ap1

és Ap2 paprika minták leveleiből készült szövetnedvek a *N. glutinosa*-n vírusfertőzésre jellemző tüneteket nem okoztak. Nem tudunk bioteszttel fertőző vírust kimutatni a tünetmentes bogyó húsából sem.



4. ábra Vírusizolálási kísérletek különböző tesztnövényeken az Ap1 és Ap 2 paprika minták beteg bogyóiról

4.3. A vírusizolátumok tulajdonságai

4.3.1. Gazdanövénykör és szimptomatológia

A gazdanövénykör tanulmányozásakor 14 különböző növényfaj és fajta fogékonyságát és/vagy ellenállóságát vizsgáltuk (4. táblázat). A 14 növényből három növény (*Ch. murale*, *S. dulcamara* és *S.*

lycopersicum) bizonyult ellenállóknak. Hét növényfaj (*C. annuum* cv. Kéra; *Ch. amaranticolor*, *Ch. quinoa*, *N. glutinosa*, *N. sylvestris* és *N. tabacum* cvs. Samsun és Xanthi-nc) csak lokális fogékonyságot mutatott.

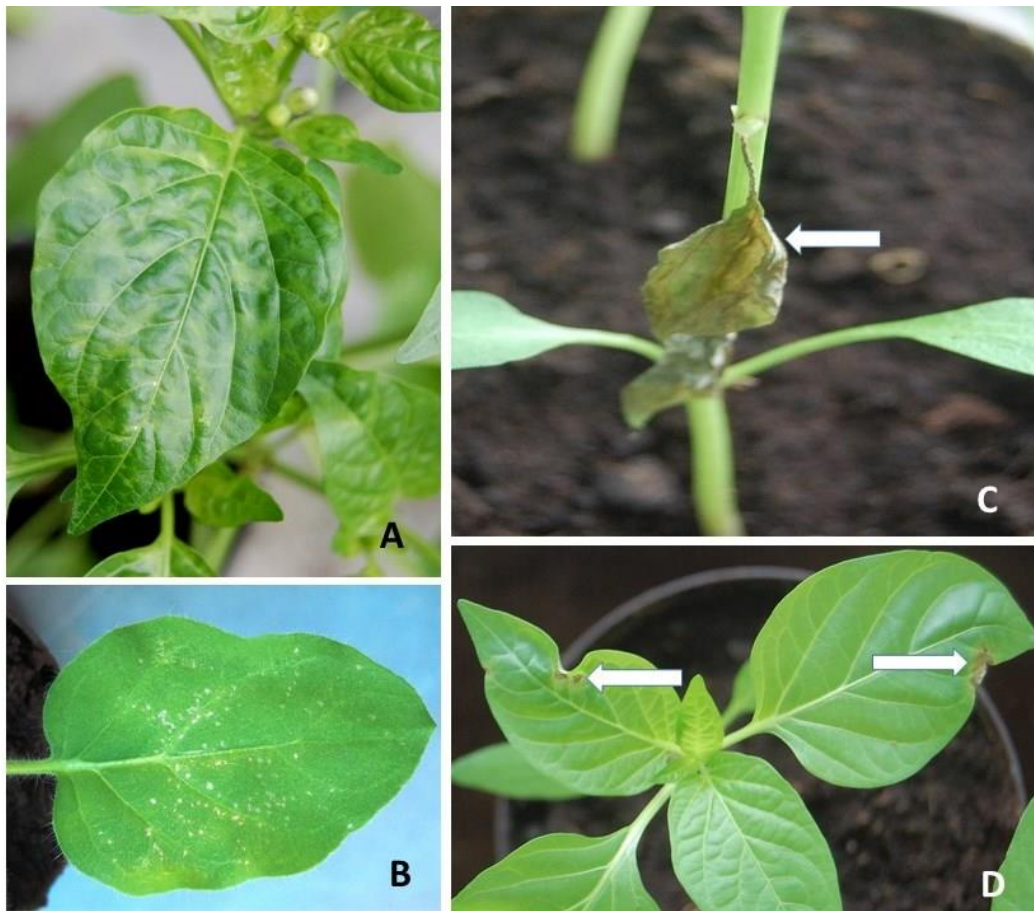
4. táblázat

Különböző növényfajok reakciói az Ap2 izolátummal végzett inokulációra

Inokulált növényfaj	IL	NIL
<i>Capsicum annuum</i> cv. Fehérözön	tm	kl, mo, tö, d
<i>Capsicum annuum</i> cv. Kéra	nf, lh	(nf), tm
<i>Capsicum chinense</i> PI 159236	kl	mo
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	kll	tm
<i>Chenopodium murale</i>	tm	tm
<i>Chenopodium quina</i>	kl	tm
<i>Nicotiana benthamiana</i>	tm	mo
<i>Nicotiana clevelandii</i>	tm	kl, d, tö
<i>Nicotiana glutinosa</i>	nll > 50	tm
<i>Nicotiana sylvestris</i>	nll	tm
<i>Nicotiana tabacum</i> cv. Xanthi-nc	nll	tm
<i>Nicotiana tabacum</i> cv. Samsun	tm	tm
<i>Solanum dulcamara</i>	tm	tm
<i>Solanum lycopersicum</i>	tm	tm

Jelmagyarázat: IL = inokulált levelek (lokális reakciók); NIL = nem inokulált (csúcsi) levelek (szisztémikus reakciók); d = deformáció; kl = klorózis; kll = klorotikus lokális lézió; lh = levélhullás; nf = nekrotikus foltok; () = esetenként; nll = nekrotikus lokális lézió; mo = mozaik; tm = tünetmentes; tö = törpülés

A *Ch. amaranticolor* és *Ch. quinoa* fajok inokulált levelein klorotikus léziók és foltok alakultak ki, míg a *N. glutinosa*, *N. sylvestris* és *N. tabacum* cv. Xanthi-nc gyorsan megjelenő (2-3 nap) nekrotikus lokális léziókkal reagáltak (5. B ábra). A *N. tabacum* cv. Samsun nem mutatott tüneteket, azonban inokulált leveiből *N. glutinosa*-n léziókat előidéző vírust mutattunk ki. A lokális léziókkal és az inokulált levelek lehullásával reagáló Kéra paprika fajtán olykor elszórtan szisztémikus elhalt foltok jelentek meg (5. C ábra és 5. D ábra). Ezekből a foltokból *N. glutinosa* bioteszttel nekrotikus léziókat okozó vírust mutattunk ki. Négy növényfaj (*N. benthamiana*, *N. clevelandii*, *C. annuum* cv. Fehérözön és *C. chinense* P.I 159236) szisztémikus mozaik, törpülés és deformáció tüneteket mutatott (5. A ábra). Néhány növényfaj fogékonyságának vagy rezisztenciájának ellenőrzéséhez a fertőzési kísérleteket különböző évszakokban többször megismételtük. Így pl. három független fertőzési kísérletet végeztünk a *Ch. murale* növényeken és mindhárom alkalommal a növény magas szintű rezisztenciáját („immunitás”) állapítottuk meg.



