

Szent István Egyetem
Mezőgazdasági- és Környezettudományi Kar
Genetika és Biotechnológiai Intézet

**KÜLÖNBÖZŐ PAPRIKA GENOTÍPUSOK UBORKA MOZAIK
VÍRUSSEL (*CUCUMBER MOSAIC VIRUS*) SZEMBENI
ELLENÁLLÓSÁGA**

Készítette: Barnácz Fruzsina Enikő
Évfolyam: Kertészmérnök Bsc III.

Belső konzulens: Dr. Kiss Erzsébet
Beosztása: egyetemi tanár

Külső konzulens: Dr. Salamon Pál
Beosztása: ny. tudományos munkatárs

Gödöllő
2013

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK	3
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	4
2.1 A paprika jelentősége.....	4
2.1.1 Gazdasági jelentősége a világon.....	4
2.1.2 Gazdasági jelentősége hazánkban	4
2.2 Az uborka mozaik vírus általános jellemzése.....	5
2.2.1 Felfedezése és rendszertana	5
2.2.2 A vírus molekuláris tulajdonságai	5
2.2.3 A vírus replikációja és terjedése a növényben	7
2.2.4 A vírusizolátumok variabilitása	8
2.2.5 A CMV fontosabb gazdanövényei és szimptómái.....	9
2.2.6 Átvihetőség, epidemiológia	11
2.3 A paprika, mint a CMV fontos gazdanövénye	12
2.3.1 A CMV gazdasági jelentősége paprikán	12
2.3.2 A CMV tünetei paprikán.....	13
2.3.3 A CMV magátvitele paprikán.....	14
2.2.4 A CMV elleni védekezés lehetőségei paprikán.....	14
2.2.5 A rezisztenciakutatás eredményei.....	15
3. ANYAG ÉS MÓDSZER	18
3.1 A vizsgálatok helye.....	18
3.2 A növények nevelése és fenntartása	18
3.3 Vírusizolátumok	18
3.4 Inokulumok készítése, mechanikai inokulációk	18
3.5 A fertőzések vizuális értékelése és a növények szelektálása	19
3.5.1 Magyarországon bejegyzett fajták értékelése	19
3.5.2 VTK S_1 és S_2 populációk és hibridek értékelése és szelektálása	20
3.6 Manuális keresztezés.....	21
3.7 Magok és növények kezelése a magátviteli vizsgálatokhoz.....	22
3.8 Molekuláris vírusdiagnosztikai vizsgálatok	23
3.8.1 Northern blot vizsgálatok.....	23
3.8.2 PCR vizsgálatok	24

4. EREDMÉNYEK.....	25
4.1 Magyar fajták ellenállósági tulajdonságai	25
4.2 CMV-Ca2 és CMV-ScL virulenciájának vizsgálata	27
4.3 Rezisztencia vizsgálatok és szelekciók a VTK paprika populációkban ...	30
4.4 VTK és Pal F ₂ szülőktől származó F ₁ hibridpopulációk vizsgálata	33
4. 5 Magátviteli kísérletek	35
5. EREDMÉNYEK ÉRTÉKELÉSE.....	36
5.1 Magyar fajtákon és hibrideken végzett vizsgálatok	36
5.2 Rezisztencia vizsgálatok és szelekciók a VTK populációkban	38
5.3 Magátviteli kísérletek	39
6. ÖSSZEFOGLALÁS.....	40
7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	41
8. IRODALOMJEGYZÉK.....	42
9. MELLÉKLET	48
10. NYILATKOZAT	49

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK

A mezőgazdaság legnagyobb kihívása az exponenciálisan gyarapodó népesség élelmiszer szükségletének biztosítása, alkalmazkodva a globális felmelegedéshez és az egyre szélsőséesebb időjárási viszonyokhoz. A termésmennyiség növelését ugyanakkor (sok más tényező mellett) világszerte az elszaporodó kórokozók, kártevők és egyéb biotikus tényezők gátolják, melyek jelentősége a felmelegedés következtében várhatóan növekedni fog. Az általuk okozott termésveszteség évente 50%-ra tehető, melyből a patogén mikroorganizmusok 32%-ban részesednek, 5 %-os veszteség írható csak a növényvírusok „számlájára”.

A vírusok elleni védekezés lehetőségei a beteg növényt gyógyító növényvédő szerek hiányában szinte kizárólag megelőző jellegűek. Ennek leghatékonyabb módja a vírusokkal szemben ellenálló, rezisztens fajták nemesítése és termesztésbe vonása. Alapvető követelmény továbbá az egészséges, vírusmentes szaporítóanyagok (magvak vagy vegetatív növényi szervek) biztosítása.

A paprika (*Capsicum annuum* L.) a növényvírusokkal szemben különösen fogékony kultúrnövény. Legfontosabb kórokozói közé tartozik a világszerte elterjedt uborka mozaik vírus (CMV), mely mind agronómiai, mind virológiai szempontból a legjelentősebb növénypatogén vírusok között található, a molekuláris virológusok körében végzett felmérés a 4. helyre rangsorolta. A rezisztencianemesítés sok növény-vírus kapcsolatban ért el sikereket, azonban sok olyan esetet is ismerünk, melyben alig születettek a gyakorlatban is hasznosítható eredmények. Minden eddigi kutatás és nemesítési próbálkozás ellenére magas szintű CMV rezisztenciával csak egy távol-keleti nemesítésű chili típusú paprika hibrid (cv. 'Bukang') rendelkezik.

A vírusok egyes növényeknél már a szaporítóanyagban is jelen lehetnek, ezért járványtani szempontból és a vetőmagtermesztés számára is fontos annak ismerete, hogy mely növény-vírus kapcsolatokban lehetséges a vírus magátvitel. A paprika-CMV gazda-kórokozó kapcsolatban a magátvitelre vonatkozó eredmények nagyon ellentmondásosak.

A fentiekből adódóan kutatómunkánk során az alábbi célokat tűztük ki:

- a magyar paprika fajtasortiment különböző CMV törzsekkel szembeni ellenállósági tulajdonságainak megismerése
- a rezisztencia-nemesítéshez felhasználható forrás keresése, rezisztens vonalak létrehozása
- a rezisztencia/tolerancia jellegének felderítése
 - a CMV paprika vetőmaggal való átvitelének tanulmányozása

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1 A paprika jelentősége

2.1.1 Gazdasági jelentősége a világon

A paprikatermesztés jelentősége az elmúlt évtizedekben világszerte ugrásszerűen nőtt. A vetésterület a 1990-es évek óta több mint 1,5-szeres, a termésmennyiség 2,4-szeres gyarapodást mutatott. A termésátlagok emelkedése - így a jelenlegi 16,3 t/ha - a paprikatermesztés színvonalának javulásáról árulkodik. Napjainkban a legnagyobb termelő Kína, a világ paprikatermésének több mint felét (15,3 millió tonna) állítja elő. A kínai termés töredékével bár, de jelentős termelő még Mexikó, Törökország, Indonézia (2 millió t körüli mennyiséggel) és az Amerikai Egyesült Államok (1,5 millió t) is. Az Európai Unió országai csak együtt állítanak elő jelentős mennyiséget (2,2 millió t). A legnagyobb európai termelők Spanyolország és Hollandia, de nem elhanyagolható Olaszország és Románia sem. Az EU-n belül a legnagyobb mennyiségű paprikát termelő országok közül Magyarország a hatodik helyen áll. (FAOSTAT 2012).

2.1.2 Gazdasági jelentősége hazánkban

Magyarországon a paprika nem csak az egyik legnagyobb mennyiségben fogyasztott zöldségnövény (10 kg/fő/év, GILINGERNÉ & BÍRÓ 2008) hanem a magyar tradíciók elválaszthatatlan része, a magyar gasztronómia alappillére. Ennek megfelelően a magyar termelők jelentős mennyiségű paprikát állítanak elő. 2012-ben összesen 185 ezer tonna termést takarítottak be, ebből a szabadföldi étkezési paprika 30 ezer tonnát, a szabadföldi fűszerpaprika 12 ezer tonnát, míg a hajtattott paprika 143 ezer tonnát képviselt. A friss piacra szánt étkezési paprika számottevő részét külföldön értékesítettük, így hazánk az ötödik legnagyobb exportőr az európai piacon. A fűszerpaprika jellemőzen ipari feldolgozásra kerül, nagyrészt őrlemény készül belőle. A magyar fűszerpaprika őrlemény a hazai felhasználás mellett az európai piacon is keresett kiváló minőségének köszönhetően. Ennek elismerésül az Európai Bizottság 2012-ben az oltalom alatt álló eredet megjelölések és földrajzi jelzések nyilvántartásába vette a „Kalocsai fűszerpaprika őrlemény” elnevezést, hasonlóan a 2010-ben bejegyzett „Szegedi fűszerpaprika őrlemény/Szegedi paprika” elnevezéshez (FRUITVEB 2012).

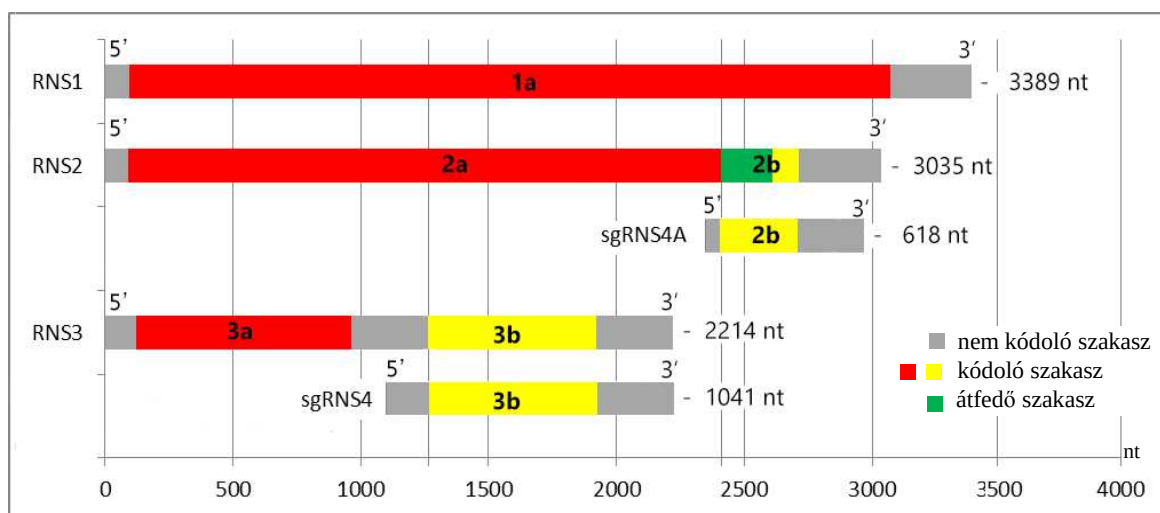
2.2 Az uborka mozaik vírus általános jellemzése

2.2.1 Felfedezése és rendszertana

Az uborka mozaik vírust (*Cucumber mosaic virus*, CMV) először az 1910-es években Doolittle és Jagger egymástól függetlenül izolálta. Az előbbi kutató sárgadinnyéről, az utóbbi uborkáról, mindkettő Amerikai Egyesült Államokban (DOOLITTLE 1916, JÄGGER 1916). 1991-ben a Nemzetközi Vírustaxonómiai Bizottság sorolta be a *Bromoviridae* családba, ezen belül a *Cucumovirus* nemzetségbe, a földimogyoró satnyulás vírussal (*Peanut stunt virus*, PSV) és a paradicsom magtalanság vírussal (*Tomato aspermy virus*, TAV) együtt (FRANCKI et al. 1991). A nemzetség 2009-ben új fajjal gyarapodott: a füzérés díszcsorbáról (*Liatris spicata*) izolált *Gayfeather mild mottle virus* (GMMV, ADAMS et al. 2009).

2.2.2 A vírus molekuláris tulajdonságai

A virion 29-30 nm átmérőjű, gömb szimmetriájú, ikozaéder alakú. A kapszidot 180 db pentamer és hexamer struktúrájú, azonos molekula tömegű (Mt 24500) köpenyfehérje alegység építi fel (EDWARDSON & CHRISTIE 1986; WIKOFF et al. 1997). A víruspartikulumban FRANCKI et al. (1966) szerint 18% RNS található. A CMV genomja osztott, három különböző egyszálú, lineáris, pozitív értelmű genomi RNS-ből áll, melyeket csökkenő méretük sorrendjében nevezték el az alábbiak szerint: RNS1, RNS2, RNS3 (PEDEN & SIMONS 1973). A virion a három genomi RNS-en kívül tartalmaz kisméretű szubgenomi RNS-eket is: RNS4A és RNS4, (JACQUEMOND 2012, **1. ábra**).