5. ábra Szimptomák az Ap2 izolátummal inokulált növényeken

Megjegyzés: Lokális (B, C) és szisztémikus (A, D) tünetek a *C. annuum* cv. Fehérözön (A), *N. glutinosa* (B), valamint a *C. annuum* cv. Kéra (C, D) növényeken. A nyilak a csúcsi leveleken olykor megjelenő nekrotikus foltokat mutatják.

4.3.2. Keresztvédettség

A keresztvédettségi teszt értékelésekor megállapítottuk, hogy a *N. tabacum* cv. Xanthi-nc növényeken az ObPV-XM izolátum 4 nappal az inokuláció után vírusfertőzésre jellemző tüneteket nem okozott. Az Ap2 izolátummal történt felülfertőzést követően a Xanthi-nc növények inokulált levelein nagyszámú nekrotikus lézió alakult ki az ObPV-XM izolátummal nem előfertőzött levélfeleken, míg az előfertőzött levélfelek tünetmentesek maradtak (6. ábra).



6. ábra Az Ap2 izolátum által okozott nekrotikus lokális léziók a Xanthi-nc dohányfajta ObPV-XM izolátummal nem inokulált levélfelén

4.3.3. A vetőmag szennyezettségének és csávázó szerek hatékonyságának vizsgálata

Az Ap1 és Ap2 növények utóérlelt beteg bogyóiból (7. ábra) származó 10-10 nem csávázott vetőmagról nagy mennyiségű vírust mutattunk ki *N. glutinosa* tesztnövényen. A NaOH-os és Ecowian HIGÉN +99 kezelések után *N. glutinosa* bioteszttel a magokról vírust nem tudtunk kimutatni.



7. ábra Az Ap2 növényről származó utóérlelt beteg (balra) és tünetmentes (jobbra) bogyó

4.3.4. Magátvitel vizsgálata

Az Ap2 beteg bogyóból származó NaOH oldattal kezelt 72 magból összesen 58 kelt ki. Egy hónappal a kelés után (4-6 leveles állapotban) vírusfertőzés tüneteit a kezelt állomány egyedein nem figyeltünk meg. A nem kezelt 72 magból 64 kelt ki, melyek közül 8 egyedben (12,5%) figyeltünk meg elhalásos és mozaik tüneteket (8.

ábra). A beteg palánta növényekről sikeres biotesztet végeztünk *N. glutinosa* teszt növényekre, melyeken lokális léziók alakultak ki.

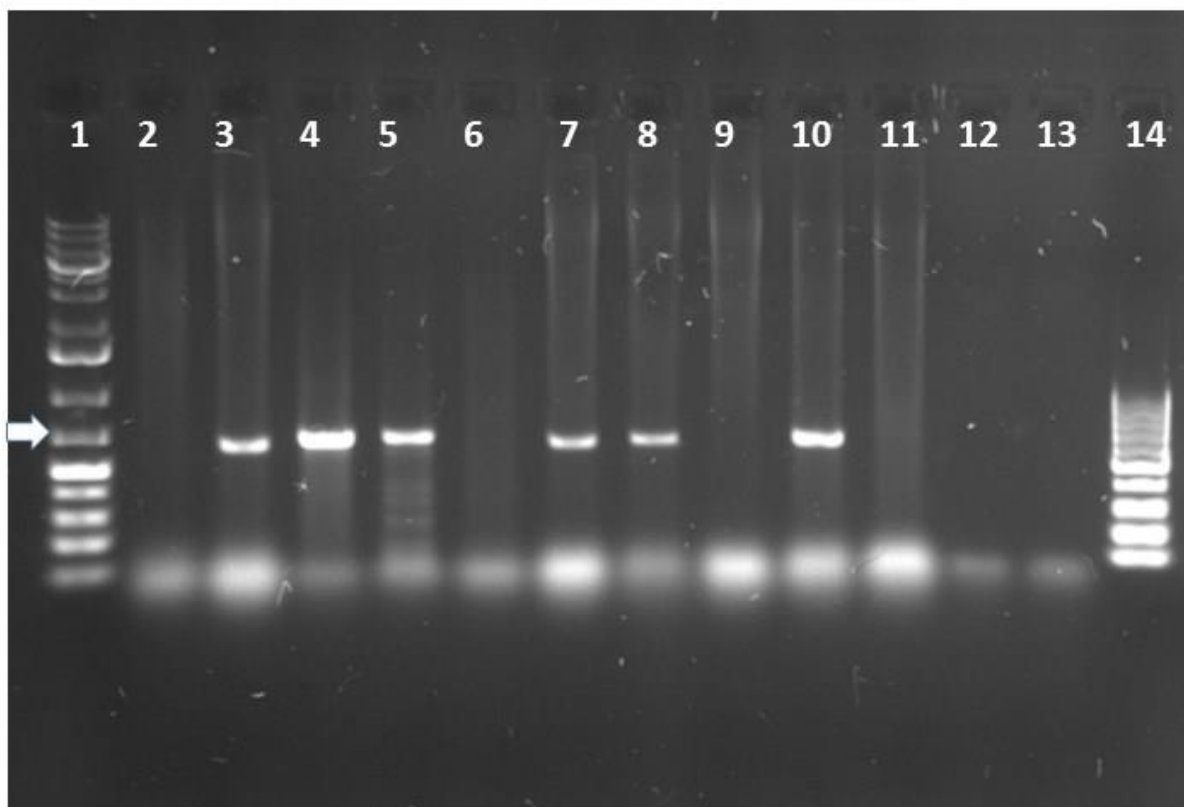


8. ábra Tünetmentes palánta (balra) illetve sárgulás, törpülés és enyhe mozaik tünet (jobbra) a beteg Ap2 bogó nem csávázott magjáról nevelt palántán

4.3.5 Molekuláris vizsgálatok

4.3.5.1 Tobamovírusok kimutatása különböző növényi részekből RT-PCR módszerrel

Az RT-PCR vizsgálatokkal a tobamovírusokra jellemző kb. 700 bp hosszúságú PCR-termék keletkezett az Ap2 beteg bogó szövetnedvével inokulált Fehérözön paprika teszt növény és az Ap2 magátviteli kísérletből származó beteg palánták levelei, valamint az Ap1 és Ap2 növények beteg bogóiból származó magok, továbbá a pozitív kontrollként alkalmazott, ToBRFV-vel fertőzött paradicsom levél vizsgálatakor Nem kaptunk amplifikált terméket az Ap2 magátviteli kísérletből származó tünetmentes palánta, az Ap2 növény tünetmentes bogójának magja, valamint a negatív kontroll paradicsom levél, és a vízminták esetében. Nem keletkezett PCR-termék az Ap1 beteg bogó szövetnedvével inokulált, fertőződött Fehérözön paprika levélminta vizsgálata során sem (**9. ábra**).