1. ábra: A CMV genomszerveződése

Az RNS1 és RNS2 (**1. ábra**) közel azonos méretűek: 3389 és 3035 nukleotid (nt) hosszúságúak (DING et al. 1994) és külön fehérjeburokkal rendelkeznek. Az RNS1 5' végén 97 nem kódoló nukleotiddal indul. Monocisztronikus, azaz egyetlen nyílt leolvasási keretet (Open Reading Frame, ORF) tartalmaz, melynek terméke, az 1a protein 991 aminosavból épül fel (REZAIAN et al. 1984). Az RNS1-ről transzlálódó 1a fehérje a vírus replikációjában és terjedésében játszik fontos szerepet (NITTA et al. 1988). Az RNS2 két fehérjét kódol, oly módon, hogy az első fehérjét (2a) kódoló szakasz a 93. nt-nál kezdődik, és a 2612. nt-nál végződik, míg a második fehérje (2b) első nt-jának pozíciója 2410., utolsó eleme pedig a 2712. nt (DING et al. 1994, **1. ábra**). Az átfedő régió tartalmazza a 2a protein stop kodonját, és a 2b protein promóter régióit is (POGUE et al. 1992), így nem tartoznak egy nyílt leolvasási keretbe. A 2b protein nem közvetlenül az RNS2-ről, hanem az RNS2 második részéről átíródó szubgenomi RNS4A-ról fordítódik le. A 2a fehérje RNS-függő RNS polimeráz aktivitással rendelkezik, mely elengedhetetlen a vírusRNS-ek replikációjához (ARGOS 1988). A 2b proteinnek a szimptómák kialakításában valamint a géncsendesítésben van szerepe (BRIGNETI et al. 1998, GOTO et al. 2007).

Az RNS1-nél és 2-nél jóval kisebb, 2214 nt –ból álló, szintén bicisztronikus RNS3 (OWEN et al. 1990) és a róla átíródó, 1041 nt hosszúságú szubgenomi RNS4 (ANDERSON et al. 1995) közös fehérjeburokban található. Az RNS3 által kódolt egyik fehérje a 3a mozgási fehérje (Movement Protein, MP), mely a vírus növényben való terjedését segíti (DING et al. 1995, LI et al. 2001). Az RNS3 másik terméke (a 3b fehérje) a köpenyfehérje (Coat Protein, CP) (HABILI & FRANCKI 1974). Ez azonban nem közvetlenül az RNS3-ről, hanem a róla átíródó szubgenomi nukleinsavról, az RNS4-ről transzlálódik (ANDERSON et al. 1995). A 3b protein elsődleges feladata a virális genomot burkoló köpenyfehérje felépítése (HABILI & FRANCKI 1974), de szerepe van a vírus növényen belüli transzlokációjában, a levéltetvekkel történő terjedésében, valamint a tünetek kialakításában is (QUEMADA et al. 1991).

A vírusinfekcióhoz mindhárom genomi RNS-re szükség van (PEDEN & SIMONS 1973), mivel az RNS-ekről transzlálódó fehérjék mindegyike fontos szerepet tölt be a CMV életciklusában.

A CMV virionjai nem stabilak. FRANCKI et al. (1966) kimutatták, hogy a vírus növényi szövetnedvben szobahőmérsékleten már néhány nap alatt elveszíti fertőzőképességét. In vitro tárolása hosszabb ideig (néhány hónapig) azonban borát pufferben, 0-4 °C-on megoldható. Hőinaktiválási pontja (Thermal Inactivation Point, TIP) 60-70°C.

Számos CMV izolátumban nemcsak genomi és szubgenomi RNS-ek találhatók, hanem szatellit RNS-ek (satRNS) is. A CMV satRNS-ei olyan rövid (300-400 nt) egyszálú

nukleinsav molekulák, melyek a vírus replikáz rendszerét használják fel saját sokszorozódásukra (MOSSOP & FRANCKI, 1978), emiatt vírusparazitáknak is felfoghatóak.

2.2.3 A vírus replikációja és terjedése a növényben

A CMV fertőzés első lépése, hogy a fertőzött növényi sejtek citoplazmájában a genomi és szubgenomi RNS-ek kiszabadulnak a fehérjeburokból, majd a tonoplaszton lokalizálódva az 1a és a 2a fehérjék a riboszómákon transzlálódnak (JACQUEMOND 2012). Ezek a fehérjék a replikáció legfontosabb fehérjéi, mivel más növényi fehérjékkel együtt ezek alkotják a replikáz komplexet (HAYES & BUCK 1990). A komplex egyik eleme, a 2a protein, az RNS2-ről fordítódik át. NITTA et al. (1988) ezt erősítették meg: megfigyelték, hogy amennyiben az RNS2 nincs jelen a protoplasztokban a vírus nem replikálódik. SEO et al. (2009) a komplex másik tagjának szerepére világítottak rá. Kimutatták, hogy a 2a fehérje az RNS pozitív szálait más gének jelenléte nélkül is le tudja másolni, de a negatív szál szintéziséhez az 1a fehérje is szükséges. A létrejött komplex segítségével már könnyebben fordítódik át az RNS3, és a szubgenomi RNS4, mely az RNS3 átíródása közben nukleinsav hasadással képződik (GONDA & SYMONS 1979). A replikáz rendszer az újonnan létrejövő pozitív RNS szálakat templátként használva negatív, majd arról ismét pozitív szálakat szintetizál. A keletkező pozitív RNS szálaknak három fontos feladata van:

- a virális fehérjék mRNS-ei
- új RNS-szálak szintézisében templátként vesznek részt
- beépülnek a virionokba

A replikációban a proteinek és nukleinsavak képződése egyensúlyi rendszerben történik, melyet a nukleinsavak beburkolódása, illetve a vírus mozgása is befolyásol (JACQUEMOND 2012).

A megfertőződött növényi sejtekből a vírus először rövid távolságra, **sejtről-sejtre vándorol** a plazmodezmákon keresztül nukleoproteid komplexként. MARTELLI és RUSSO (1985) szerint a 3a protein képes akkorára növelni a plazmodezmák mikrotubulusainak átmérőjét, hogy azokon keresztül akár 12,5-szer nagyobb méretű molekulák is képesek transzportálódni. Ezt a plazmodezmát felépítő aktin szálak polimerizációjának gátlásával, és a már meglévők elvágásával éri el (SU et al. 2010). DING et al. (1995) nagy jelentőséget tulajdonítanak a virális RNS-ek MP-vel alkotott nukleoproteid formában történő transzportjának. Az 1a és a 3b protein (CP) szerepét is kimutatták a vírus sejtek közötti terjedésében. Az 1a fehérje a vírus növényen belüli terjedésének sebességét határozza meg, meglepő módon a replikáció sebességétől függetlenül (GAL-ON et al. 1994).

A vírus hosszútávú mozgása a növényben az edénynyalábokon (floémen) keresztül történik, az asszimiláták útvonalát követve, vírusrészecske formájában. A fertőzés helyétől először a gyökérbe, majd a friss hajtásokba vándorol, a korábban létrejött leveleket csak lassabban éri el (TALIANSKI & GARCÍA-ARENAL 1995). A vírus szisztemizálódása (long-distance movement, LDM), három lépésben zajlik:

- vírus bejutása a szállító nyalábokba
- eljutása a távoli szövetrészekhez a floémen keresztül
- kilépése a szállítószövetből a vírusreplikációra alkalmas sejtekbe (JACQUEMOND 2012)

Az eddigi eredmények alapján LDM-ben az MP a legjelentősebb faktor, de a CP, az 1a, valamint a 2b protein szerepe sem hanyagolható el (SALÁNKI 2012).