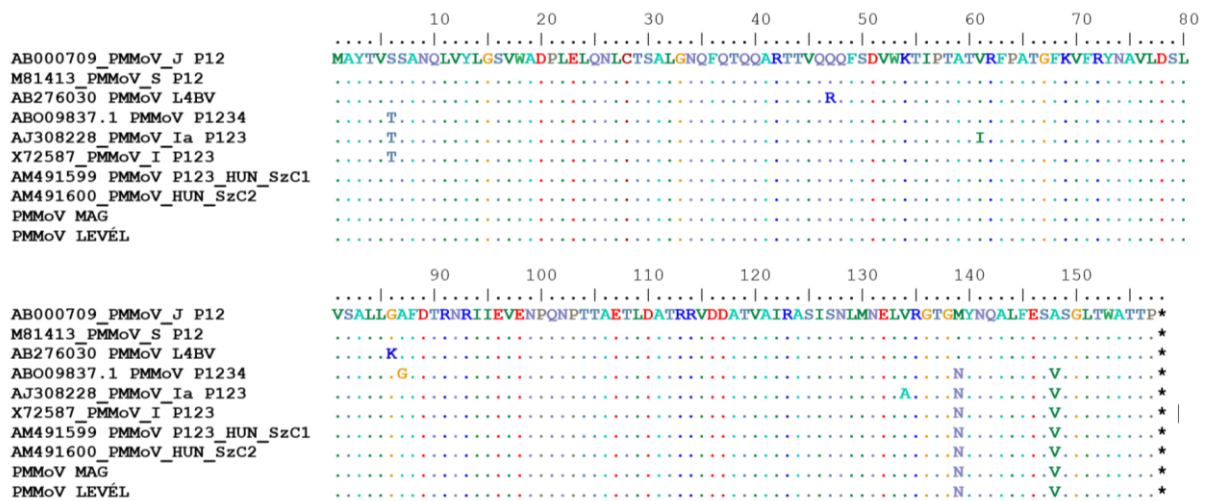


9. ábra Különböző növényi részek Unitobamo primerekkel végzett RT-PCR vizsgálatokor keletkezett PCR-termékek elektroforetikus képe

Jelmagyarázat: 1 = GeneRuler™ 1 kb Plus DNA Ladder nukleinsav méretmarker (a nyíl 700 bp-t jelöl); 2 = az Ap1 beteg bogyó szövetnedvével inokulált Fehérözön paprika levele; 3 = az Ap2 beteg bogyó szövetnedvével inokulált Fehérözön paprika levele; 4 = az Ap1 növény beteg bogyójának magja; 5 = az Ap2 növény beteg bogyójának magja; 6 = Ap2 növény tünetmentes bogyójának magja; 7-8. = beteg palánták az Ap2 magátviteli kísérletből; 9 = tünetmentes palánta az Ap2 magátviteli kísérletből; 10 = pozitív kontroll, ToBRFV-vel fertőzött paradicsom levele; 11 = negatív kontroll, egészséges paradicsom levele; 12-13. = víz minták; 14 = GeneRuler™ 100 bp Plus DNA Ladder nukleinsav méretmarker

4.3.5.2 Nukleotid szekvenciák meghatározása és a szekvencia adatok elemzése

Megállapítottuk, hogy az Ap1 beteg bogyó magjairól és az Ap2 magátviteli kísérletből származó beteg palántáról készült PCR termékek a tobamovírusokra jellemző molekula tömegű, 158 aminosavból álló, teljesen azonos aminosav sorrendű fehérjét kódoltak (**10. ábra**). A GenBanki adatokat elemezve (BLAST) megállapítottuk, hogy mindkét amplikon a PMMoV izolátumok CP gén bázissorrend adataival több, mint 99%-os hasonlóságot mutatott. Az általunk vizsgált amplikonok aminosav szinten teljes szekvencia azonosságot mutattak egymással, valamint két korábban szekvenált magyar PMMoV izolátummal. Hasonlóan a P_{1,2,3} patotípusú ismert izolátumokhoz, a 139. és a 148. aminosav pozíciókban különböztek a P_{1,2} patotípusú PMMoV izolátumoktól, valamint a P_{1,2,3,4} patotípusú L4BV izolátumtól.



10. ábra Az Ap1 beteg bogyó magjairól (PMMoV mag) és az Ap2 magátviteli kísérletből származó beteg palántáról (PMMoV levél) készült PCR-termékek származtatott aminosav szekvencia adatainak összehasonlítása ismert PMMoV izolátumok CP aminosav sorrendjével.

5. KÖVETKEZTETÉSEK

A vizsgált Ap1 és Ap2 paprika növényeken megfigyelt tünetek, különösen a bogyókon tapasztalt elhalások vírus(ok) fertőzésére utaltak, annak ellenére, hogy a lombzaton betegsünetek nem alakultak ki. Ez az eset hasonlított Salamon et al. (2008) által közölt kóresetekhez, melyekben idősebb, már kifejlett paprikáknak csak a bogyóin jelentek meg tünetek a CMV vagy a TSWV fertőzése után. Ennek alapján feltételezhető, hogy az Ap1 és Ap2 paprika tövek fertőződése sem fiatal korban történt. Az Ap2 tövön három paprika bogyót találtunk, melyek közül kettő beteg volt, egy pedig nem mutatott tüneteket. Feltűnő volt, hogy az Ap1 és Ap2 tövek beteg bogyóinak kocsányain keresztezésre utaló festést találtunk, míg a tünetmentes bogyón ilyen festés nem volt látható.

A vírusfertőzöttség kimutatásához végzett mechanikai átviteli kísérletek különböző tesztnövényekre az Ap1 és Ap2 növények beteg bogyóinak szövetnedvével sikeresek voltak, míg a tövek tünetmentes leveiből és a tünetmentes Ap2 bogyóból nem tudtunk fertőző vírust kimutatni. Az átvitt vírusok nagyszámú nekrotikus lokális léziót okoztak az N-gént tartalmazó *N. glutinosa*-n, klorotikus foltokat a *Ch. amaranticolor*-on és szisztemikus mozaik foltosságot és deformációt az L¹ allélt tartalmazó Fehérozón paprikafajta egyedein. Ezek a tünetek, valamint az ObPV-XM izolátummal végzett keresztvédettségi teszt pozitív eredménye egyértelműen tobamovírus jelenlétére utalnak. A *N. glutinosa*-n a kisméretű és fehér lokális léziók, valamint az L¹ allél áttörése a paprikán a PMMoV-re vagy a PaMMoV-re jellemző (Wetter, 1984). A vírusizolálást két beteg bogyó kocsányának közeli szárrészből is megkíséreltük, de pozitív eredményt csak egy esetben értünk el. Ez arra utalt, hogy a fertőző vírus nem mindig jutott be a szárba, azaz egyes bogyók megbetegedése nem általános szisztemikus fertőzés eredménye volt. Erre utalt az is, hogy a biotesztekkel sem a levelekből, sem az Ap2 tövön tünetmentes első kötésű bogyójából sem tudtunk vírust kimutatni. Annak ellenére, hogy a pollennel történő átvitelt a paradicsomon a ToBRFV esetében nem sikerült igazolni (Avni et al., 2022), a PMMoV esetében a szennyezett pollen fertőző vírust hordozhat (Salamon és Kaszta, 2000), és nem kíméletes keresztezéskor sérüléseken keresztül a növények fertőződhetnek. Ennek igazolásához azonban további kísérletekre lenne szükség.

Az Ap1 és Ap2 izolátumok gazdanövény köre és szimptomatológiai tulajdonságai azonosak voltak és megegyeztek a PMMoV-re jellemző, az irodalomból ismert eredményekkel (Wetter 1984; Wetter et al., 1986; Kálmán, 2003; Tóbiás et al., 1982). Mindkét izolátum fontos jellemzője, hogy az L³ alléllal rendelkező *Ch. chinense* vonalat szisztemikusan fertőzi, de csak lokális léziókat idéz elő az L⁴ alléllal rendelkező Kéra paprikafajtán. Ezek az izolátumok ezért a P_{1,2,3} patotípusú tobamovírusokhoz sorolhatók.

A két izolátum és a PMMoV azonosságát a molekuláris vizsgálatok is megerősítették, mivel CP génjük bázissorrendje és az ebből származtatott aminosav sorrend több, mint 99%-os hasonlóságot mutatott a jól ismert PMMoV izolátumok azonos régiójával. Az aminosav sorrend összehasonlító vizsgálatok azt is kimutatták, hogy az Ap1 és Ap2 izolátumok CP-i aminosav szinten két korábbi hazai PMMoV izolátummal teljesen azonosak. Mindkét izolátumunk CP-jében kimutatható volt a P_{1,2,3} patotípusú PMMoV izolátumok CP-jére jellemző és a P_{1,2} izolátumoktól eltérő N és V aminosav változás a 139. és a 148. pozícióban.

A patológiai és a molekuláris vizsgálatok alapján az általunk vizsgált két tobamovírus izolátumot a PMMoV-vel azonosíthatjuk és jelölésükre a PMMoV-Ap1 és PMMoV-Ap2 akronímák használatát javasoljuk. Mindkét izolátum különleges patológiai tulajdonságának bizonyult, hogy más tobamovírusoktól (pl. TMV, ToMV, ToBRFV) eltérően nem fertőzték a *Ch. murale* növényfaj egyedeit.

A PMMoV-Ap2 izolátummal végzett vizsgálataink hasonlóan mások eredményeihez (McKinney, 1952; Wetter és Conti, 1988; Beczner et al., 1997; Salamon és Kaszta, 2001) azt igazolták, hogy a vírus a vetőmagról fertőzőképesen kimutatható és a nem csávázott paprika maggal könnyen átvihető. 2%-os NaOH-val történő csávázás után a magról fertőző vírust már nem tudtunk kimutatni és Beczner et al. (1997) kanadai eredményeivel ellentétben magátvitelt sem tapasztaltunk. Először végeztünk vírusok elleni magkezelési kísérletet Ecowian HIGÉN+99 készítménnyel (Anonymous, 2022), mely töményen alkalmazva a magok infektív vírusszennyezettségét megszüntette. Előzetes vizsgálataink szerint a készítménnyel kezelt paprika mag gyorsabban csírázott és erőteljesebben fejlődött.

Munkánk felhívja a figyelmet arra, hogy a PMMoV jelentősége a paprika hajtásban és a vetőmag előállításban nem szűnt meg, sőt új, nem várt problémákat okozhat. Ezek pl. olyan esetekben fordulhatnak elő, amikor a hibrid vetőmag előállításkor az apanövények esetleges fertőzöttsége miatt az anyaállomány egyedei a keresztezéskor a szennyezett pollenről fertőződnek és a megbetegedés tünetei a bogyón tapasztalhatók. Ezért ajánlott a pollengyűjtéskor az apanövények tüzetes tünettani vizsgálata és a legkisebb gyanú esetén a fertőzött egyedek eltávolítása. Nem hagyható el a vetőmagvak csávázása sem, amelyhez a fertőtlenítésre ajánlott Ecowian HIGÉN+99 készítmény is alkalmasnak tűnik, de ezzel kapcsolatban még további megerősítő kísérletek szükségesek.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

A paprika termesztésben világszerte súlyos károkat okoznak a növényi vírusok, melyek ellen a védekezés sokszor nem megoldott. Hatékony viricidok hiányában a vírussal fertőzött növény gyógyítására nincs lehetőség, így a védekezés a megelőzésre, a vektorok elleni növényvédő szerek kezelésre, valamint az ellenálló, rezisztens fajták termesztésére korlátozódik.

A paprika kórokozói közül különös jelentőségűek a tobamovírusok, melyek közül az elmúlt 30-35 évben a paprika enyhe foltosság vírus (*Pepper mild mottle virus*, PMMoV) vált a legveszélyesebbé, mert rezisztencia törő törzsei is ismertek és fertőzése gyakran csak nehezen ismerhető fel az enyhe levéltünetek miatt, ugyanakkor a bogyón súlyos tüneteket okozhat.

Tobamovírus fertőzésre utaló különleges megbetegedések léptek fel egy hibrid paprika előállítással foglalkozó üzemben, ahol a beteg növények levelei tünetmentesek voltak, a keresztezett virágokból fejlődő bogyókon azonban feltűnő elhalások jelentek meg.

Különböző tesztnövényekre végzett átviteli kísérletekkel igazoltuk, hogy két paprika tő (Ap1 és Ap2) beteg bogyói mechanikailag átvihető vírussal fertőződtek. A két paprika növény leveleiből ugyanakkor bioteszttel vírust nem tudtunk kimutatni és a beteg bogyókhoz közeli szárrész sem tartalmazott mindig fertőző vírust.

A gazdanövénykörüli vizsgálatokkal megállapítottuk, hogy az Ap1 és Ap2 vírusizolátumok egymással azonosan viselkedtek és a tobamovírusok közül a PMMoV-vel mutattak nagy hasonlóságot. A tobamovírusokkal való rokonságot az Obuda paprika vírus XM izolátumával végzett keresztvédettségi tesztek is megerősítették. Mindkét izolátum paprikán az L³ rezisztencia gén áttörő P_{1,2,3} patotípusnak bizonyult.

Unitobamo primerek használatával az Ap1 és Ap2 izolátumokkal fertőzött paprika levelek és szennyezett paprika magok esetében RT-PCR módszerrel tobamovírusokra jellemző méretű DNS-t amplifikáltunk. Egy tüneteket mutató, fertőzött paprika növény leveléből végzett PCR vizsgálat negatív eredménnyel járt, ami feltehetően a vírus egyenetlen szisztemizálódásából adódott. A PCR módszerrel amplifikált Ap1 és Ap2 DNS-ek szekvenciái azonosak voltak és nagy (>99%) hasonlóságot mutattak a GenBankban található PMMoV izolátumok CP régiójának szekvencia adataival nukleotid és aminosav szinten egyaránt. A CP aminosav sorrendjében fellelhető volt, a PMMoV P_{1,2,3} patotípusra jellemző aminosav motívum a 139. és a 148. pozíciókban.