A MP azon túl, hogy nukleoproteideket képez a virális RNS-ekkel, a hosszútávú terjedésben az RNS-ek hőstabilitásáért is felelős (LI et al. 2001). Az előbbi szerzők dohányban mutáns MP-ek segítségével kimutatták azt is, hogy az MP mely aminosavai fontosak a vírus szisztémikus terjedésében. A CP szintén meghatározó a hosszútávú terjedésben. A CMV a floémában virionként áramlik, melynek képződéséhez ez a fehérje szükséges (TALIANSKI & GARCÍA-ARENAL, 1995). Az 1a proteinről GAL-ON et al. (1994) cukkini termésben, valamint CANTO és PALUKAITIS (2001) RNS1-el transzformált dohányban kimutatták, hogy a virális RNS-ek floémból a mezofill szövetekbe jutásáért is ez a fehérje a felelős, így nélküle a vírus nem terjedhet el a növény távolabbi szöveteiben. SOARDS et al. (2002) dohányon megállapították, hogy a vírus a 2b protein nélkül jóval lassabban szisztemizálódik, mert nem képes az epidermális sejtekben terjedni, csak a mezofillum sejtjeiben. Megfigyelték, hogy bár a dohány szisztémikusan fertőzött volt, látható tüneteket nem mutatott.

2.2.4 A vírusizolátumok variabilitása

Az egyes CMV izolátumok által okozott tünetek jellege és súlyossága, a vírusizolátumok fertőzőképessége és gazdanövényköre jelentősen eltérhet egymástól. Az egymástól különböző tulajdonságokban eltérő izolátumok jelenleg elfogadott csoportosítására OWEN és PALUKAITIS (1988) tettek javaslatot, akik nukleinsav hibridizálás alapján az izolátumokat Subgroup-I és –II alcsoportokra osztották. A 90-es években a fenti alcsoportokba sorolást a genomi szekvencia elemzések megerősítették (PALUKAITIS 1992). A CMV izolátumok fenti alcsoportokba sorolását SZILASSY et al. (1998) is alátámasztották. Két Sg-II izolátum RNS1 és RNS2-je között 98-99%-os, Sg-I izolátumokkal összehasonlítva 72-77%-os homológiát állapítottak meg. A Subgroup-I és –II alcsoportok megfelelnek a korábbi DTL és ToRS

szerotípusoknak (WAHYUNI et al. 1992), valamint a C és B patotípusoknak, melyeket MARROU et al. (1975) határoztak meg a *Nicotiana tabacum* cv. *Xanthi* növényen előidézett tünetek alapján.

A különböző vírusizolátumok előfordulásának gyakorisága klimatikus tényezőktől is függ. A Sg-I izolátumok melegebb, míg a Sg-II törzsek hűvösebb éghajlat alatt fordulnak elő gyakrabban (MOURY & VERDIN 2012).

Az RNS3 5' végi nem kódoló szakaszainak variabilitása alapján az Sg-I-et ROOSSINCK et al. (1999) tovább osztották Sg-IA és Sg-IB csoportokra.

A vírus változatosságát növeli a rekombináns és pszeudorekombináns (PR) vírusok kialakulása is. A rekombináns vírusok az egyes RNS-ek bizonyos szakaszainak cseréjével, a PR törzsek pedig a vírus egy vagy több genomi RNS-ének vírustörzsek közötti teljes kicserélődésével keletkeznek. Gyakran úgy alakulnak ki, hogy egy növényt egyszerre több vírustörzs is megfertőz (GÁBORJÁNYI 1999, SALÁNKI 2012). A CMV RNS-ei más vírusfajokkal is kicserélődhetnek (pl. TAV-val), de csak az RNS3 kicserélődésével jön létre fertőzőképes vírus (DE WISPELAERE et al. 2005).

A CMV tüneteit, patogenitását a satRNS-ek jelenléte is jelentősen befolyásolhatja, ezáltal a CMV izolátumok sokszínűségét gazdagítja. WATERWORTH et al. (1978) bizonyították, hogy a paradicsom teljes nekrózist okozó uborka mozaik vírusban satRNS található. Nem sokkal később GONSALVES et al. (1982) kimutatták, hogy paradicsomon a CMV által előidézett kifehéredés szintén satRNS jelenlétének következménye.

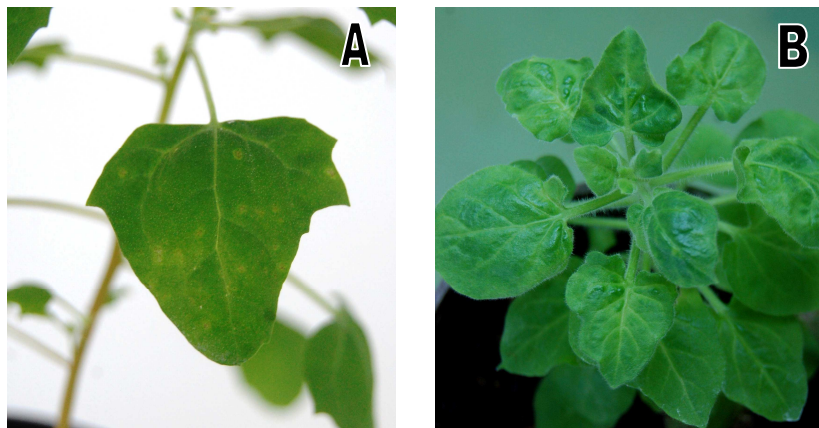
A nagy változatosság teszi alkalmassá a CMV-t a különböző környezeti feltételekhez történő gyors alkalmazkodásra és ez az elsődleges oka a vírus sikerességének is. Ezért is nevezte el Kaper a CMV-t a „növényvilág influenza vírusának” (SALAMON et al. 2014).

2.2.5 A CMV fontosabb gazdanövényei és szimptomái

A növény-vírus kapcsolat típusa lehet kompatibilis és inkompatibilis. Kompatibilis kapcsolat esetén a növény gazdája a vírusnak. Ilyen esetben a vírus replikálódik és szabadon terjed a növényben. A kompatibilitás látható jelei lehetnek szisztemikusak (ha az egész növényre kiterjednek, **2.ábra**), vagy lokálisak (ha csak a fertőzött leveleken jelentkeznek), de együtt is előfordulhatnak. Kompatibilis kapcsolatban a fertőzés látens is lehet (BARACSI 1999), pl. a tyúkhúr (*Stellaria media*) fertőzött magoncai esetén (GALLITELLI 2000).