A patológiai és molekuláris tulajdonságok alapján mindkét izolátumot a PMMoV-val azonosítottuk és jelölésükre a PMMoV-Ap1 és PMMoV-Ap2 akronimák használatát javasoljuk.

A PMMoV-Ap2 izolátummal szennyezett, nem csávázott vetőmaggal a vírus átvihetőnek bizonyult, míg a 2 %-os NaOH-val végzett csávázás után magátvitelt nem tapasztaltunk. Előzetes kísérleteink alapján az Ecowian HIGÉN+99 készítmény is hatékony csávázószernek minősült.

Munkánk eredményei rámutatnak arra, hogy paprikán a PMMoV fertőzés esetén csak a bogyón okoz betegség tüneteket. Feltételezésünk szerint hibridelőállítás esetén a fertőzés szennyezett pollentről is származhat. Emiatt a pollent adó apaállományokban célszerű minden töre kiterjedő folyamatos és fokozott tüneti vizsgálatokat végezni és a beteg növényeket azonnal eltávolítani. A maggal történő vírusátvitel miatt a vetőmag tételek csávázása elengedhetetlen.

7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetemet fejezem ki külső témavezetőmnek, Dr. Salamon Pálnak, aki értékes szakmai útmutatásával, irányításával segítségemre volt mindvégig a diplomamunkám elkészítésében. Köszönöm a dolgozat összeállításában és elkészítésében nyújtott segítségét. Hálával tartozom a patológia világába való bevezetésért valamint a sok-sok tapasztalatért, amit tőle kaptam.

Ezúton köszönöm tanszéki konzulensemnek Koósné Dr. Szathmáry Erzsébetnek a kísérletek tervezésében és értékelésében nyújtott szakmai tanácsait és javaslatait. Szüntelen türelmével, rugalmasságával és hasznos tanácsaival segítette diplomadolgozatom elkészítését. Köszönetemet fejezem ki a PCR vizsgálatok kivitelezésében és az eredmények értékelésében nyújtott segítségéért.

Köszönöttem tartozom Dr. Szabó Zoltánnak, hogy értékes tanácsaival segítette a diplomadolgozatom elkészítését.

Végül, de nem utolsó sorban szeretnék köszönetet mondani páromnak valamint családomnak, akik mindvégig mellettem álltak és támogattak a tanulmányaim alatt.

8. IRODALOMJEGYZÉK

1. Adams, M. J., Antoniw, J. F., Kreuze, J. 2009. Virgaviridae: A new family of rod-shaped plant viruses. Arch. Virology, 154 évf. p.1967–1972.
2. Alonso, E., García-Luque, I., De la Cruz, A., Wicke, B., Avila-Rincón, M. J., Serra, M. T., Castresana, C., Díaz-Ruíz, J. R. 1991. Nucleotide sequence of the genomic RNA of pepper mild mottle virus, a resistance-breaking tobamovirus in pepper. J. Gen. Virol., 72 évf. p. 2875–2884.
3. Anonymus 2022. Elképesztő károkat okoz a paradicsomot pusztító vírus – érkezik a magyar megoldás? https://www.agroinform.hu/kerteszeti_szekeszlet/paradicsom-paprika-magyar-innovacio-vedhet-virusfertozestol-56546-001
4. Antignus, Y., Lachman, O., Pearlsman, M., Maslenin, L., Rosner, A. 2008. A new pathotype of Pepper mild mottle virus (PMMoV) overcomes the L4 resistance genotype of pepper cultivars. Plant Dis., 92 évf. p. 1033–1037.
5. Avni, B.; Gelbart, D., Sufrin-Ringwald, T., Zemach, H., Belausov, E.; Kamenetsky-Goldstein, R., Lapidot, M. 2022. ToBRFV Infects the Reproductive Tissues of Tomato Plants but Is Not Transmitted to the Progenies by Pollination. Cells. 11 évf. p. 2864. <https://doi.org/10.3390/cells11182864>.
6. Barboza GE, García CC, Bianchetti LB, Romero MV, Scaldaferrero M 2022. Monograph of wild and cultivated chili peppers (*Capsicum* L., Solanaceae). PhytoKeys 200 p. 1–423.
7. Beczner, L., Rochon, D.M., Hamilton, R. I. 1997. Characterization of an isolate of pepper mild mottle tobamovirus occurring in Canada. Can. J. Plant Pathol. 19 évf. p. 83–88.
8. Berzal-Herranz, A., De la Cruz, A., Tenllado, F., Díaz-Ruíz, J. R., Lopez, L., Sanz, A. I., Vaquero, C., Serra, M. T., García-Luque, I. 1995. The Capsicum L 3 gene-mediated resistance against the tobamoviruses is elicited by the coat protein. Virology 209 évf. p. 498–505.
9. Blanco-Sanches, N., Crespo, J., Gonzales G. 1986. Adsorption of tobacco mosaic virus (TMV) in five soils of Cuba., Ciencias de la Agr. p. 9–14
10. Bosland, P. W., Votava, E. J., 2012. Peppers: Vegetable and Spice Capsicums. Crop Production Science in Horticulture Series 22. Wallingford, UK, CABI. p. 1-248.
11. Boukema, I. W. 1980. Allelism of genes controlling resistance to TMV in Capsicum L. Euphytica, 29. évf. p. 433-439.
12. Boukema, I. W. 1984. Resistance to TMV in Capsicum chacoense Hunz. is governed by allele of the L-locus. Capsicum News. 3 évf. p. 47–48.
13. Brunt, A., Crabtree, K., Dallwitz, M., Gibbs, A., Watson, L. 1996. Viruses of Plants: Descriptions and Lists from the VIDE Database. CAB International. p.1–1484.
14. Caciagli P. 2008. Encyclopedia of Virology (Third Edition).
15. Castello J. D. - Lakshman, D. K. - Tavantzis, S. M. - Rogers S. O.- Bachand, G. D. - Jagels, R. - Carlisle, J. - Liu, Y. 1995. Detection of infectious tomato mosaic tobamovirus in fog and clouds. Phytopathology 85 évf. p. 1409–1412.
16. Castello, J. D. - Rogers, S. O. - Starmer W. T- Catranis, C. M. - MA, L. - Banchard, G. D. - Zhao, Y. - Smith, J. E. 1999. Detection of tomato mosaic tobamovirus RNA in ancient Glacier ice. Polar Biol. 22 évf. p. 207-212

17. Conti, M., Masenga, V. 1977. Identification and prevalence of pepper viruses in Northwest Italy. *Phytopath. Z.* 90 kötet. p. 212–222.
18. Csilléry G., Ruskó J. 1980. The control of a new Tobamovirus strain by a resistance linked to anthocyanin deficiency in pepper / *Capsicum annuum* /. EUCARPIA Capsicum Working Group IVth Meeting. 14–16. October, 1980. Institute for Horticultural Plant Breeding, Wageningen, The Netherlands, p. 40–43.
19. Daskalov S., Poulos J. M. 1994. Updated Capsicum gene list. *Capsicum and Eggplant Newsletter* 13 évf. p. 15–26.
20. Demski J.W. 1981. Tobacco mosaic virus is seedborne in pimiento pepper. *Plant Disease.* 65 évf. p. 723–724.
21. Dombrovsky, A., Smith, E., 2017. Seed Transmission of Tobamoviruses: Aspects of Global Disease Distribution. 12. köt.
22. Edwardson, J. R., Christie, R. G. 1997: Viruses infecting peppers and other Solanaceous crops. Monograph 18-I. Univ. Florida, Agric. Expt. Sta.
23. Fallik, E., Ilic, Z. 2014. Grafted vegetables – the influence of rootstock and scion on postharvest quality. In: *Folia Horticulturae.* 26 évf. 2 sz. p. 79–90.
24. Fauquet, C. M., Mayo, M. A., Maniloff, J., Desselberger, U., Ball, L. A. (EDS) 2005. Virus taxonomy. VHLth Report of the ICTV. Elsevier/Academic Press, London.
25. Fauquet, C. M., Mayo, M. A., Maniloff, J., Desselberger, U. - Ball, L. A. (EDS) 2005. Virus taxonomy. VHLth Report of the ICTV. Elsevier/Academic Press, London.
26. FruitVeb 2019. A hidegfóliás és a szabadföldi paprikatermesztés gazdaságossága
27. FruitVeb 2020. FruitVeB Bulletin 2019. – Zöldségtermesztés I.
28. Gáborjányi R. 1986. Biológiai védekezés a növényi vírusok ellen: Elméleti lehetőségek és gyakorlati eredmények. *Növénytermelés* 35 évf. p. 561–568
29. Gáborjányi R., Pogány M., Horváth J. 1997. A vírusok szerepe a paprikapusztulásban. *Növényvédelem* 33 évf. p. 181–185.
30. Gáborjányi, R., Horváth, J., Kovács, J., Kazinczi, G. 1998a. Role of viruses in pepper decline in Hungary. *Eucarpia*, X th Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum and Eggplant, Avignon, France, p. 129–132
31. Gáborjányi, R., Horváth, J., Kovács, J., Kazinczi, G. 1998b. Role of virus- and phytoplasma infections in pepper decline in Hungary: an overview. *Acta Phytopath. et Entomol. Hung.* 33 évf. p. 261–268.
32. García-Luque, I., Serra, M. T., Alonso, E., Wicke, B., Ferrero, M. L., Díaz-Ruiz, J. R. 1990. Characterization of a Spanish strain of pepper mild mottle virus (PMMV-S) and its relationship to other tobamoviruses. *J. Phytopathology* 129. évf. p. 1–8.
33. Gibbs, A. 1999. Evolution and origins of tobamoviruses. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* 354. évf. p. 593–602.
34. Gibbs, A. 1999. Evolution and origins of tobamoviruses. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. Ser. B-Biol. Sci.* 354. kötet, p. 593–602.

35. Gilardi, P., García-Luque, I., Serra, M. T. 2004. The coat protein of tobamovirus acts as elicitor of both L2 and L4 gene-mediated resistance in Capsicum. *The Journal of General Virology*, 85 évf. p. 2077–2085
36. Green, SK. 2003. Pepper mild mottle virus. In Pernezny et al. (eds) *Compendium of pepper diseases*. American Phytopathological Society, St. Paul, MN. p. 32–33
37. Gyúros J., Szóriné Z. A. 2005. Paprika. In: Terbe I., Hodossi S., Kovács A. (szerk.) *Zöldségtermesztés termesztőberendezésekben*. Budapest. 2005. Mezőgazda Kiadó. p. 93–109.
38. Hamada, H., Takeuchi, S., Morita, Y., Sawada, H., Kiba, A., Hikichi, Y. 2003. Characterization of Paprika mild mottle virus first isolated in Japan. *J. Gen. Plant Pathol.* évf. 69. p. 199–204
39. Hollings, M., Huttinga, H. 1976. Tomato mosaic virus. *CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses* sz. 156. Commonwealth Mycological Institute, Kew, England. p. 6
40. Horváth J. 1999. *Növényvírusok és virológiai vizsgálati módszerek*. Budapest. Mezőgazda Kiadó.
41. Hull, R. 2002. *Matthews' Plant Virology*. Fourth Edition. Academic Press. London.
42. Idrees, S., Hanif, M. A., Ayub, M. A., Hanif, A., & Ansari, T. M. 2020. Chili Pepper. In *Medicinal Plants of South Asia* p. 113-124. Elsevier.
43. International Committee on Taxonomy of Viruses: ICTV. 2023. Taxonomy Browser. <https://ictv.global/taxonomy>
44. Jewehan, A., Kiemo, F. W., Salem, N., Tóth, Z., Salamon, P., Szabó, Z. 2022. Isolation and molecular characterization of tomato brown rugose fruit virus mutant breaking the tobamovirus resistance found in wild Solanum species. *Arch. Virology*. 167 évf. p. 1559–1563.
45. Juretic, N. Horváth, J. Krajic, M 1986. Occurring of ribgrass mosaic virus in water of Hungarian river Zala. *Acta Phytopath. et Entomol. Hung.* 21. évf. p. 291–295.
46. Kálmán D. 2003. Paprika enyhe tarkulás vírus (Pepper mild mottle virus, PMMoV) izolátumok patológiai, szerológiai és molekuláris biológiai jellemzése. Doktori (PhD) értekezés, Veszprémi Egyetem, Georgikon Mezőgazdaságtudományi Kar
47. Kenyon, L., Kumar, S., Tsai, W. S., Hughes, J.D. 2014. Virus diseases of peppers (*Capsicum* spp.) and their control. *Adv. Virus Res.* 90 évf. p. 297–354.
48. Kiss L., Salánki K., Csilléry G. és Palkovics L. 2007. A paprika enyhe tarkulás vírus (*Pepper mild mottle virus*, PMMoV) L3 rezisztenciát áttörő patotípusának előfordulása Magyarországon, a kórokozó molekuláris jellemzése. *Növényvédelem*, 43 évf. 11 sz. p. 509–514
49. Knapp, E., Lewandowski, D. 2001. Tobacco mosaic virus, not just a single component virus anymore. *Mol. Plant Pathol.* 2. évf. p. 117–123.
50. Kubota, K., Usugi, T., Tomitaka, Y., Higashiyama, M., Kosaka, Y., Tsuda, S. 2011. Characterization of Rehmannia mosaic virus isolated from chili pepper (*Capsicum annuum*) in Japan. *J. Gen. Plant Pathol.* 78. évf.
51. Lantos F. (szerk) 2018. *Capsicum* genus A paprika fajok eredete. Szentés Városért Közalapítvány, és a Duna-R Vetőmag Kft.
52. Lewandowski, D. J. 2008. Tobamovirus. *Encyclopedia of Virology (Third Edition)* Acad. Press, p. 68–72.
53. Li, R., Gao S., Fei, Z. J., Ling, K. S. 2013. Complete genome sequence of a new tobamovirus naturally infecting tomatoes in Mexico. *Genome Announc.* 1 évf. 5 sz. p. 794–13.