Ha a kapcsolat inkompatibilis, a vírus nem képes megfertőzni a teljes növényt. A fertőzési folyamat megakadhat, mert nem alakul ki működőképes replikáz komplex. Más esetben a sejtről-sejtre terjedés, illetve a hosszú távú mozgás akadályozott a növényben (JACQUEMOND

2012). A növényi védekezés speciális esete a hiperszenzitív reakció (HR), amikor a primer fertőzött és a környező sejtek elhalnak, nekrotikus léziók képződnek, és a fertőzés legtöbbször lokalizálódik (**2. ábra**, BARACSI 1999).



2. ábra: Hiperszenzitív reakció *Chenopodium quinoa*-n (A) és szisztemikus mozaik *Nicotiana glutinosa*-n (B)
(Fotók: Dr. Salamon Pál)

A CMV egyike a legszélesebb gazdanövénykörrel rendelkező vírusoknak (azaz legtöbb növénnel állnak kompatibilis kapcsolatban). 1991-ben csaknem 1300 gazdanövénye volt ismert (EDWARDSON & CHRISTIE 1991). Természetes fertőzését azóta is számos növényfajon mutatták ki, a világ szinte minden táján, például egy indiai energianövényen, a *Jatropha curcas*-on (RAJ et al. 2008), Brazíliában flamingóvirágon (*Anthurim anderatum*, MIURA et al. 2013), Kínában szamócán (*Fragaria x ananassa*, CHEN et al. 2014).

Az utóbbi két évtizedben hazánkban is számos növényen igazolták a CMV fertőzését, többek között olyan nagy jelentőségű kultúrnövényeken is, mint a napraforgó és cukorrépa, valamint számos gyomnövényen is (SALAMON et al. 2014).

A CMV fertőzés tünetei a gazdanövény fajtától, fajtájától, korától, kondíciójától, a vírustörzstől valamint a környezeti tényezőktől (hőmérséklet, fény, nappalhossz stb.) függően rendkívül változatosak lehetnek. A legtöbb gazdanövényen mozaikfoltosságot és törpülést (satnyulást, bokrosodást) okoz. Ezek a tünetek termesztett növényeink közül uborkán, dinnyén és más kabakosokon valamint paradicsomon, paprikán és dohányon a legjellemzőbbek (SMITH 1972, CARRÉRE 1999). A paradicsomon és a paprikán sok esetben az előbbi tünetek mellett levéldeformációt és klorózist is idézhet elő (CARRÉRE 1999, TÓBIÁS 1978). Klorózis más növényen is előfordulhat, legutóbb Kínában szamóca klorotikus leveleiből izoláltak CMV-t (CHEN et al. 2014).

Egyes izolátumok esetén a tünetek a növények fejlődése közben enyhülnek (recovery), majd periodikusan kiújulnak (recurrent) (CARRÉRE 1999). Az előbbi szimptomákon kívül a CMV fertőzés számos más formában is megjelenhet, pl. gyűrűsfoltosság, tölgyfalevél-

mintázottság, márványozottság alakul ki a leveleken. Ritkán előfordulhat szisztemikus nekrózis is (WATERWORTH 1978, GONSALVES et al. 1982).

A CMV összes fehérjéjéről kimutatták, hogy szerepet játszanak a tünetek kialakításában. ROOSSINCK és PALUKAITIS (1990) megállapították, hogy a tünetek súlyosságáért és megjelenésük időtartamáért az RNS1 felelős. A CMV-NS izolátum számos *Nicotiana* fajon lokális nekrózist okoz szisztemikus mozaikfoltosság helyett, melyért 1a fehérje 461. aminosavának megváltozása felelős (DIVÉKI et al. 2004). *Nicotiana glutinosa* növényénél a 2a protein 758-777 közötti szakasza szintén felelős a vírus növényi szövetekben való felhalmozódásáért és a tünetek súlyosságáért, de csak a Sg-I csoportba tartozó izolátumoknál (DU et al. 2008). A 2b protein képes befolyásolni a növény mikroRNS-háztartáson alapuló szabályozását, így specifikusan befolyásolja a gazdanövény-vírus kapcsolatot (GOTO et al. 2007). A 2b fehérje legfontosabb funkciója a növények vírus elleni hatékony védekező-mechanizmusának, a transzkripció utáni géncsendesítésnek (gene silencing) gátlása (silencing suppression) (BRIGNETI et al. 1998).

A 3a fehérje a tünetek periodicitását (recovery-recurrent) befolyásolja (GAL-ON et al. 1996). SHINTAKU et al. (1992) a CP szerepét igazolták a tünetek kialakításában. Bizonyították, hogy a CP 129. aminosavának kicserélésével a dohány növények mozaikosodás helyett klorózissal reagáltak.

2.2.6 Átvihetőség, epidemiológia

A CMV a legtöbb vírushoz hasonlóan sebzéseken keresztül mechanikailag átvihető, de természetes terjedésében a legnagyobb szerepet a levéltetű vektorok töltik be. Több mint 86 levéltetű fajról bizonyították, hogy a CMV-t nem perzisztens módon terjeszti (MOURY & VERDIN 2012), és a vírust már a próbaszívásokkal is képes átvinni (GALLITELLI 2000). Ezek közül a legfontosabbak a paprikát is károsító zöld őszibarack-levéltetű (*Mysus persicae*) és az uborka levéltetű (*Aphis gossypii*). Az átvitel hatékonysága függhet a vírus izolátumtól és a levéltetű fajtától. TIAN et al. (2012) megállapították, hogy az előbb említett két legfontosabb vektor esetén az átvitel hatékonysága a Sg-I és Sg-II alcsoportok esetén különböző, de több levéltetű fajból álló rajzás esetén a két alcsoport izolátumai azonos mértékben terjednek. Az átvitel hatékonyságát a satRNS-ek csökkenthetik (JACQUEMOND 2012). A levéltetű átvitelben a CMV CP fontos funkcionális szerepet tölt be (QUEMADA et al. 1991).

A CMV elsődleges fertőzési forrásai, valamint áttelelésének segítői lehetnek a gyomnövények. Számos fás és lágyszárú, egyéves, áttelelő vagy évelő gyomnövény lehet CMV fertőzött a ruderalis, valamint a művelt területeken. A paprikakultúrákban gyakran

előforduló gyomok közül mutattak ki CMV fertőzést egyszikűekből (pl. *Setaria viridis*, *S. glauca*), magról kelő kétszikűekből (pl. *Stellaria media*, *Amaranthus retroflexus*, *Solanum nigrum*) és az évelők közül mezei acatból (pl. *Cirsium arvense*) (ARIL-SOKMEN et al. 2005, HOBBS 2000). A növényparazita *Cuscuta* és *Orobancha* fajok szintén gazdanövényei a vírusnak (SALAMON et al. 2014).