54. Li, Y. Y., Wang, C. L., Xiang, D., Li, R. H., Liu, Y., Li, F. 2014. First Report of Tomato mottle mosaic virus Infection of Pepper in China. *Plant Dis.* 98 évf. p.1447.
55. Lorenz, O. A., Maynard, D. N. 1980. *Knott's handbook for vegetable growers*. 2d ed. Wiley Interscience
56. Lozovaya E., Prikhodko Y., Zhivaeva T., Shneyder Y., Karimova E. 2022. The diagnostics of tobamoviruses infecting Solanaceae crops. *Acta Hortic.*, 1351 sz. p. 119–124.
57. Mayer, A. 1886. Über die Mosaikkrankheit des Tabaks. *Landwirtsch. Vers. Sta.* 32 évf. p. 451–467.
58. McKinney, H. H. 1929. Mosaic diseases in Canary Islands, West Africa and Gibraltar. *J. Agric. Res.* 39 évf. p. 557–558.
59. McKinney, H. H. 1952. Two strains of tobacco mosaic virus, one of which is seed-borne in an etch-immune pungent pepper. *Plant Dis. Rep.*, 36 évf. p. 184–187
60. McKinney, H. H. 1968. Further study of the latent strain of the tobacco mosaic virus. *Plant Dis. Rep.* 52 évf. p. 919–922.
61. Moury, B., Verdin, E. 2012. Viruses of pepper crops in the Mediterranean basin: a remarkable stasis. *Adv. Virus Res.*, 84 évf. p. 127–162.
62. Munting, A. J. 1974 . Development of flower and fruit of *Capsicum annuum* L. *Acta Bot. Neerlandica*, 23 évf. 4 sz. p. 415–432.
63. Nagai, Y. 1988. Control of seed-borne tobacco mosaic on tomato and sweet pepper by chemical and physical treatments. *Proc. of the 5 th Internat. Congr. of Plant Pathology*, Kyoto, Japan, 1988. p. 405.
64. Nagy Z. R. 2021. Zöldségtermesztés erősségeink és gyengeségeink Magyar Mezőgazdaság.hu
65. Ojinaga, M., Guirao, P., Larregla, S. 2022. A Survey of Main Pepper Crop Viruses in Different Cultivation Systems for the Selection of the Most Appropriate Resistance Genes in Sensitive Local Cultivars in Northern Spain. *Plants (Basel, Switzerland)*, 11 évf. 6 sz. p. 719.
66. Pernezny K., Roberts P.D., Murphy J.D., Goldberg N.P. (Eds) 2003. *Compendium of Pepper Diseases*. APS Press; St. Paul, MN, USA. p. 88.
67. Rast, A. Th. B. 1979. Pepper strains of TMV in the Netherlands. *Med. Fac. Landb. Wet. Rijksuvin. Gent.*, 44 évf. p. 617–622.
68. Salamon, P. 1993. Tobamovirus rezisztencia gének a *Capsicum* nemzetségben és a paprika rezisztencia-nemesítés hazai eredményei. *Integrált termesztés a kertészetben* 14. köt. p.104–113.
69. Salamon P. 2006. Növények és vírusok kapcsolatai a paprika (*Capsicum*) – tobamovírus patoszisztémákban. Doktori (PhD) értekezés. Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar.
70. Salamon P. 2007. Növényvírusok, viroidok és szatellitok. *Növényvédelem 2007. Különszám.* p. 1-147.
71. Salamon P., Beczner L. 1987. Dulcamara yellow fleck virus (DYFV): a tobamovirus csoport új, *Solanum dulcamara* populációkban elterjedt, Magyarországon endemikus tagja. *Növényvédelmi Tudományos Napok, Budapest, 1987.évf.* p. 83.
72. Salamon P., Hirka J., Horváth J., Juhász Z., Varró P. és Miltay P. (2008): Késői vírusfertőzések hajtított paprikán (*Capsicum annuum* L.) és paradicsomon(*Solanum lycopersicum* L.) – tünetek a bogyón.13. Tiszántúli Növényvédelmi Fórum, Debrecen, 2008. október 15–16. *Proceedings*, p. 59–65.
73. Salamon, P. - Kaszta, M. 2000. Investigations on the transmission of some Tobamoviruses by pollen and seed in pepper (*Capsicum annuum* L.) *Internat. J. Hort. SCI.* 6 évf. 3 sz. p.127–131

74. Salamon, P. - Sági, Zs. 2004: A paprikát (*Capsicum* spp.) fertőző tobamovírusok patotípusai és a tobamovírus rezisztencia allélek közötti összefüggések. 9. Tiszántúli Növényvédelmi Fórum, 2004. október 20-24. p. 256-263.
75. Salánki K., Tóbiás I., Almási A., Sáray R., Pinczés D., Bulecza Cs., Csilléry G. 2021. Szentesen üvegházban termesztett paprikaminták virológiai vizsgálata a 2019–2021 közötti időszakban. *Növényvédelem* 82 évf. p. 453–459.
76. Silber, G., Burk, L. G., 1965, Ineffectivity of tobacco mosaic virus stored for fifty years in extracted 'unpreserved' plant juice, *Nature (London)* 206 kötet. p. 740–741.
77. Somos A. 1966. A paprika. Budapest. Akadémiai Kiadó.
78. Spence, N. J., Sealy, I., Mills, P. R., Foster, G. D. 2001. Characterisation of a tobamovirus from trailing petunias. *Eur. J. of Plant Pathol.*, 107 kötet, p. 633–638.
79. Stoimenova, E., Yordanova, A. 2005. Tobamovirus strain P101 isolated from pepper in Bulgaria. *Biotechnol. & Biotechnol. Equipment*, 19 évf. p. 30–35.
80. Tanzi, M., Betti, L., Canova, A. 1989. PepMV infection in pepper seeds. Biological characterization of some strains and their localisation in the seed. *Phytopath. Medit.* 28 évf. p. 204–209.
81. Terbe I. 1999. Termesztési tanácsok paprikatermesztőknek. Blondy és Társa Kft. Debrecen.
82. Terbe I., Hodossy S., Kovács A. 2005. Zöldségtermesztés termesztőberendezésben. Mezőgazda Kiadó
83. Tiwari, A., Vivian-Smith, A., Ljung, K., Offringa, R., Heuvelink, E. 2013. Physiological and morphological changes during early and later stages of fruit growth in *Capsicum annuum*. *Physiol. Plantarum*, 147 évf. 3. sz. p. 396–406.
84. Tóbiás I., Molnár B. 1983. Az étkezési paprikán előforduló vírus tünetek és víruskórokozók Magyarországon. *Kertgazdaság* 15 évf. p. 49–54.
85. Tóbiás, I., Rast, A.T.B. Maat, D.Z. 1982. Tobamoviruses of pepper, eggplant and tobacco: Comparative host reactions and serological relationships. *Neth. J. of Plant Pathol.* 88 évf. p. 257–268.
86. Vélez-Olmedo, J., Fribourg, C., Melo, F., Nagata, T., Oliveira A., Resende, R. 2020. Tobamoviruses of two new species trigger resistance in pepper plants harbouring functional L alleles. *The Journal of general virology*, 102 évf.
87. Wetter, C., Conti, M. 1988. Pepper mild mottle virus. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses. Kew, sz. 330, p. 4.
88. Wetter, C., Dore, I., Bernard, M. 1987. Bell pepper mottle virus, a distinct tobamovirus infecting pepper. *J. Phytopathol.* 119 évf. p. 333–344
89. Wetter, C. 1986. Tobacco Mild Green Mosaic Virus. In: Van Regenmortel, MHV, Fraenkel-Conrat, H. (eds) *The Plant Viruses*. Springer, Boston, MA. p. 205–219.
90. Wetter, C. 1984. Antigenic relationships between isolates of mild dark-green tobacco mosaic virus and the problem of host-induced mutation, *Phytopathol.* 74 évf. p. 1308.
91. Wetter, C., Conti, M., Altschuh, D., Tabillon, R., Van Regenmortel, M. H. V. 1984. Pepper mild mottle virus, a Tobamovirus infecting pepper cultivars in Sicily. *Phytopathol.* 74 évf. p. 405–410.
92. Xu, Q., Wen, X., Deng, X. 2004. A simple protocol for isolating genomic DNA from chestnut rose (*Rosa roxburghii* var. *tratt*) for RFLP and PCR analyses. In: *Plant Mol. Biol. Repr.* 22 évf. 3 sz. p. 301–302.
93. Zaitlin, M. 2000. Tobacco mosaic virus. *Description of Plant Viruses*. sz. 370. Kew.

94. Zatykó, L. Étkezési paprika. In: Balázs S. (szerk.) 2004. Zöldségtermesztők kézikönyve. Budapest. Mezőgazda Kiadó. p. 197–232.
95. Zatykó, L. 2006. Selection of paprika in ancient times and today. *Acta Agron. Hung.* 54 évf. 2 sz. p. 167–178.
96. Zatykó, L. 2006. Pepper (*Capsicum annuum* L.) breeding methods at the turn of the century. *Acta Agron. Hung.*, 54 évf. 2. sz. p. 179–202.
97. Zhang, S., Tan, G., Li, L. 2022. First Report of Pea as a Natural Host of Tomato mottle mosaic virus in China. *Plant Dis.* 106 évf. 2 sz. p. 775.
98. Zhang, T., Breitbart, M., Lee, W. H., Run, J., Wei, C. L., Soh, S. W. L., Hibberd, M. L., Liu, E.T., Rohwer, F., Ruan, Y. 2006. RNA Viral Community in Human Feces: Prevalence of Plant Pathogenic Viruses. *PLoS Biol* 3. évf.

OLÁH ANNET

ÁBRAJEGYZÉK

1. ábra	A tobamovírusok genomszerveződése	12
2. ábra	Vírusfertőzésre utaló betegségi tünetek paprika bogyókon és tünetmentes levelek a beteg bogyókat nevelő növényen	22
3. ábra	Ap1 és Ap2 növényi minták vázlatos rajza	23
4. ábra	Vírusizolálási kísérletek különböző tesztnövényeken az Ap1 és Ap2 paprika minták beteg bogyóiról	24
5. ábra	Szimptomák az Ap2 izolátummal inokulált növényeken	26
6. ábra	Az Ap2 izolátum által okozott nekrotikus lokális léziók a Xanthi-nc dohányfajta ObPV-XM izolátummal nem inokulált levélfelén	27
7. ábra	Az Ap2 növényről származó utóérlelt beteg (balra) és tünetmentes (jobbra) bogyó	27
8. ábra	Tünetmentes palánta (balra) illetve sárgulás, törpülés és enyhe mozaik tünet (jobbra) a beteg Ap2 bogyó nem csávázott magjáról nevelt palántán	28
9. ábra	Különböző növényi részek Unitobamo primerekkel végzett RT-PCR vizsgálatokor keletkezett PCR-termékek elektroforetikus képe	29
10. ábra	Az Ap1 beteg bogyó magjairól (PMMoV mag) és az Ap2 magátviteli kísérletből származó beteg palántáról (PMMoV levél) készült PCR-termékek származtatott aminosav szekvencia adatainak összehasonlítása ismert PMMoV izolátumok CP aminosav sorrendjével	30

TÁBLÁZATJEGYZÉK

1. táblázat	A paprika ásványi anyag- és vitamintartalma (Lorenz és Maynard, 1980)	9
2. táblázat	A paprikát természetes körülmények között fertőző tobamovírusok	13
3. táblázat	A paprikát fertőző tobamovírusok patotípusainak osztályozása a különböző L allélekkel rendelkező paprikák fogékonysága és/vagy rezisztenciája alapján (Salamon, 2006 után módosítva)	15
4. táblázat	Különböző növényfajok reakciói az Ap2 izolátummal végzett inokulációra	25

NYILATKOZAT

a záródolgozat/szakdolgozat/diplomadolgozat/portfólió nyilvános hozzáféréséről és eredetiségéről

A hallgató neve: Oláh Anett

A Hallgató Neptun kódja: CVLOVN

A dolgozat címe: Tobamovírus fertőzés különleges esete paprikán (*Capsicum annum* L.)

A megjelenés éve: 2023.

A konzulens tanszék neve: Növénykórtani Tanszék

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

Ha a fenti nyilatkozattal valótlan 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 tulajdonkezelési szabályzatában megfogalmazottak érvényesek.

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

Kelt: 2023 év 05 hó 02 nap

Oláh Anett
Hallgató aláírása

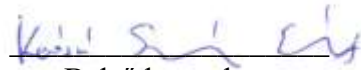
KONZULTÁCIÓS NYILATKOZAT

Oláh Anett (CVLOVN) konzulenseként nyilatkozom arról, hogy a diplomadolgozatot áttekintettem, a hallgatót az irodalmi források korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól tájékoztattam.

A diplomadolgozatot a záróvizsgán történő védelemre javaslom / nem javaslom¹.

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem*²

Kelt: Budapest, 2023. év május hó. 02. nap


Belső konzulens

¹ A megfelelő aláhúzendó.

² A megfelelő aláhúzendó.