Több egyéves gyomnövénynél jelentős magátvitelt állapítottak meg. TOMLINSON és CARTER (1970) szerint a fertőzött *Stellaria media* magjairól kelő növények vírusos egyedeinek száma elérheti a 21-40%-ot, természetes körülmények között a magátvitel 4-29%-ra tehető. Kultúrnövények közül a CMV átvihető pl. az olajtök magjával (TÓBIÁS et al. 2007).

2.3 A paprika, mint a CMV fontos gazdanövénye

2.3.1 A CMV gazdasági jelentősége paprikán

Paprikából már az 1940-ben években izolálták Bulgáriában (KOVACHEVSKY 1940). Ezt követően (2000-es évek után is) jelentős kártételét állapították meg Európa számos országában, az USA-ban, Ázsiában, Ausztráliában, Afrikában (**1. táblázat**).

1. táblázat: Paprika állományok CMV fertőzöttsége

Előfordulás ideje (év)	Előfordulás helye (ország)	Fertőzöttség (%)	Hivatkozás
1940	Bulgária	100	KOVACHEVSKY (1940)
1985-1986	USA (Kalifornia)	37,2-45,5	ABDALLA et al (1991)
1986-1987	Banglades	n.a.*	AKANDA et al. (1991)
1990	Görögország	n.a.	VARVERI & BOUTSIKA (1999)
1998-1999	Törökország	2,3	ARLI-SOKMEN et al. (2005)
2000-2002	Szlovénia	n.a.	VOZELJ et al. (2003)
2001-2002	Tunézia	52	RABOUDI et al. (2002)
2005-2010	Csehország	7,6-37,7	SVOBODA & SVOBODOVÁ-LEIŠOVÁ (2012)
2006-2007	Pakisztán	7,8-51,8	IQBAL (2012)
2007-2011	Korea	15-30	KIM et al. (2012)
2009	Nigéria	22,14	AROGUNDADE et al.(2012)
2009	Szerbia	18,18	DRAGANAA et al. (2010)
2010	Litvánia	n.a.	ZITIKAITĖ & URBANAVIČIENĖ (2010)
2011	Törökország, Tunézia	4,8-86,7	BUZKAN et al. (2012)

*n.a.= nincs adat a fertőzöttség mértékéről

Magyarországon a paprikatermesztés egyik legsúlyosabb növényvédelmi gondját, a paprika bokrosodás betegségét (korábbi nevén „újhitűség”) a CMV okozza (SZIRMAI 1941, SALAMON et al. 2014). A paprika állományok gyakran 70-80 %-os fertőzöttsége súlyos károkat okoz a fűszerpaprika termesztő körzetekben pl.: Kalocsán és Szegeden (TÓBIÁS et al.

1978), de a különböző fajtacsoportokhoz (almapaprika, paradicsom alakú paprika, cecei típusok) tartozó szabadföldi étkezési paprikákon is jelentős (SALAMON et al. 1980). A vírus a levéltetvekkel bejutva hajtatóházakban is fellép (3. ábra, SALAMON et al. 2008). 2014-ben Hatvan, Boldog, Lajosmizse és Bokros környéki szabadföldi és hajtatott paprikaállományokon CMV járványos fertőzés volt tapasztalható (SALAMON szóbeli közlés).



3. ábra: CMV fertőzés hajtatóházban nevelt paprikán

(Fotó: Dr. Salamon Pál)

2.3.2 A CMV tünetei paprikán

A CMV korai palántakori fertőzése esetén a növények visszamaradnak a növekedésben (satnyulnak, törpülnek), internódiumai megrövidülnek, a fertőzött tövek a normálisnál jóval több oldalhajtást képeznek. A levelek fényüket elvesztve mattá válnak és elkeskenyednek. Sok esetben a levélerek kivilágosodnak és gyakran hullámos lefutásúvá válnak, az egész levél durvább tapintású lesz (TÓBIÁS et al. 1978). Az ilyen növények bőségesen hoznak virágot, de elrúgják azokat, alig kötnek, a kötődött termések nagy része szintén lehullik. Az esetlegesen kötődött, és megmaradt bogyók elaprózódnak, deformáltak lesznek, ezáltal elveszítik piacképességüket. TÓBIÁS et al. (1978) öt fajtán vizsgálták a CMV által okozott termés mennyiség-csökkenést. Minden esetben 50%-nál nagyobb veszteséget állapítottak meg.

A késői, már kifejlett és termést kötött töveken a fertőzés levéltüneteket már nem okoz. ZATYKÓ és TÓBIÁS (1987) a 'Táltos' fajtában korhoz kötött CMV toleranciát talált. Megállapították, hogy a virágzás és az első kötődések után fertőződött növények tünetmentesek maradtak, azonban ha a palántanevelés alatt vagy közvetlenül a kiültetés után fertőződtek, a fogékony fajtákhoz hasonlóan súlyos tüneteket mutattak. GARCIA-RUIZ és MURPHY (2001) is hasonló jelenséget figyelt meg a 'Early Calwonder' fajtán.

SALAMON et al. (2008) újabban azt közölték, hogy a Cecei típusú paprikák üvegházi állományaiban levéltünetektől mentes növényeken fellépő foltos terméshús barnulás összefügg a tövek CMV fertőzöttségével (**4. ábra**).

A paprikán egyes CMV izolátumok sárga mozaik betegséget okozhatnak (SALAMON et al. 1982). Egy ilyen CMV izolátumban 2009-ben satRNS-t mutattak ki (SALAMON & VÁRALLYAY 2009).



4. ábra: Foltos terméshús barnulás Cecei típusú paprikán

(Fotó: Dr. Salamon Pál)

22.3.3 A CMV magátvitele paprikán

Több külföldi szerző szerint (KOVACHEVSKY 1965, SUTIC 1959) szerint a CMV paprika maggal nem vihető át. Ezt erősítette meg Magyarországon TÓBIÁS és et al. (1978) munkája is. Fenti vizsgálatok tünettani alapon történtek.

ALI és KOBAYASHI (2010) – az előző vizsgálatoktól eltérően – először mutattak ki érzékeny molekuláris módszerrel (RT-PCR) paprikán CMV magátvitelt. A fogékony paprika anyanövényeket a CMV-Fny izolátummal fertőzték. A súlyos tüneteket mutató növények terméseiből kipreparált magok 95-100%-ában mutattak ki CMV-t Sg-I specifikus primerrel. A maghéjat és az embriókat külön-külön is megvizsgálták. A maghéjból 53-83%-ban, míg az embriókból 10-46% -ban mutattak ki CMV specifikus nukleinsavat. A fertőzött magvakból kikelő növényeken 4 héttel a vetés után 10-14%-os fertőzöttségi arányt állapítottak meg PCR-rel. A növényeket tovább nevelve azokon betegségi tüneteket nem tapasztaltak. Eredményeiket nem erősítették meg más kutatók, holott a problémának komoly gazdasági jelentősége van pl. a vetőmagtermesztést illetően.

2.2.4 A CMV elleni védekezés lehetőségei paprikán

A CMV elleni védekezésben fontos a fertőzési források kizárása, azonban ezt szabadföldi termesztés esetén a sok fertőzött mag és gyomnövény gyakorlatilag lehetetlen (HOBBS 2000). Az inszekticides kezelések hatékony védelmet biztosítanak a levéltetű populációk ellen, de nem fejtik ki hatásukat elég gyorsan ahhoz, hogy megakadályozzák a CMV fertőzést, mivel a

vírust a levéltetvek már a próbaszívás folyamán is leadják. A rovarölő szerek emellett a levéltetveket további mozgásra kényszeríthetik, mely a vírus nagyobb mérvű terjedését segíti elő (GALLITELLI 2000). A vektorhálókkal felszerelt termesztő berendezések nagyobb védelmet biztosíthatnak.

A védekezés alapvető követelménye a vírusmentes vetőmag biztosítása, de ez nem védi a növényeket a külső forrásokból származó fertőzésekkel szemben. A leghatékonyabb védelmet a CMV ellenálló fajták termesztése biztosítaná.

2.2.5 A rezisztenciakutatás eredményei

A legtöbb *Capsicum* faj és a *Capsicum annuum* legtöbb fajtája a CMV-vel kompatibilis kapcsolatban áll, szisztemikusan fogékony. Csak néhány paprika genotípus esetén ismert inkompatibilis kapcsolat, melyek mindegyike a HR-nek tulajdonítható. A *Capsicum* nemzetségnek olyan faja jelenleg nem áll rendelkezésünkre, melyet a CMV nem fertőz. A hiperszenzitíven reagáló fajok mellett a gyakorlatban rezisztensnek tekintjük az olyan fajokat is, melyekben a vírus replikálódása (NONO-WOMDIM 1993a), vagy a hosszútávú terjedése a növényben gátolt (WANG & BOSLAND 2006). Az ismert rezisztenciaformák többsége poligénes, kvantitatív jellegű (JACQUEMOND 2012).

NARIKAWA et al. (1987) *C. annuum*, *C. baccatum*, *C. chinense*, és *C. pubescens* genotípusokat teszteltek. A ***C. pubescens*** 4 vonalát találták ellenállónak. CASTAGNOLI et al. (1997) a *C. baccatum* var. *pedulum*-ot Olaszországban üvegházi és szántóföldi körülmények között is vizsgálták. Bár növényházban, mesterséges fertőzés után a fogékony fajtáktól eltérő tüneteket tapasztaltak, a vírus szisztemizálódott. Szántóföldi körülmények között azonban a levéltetvek által közvetített fertőzés 31-39%-kal kisebb volt, mint a közismerten fogékony *C. annuum* cv. 'Yolo Wonder' fajtán, ami 100%-ban megbetegedett. GRUBE et al. (2000) a ***Capsicum frutescens*** 'BG2814-6' vonalát találták ellenállónak számos CMV izolátummal szemben, és javasolták felhasználását a rezisztencianemesítésben. Közlésükben legalább 2 recesszíven öröklődő génnek tulajdonították az ellenállóságot.

Capsicum annuum fajták között is mutattak ki magas szintű CMV toleranciát, elsőként a '**Perennial**' fatájában, mely recesszív öröklődésű, poligénes, és négy QTL-től függ. Többek között attól a QTL-től is, melyhez a dohány mozaik vírus (*Tobacco mosaic virus*, TMV) rezisztencia is kötődik. (WANG & BOSLAND 2006).

NONO-WOMDIM et al. (1991) szintén kvantitatív jellegű, részleges rezisztenciát fedeztek fel a '**Vania**' és '**Milford**' fajtákban, melyet szántóföldi körülmények között is teszteltek. A két fajtát 3 egymást követő évben értékelték, de 15%-nál nagyobb arányú fertőzöttséget egyik

évben sem tapasztaltak (NONO- WONDIM et al. 1993b). Később megállapították, hogy az ellenállóság 7 genomi régióhoz (egy domináns és több segítő régióhoz) köthető (CARANTA et al. 2002), és korábbi adatok szerint a vírus hosszútávú terjedésének részleges gátlásán alapul. A replikáció és a vírus sejtről sejtre történő terjedése a 'Yolo Wonder' fogékony fajtához hasonló mértékű az inokulált levélben (NONO- WONDIM et al. 1991). NONO-WONDIM et al. (1993a) a 'Perennial' és 'Vania' rezisztens fajták látens fertőzöttségét is összehasonlították. Meglepetten tapasztalták, hogy a 'Perennial' fertőzött és fertőzetlen leveleiben ki tudták mutatni a vírust, de a 'Vania'-nál ez csupán az inokulált levelekre korlátozódott. A jelenség okának feltárására ELISA tesztet végeztek. Megállapították, hogy a vírus multiplikációja a 'Perennial'-ban jóval kisebb mértékű volt, mint a 'Vania'-ban, vagy a kontrollként használt fogékony 'Yolo Wonder'-ben. A 'Perennial' ellenállósága tehát a vírus szaporodásának gátlásával, a 'Vania'-é pedig a vírus hosszútávú transzlokációjának gátlásával függ össze.

LAPIDOT et al. (1997) ELISA tesztet, valamint öröklődési vizsgálatot végeztek a 'Perennial' fajtán, a tolerancia genetikai hátterének felderítésére. Megállapították, hogy a tolerancia dominánsan öröklődik, és valószínű, hogy további minor génektől függ. Az ELISA teszt eredményei szerint azonban, ellenétben NONO-WONDIM et al. (1993a) kutatásaival, a tolerancia mértéke nem a vírusakkumulációval függ össze, sokkal inkább a kigyógyulásra (recovery) való hajlammal. Véleményük szerint az eredmények közötti különbség lehetséges oka a különböző vírusizolátumok eltérő virulenciája. A 'Perennial' rezisztenciájának további molekuláris térképezését CARANTA et al. (2002) végezték, 'Perennial' és 'Yolo Wonder' keresztezésével előállított hibrideken.

STOIMENOVA et al. (2005) az **L57** és **L113** paprika vonalak CMV rezisztenciáját vizsgálták. Kimutatták, hogy rezisztenciájuk a vírusinokulum koncentrációjától függ. Megállapították, hogy 5 µg/ml töménységű vírusinokulumot használva a fertőzéshez egyik vonal sem betegedett meg, míg 50 µg/ml töménységnél az **L57**, 75 µg/ml töménységnél pedig már mindkét rezisztens vonal fogékonnak bizonyult. MIHAILOVA et al. (2013) a rezisztensnek talált **L113** és **L57** paprikavonalakon a korábbi tapasztalatoknak megfelelően átlagos vírus-koncentráció esetén nem figyeltek meg szisztémikus tünetet, de az **L113** vonal egyedeinek fertőzött levelein nekrotikus, az **L57** vonal egyedeinek inokulált levelein klorotikus foltok kialakulását állapítottak meg. Kimutatták, hogy a vírus az inokulált levelekben jelen van, de a növény más részeiben nem. A két vonal védekezési mechanizmusa rendkívül hasonló.

ZHANG et al. (2011) Asian Vegetable Research Center-ből származó két paprika vonal reakcióját tanulmányozták. A VC26 fogékony és a VC 246 ellenálló vonalakat 28 különböző

CMV izolátummal fertőzték, melyek közül öt izolátum a VC246-on is szisztemikus tüneteket okozott. Ezeket az izolátumokat rezisztenciatoró törzsekként jellemezték. A paprikákat az eltérő virulenciájú törzsekből képzett pszeudorekombináns vírusokkal is fertőzték (az RNS2 a rezisztenciaáttörő csoportból származott), de nem találtak bizonyítékot arra, hogy a rezisztencia áttörése az RNS2-höz kapcsolt tulajdonság lenne.

YAO et al. (2013) kvantitatív jellegű rezisztenciát fedeztek fel a *Capsicum annum* beltenyésztett 'BJ0747-1-3-1-1' jelzésű vonalán. Megállapították, hogy a rezisztencia két fő, részben additív, eltérő kapcsoltsági csoportokhoz (8-as és 4-es) tartozó domináns géntől, valamint több kisebb jelentőségű, szintén domináns géntől függ. A két fő gén együttesen 55%-ban határozza meg a rezisztenciát. Legutóbb Pakisztánban ASHFAQ et al. (2014) 9 magas fokú rezisztenciával rendelkező *Capsicum* genotípust találtak. A rezisztencia jellegét nem közölték, eredményeik megerősítésre és további vizsgálatokra várnak.

A már említett 'Perennial' és más rezisztens fajtákra alapozva CMV rezisztens fajta a köztermesztésben is megjelent Észak-Amerikában. Négy egyetem és a Pacework Organic Farm közreműködésével nemesített 'Pacework' fajta magas szintű CMV toleranciával rendelkezik és az organikus termelőknek is ajánlják. A 'Pacework'-be épített ellenállóság azonban csak a kevésbé agresszív vírustörzsek ellen nyújt védelmet (MAZOUREK et al. 2009).

Az eddig bemutatott több génes rezisztenciák után először 2010-ben a legtöbb rezisztenciaforráshoz hasonlóan Koreában egyetlen domináns génnel öröklődő rezisztenciátípust találtak a *Capsicum annum* 'Bukang' fajtájában. A CMV-Korean és CMV-Fny izolátumokkal szembeni ellenállóságért felelős rezisztenciagént *cmr1*-nek (*Cucumber mosaic resistace 1*) nevezték el. Zöld fluoreszcens fehérjék segítségével kimutatták, hogy a CMV hosszú távú mozgása gátolt az epidermális és a mezofillum sejtek között. Azt is meghatározták, hogy a *cmr1* gén az LG2 lókuszc centrumára régiójában helyezkedik el. A gén nemesítésben való felhasználása céljából molekuláris markert fejlesztettek ki (KANG et al. 2010). Azonban az előbb említett rezisztencia gén sem nyújt a CMV-vel szemben teljes körű védelmet, mert az újonnan felfedezett, agresszíven terjedő CMV-P1 törzs a *cmr1* rezisztenciát áttöri. Kimutatták, hogy a rezisztenciát áttörő CMV-P1 izolátumban a helikáz domain 865, 896, 901, 957, 980 és 993 aminosavainak megváltozása okozza a vírus szisztemikus terjedését a 'Bukang' fajtában. (KANG et al. 2012). A CMV-P1 fellépése miatt a 'Bukang' köztermesztésben való használata mellett sem csökkent a CMV fertőzések aránya Koreában.

A fentiek szerint több szántóföldi rezisztenciával rendelkező fajta ('Perennial', 'Pacework') létezik, de magas szintű rezisztenciája csupán a 'Bukang' fajtának van. Ez utóbbi nem nyújt védelmet a CMV egyes törzseivel szemben.

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1 A vizsgálatok helye

A patológiai és a northern blot vizsgálatokat a NAIK Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóintézetének (MBK, Gödöllő) üvegházában és laboratóriumában (Növénygenomikai és Növény-mikroba Interakció Csoport és Növényi Fejlődésbiológiai Csoport), a PCR vizsgálatokat az MTA Agrártudományi Kutatóközpont Növényvédelmi Intézetében (Budapest) végeztünk Dr. Salánki Katalin laboratóriumában.

3.2 A növények nevelése és fenntartása

A virológiai tesztnövényeket és a vizsgált paprika növényeket Trisóval fertőtlenített vetőtálcákban vagy különböző méretű műanyag cserepekben, perlittel dúsított és Volldünger (100 ml/50l) műtrágyával kiegészített kertészeti tőzegkeverékben (Agrocs) neveltük. A növények heti 2 alkalommal kaptak inszekticides kezelést (felváltva Mospilan, Spintor növényvédő szerek). A klímaberendezéssel ellátott üvegházban a hőmérséklet 22-26 °C között változott. A téli időszakban a növények 16 órás pótvilágítást kaptak. A hosszabb ideig (6-12 hónap) fenntartott, cserepezett paprika növényeket két hetente Volldünger oldattal tápoldatoztuk és szükség szerint fertőtlenített ollóval metszettük.

3.3 Vírusizolátumok

A kísérletekhez felhasznált CMV-Ca2 és CMV-G08 (Sg-I alcsoport) valamint a CMV-ScL (Sg-II alcsoport) izolátumok Dr. Salamon Pál vírusgyűjteményéből származtak. A Ca2 és G08 izolátumokat paprikáról, az ScL izolátumot farkasbogyóról különítették el (SALAMON & VÁRALLYAY 2012, SALAMON et al. 2012). A vírusizolátumokat *Nicotiana tabacum* cv. *Xanthi-nc* és *N. benthamiana* növényeken tartottuk fenn.

3.4 Inokulumok készítése, mechanikai inokulációk

A fertőzésekhez a vírusizolátumokat *N. tabacum* cv. *Xanthi-nc* és/vagy *N. benthamiana* növényeken szaporítottuk. Az inokulumok előállításához a fenti vírusdonor növények tüneteket mutató csúcsi leveleit hideg desztillált víz hozzáadása után (1:5-10 w/v), steril porcelán mozsarakban homogenizáltuk. Az így nyert szövetnedvvel a vizsgált növények előzőleg karborundummal (500 mesh) leszórt leveleit dörzsöltük be steril üveg spatula segítségével. Az inokulumok fertőzőképességének ellenőrzéséhez a CMV-re lokális léziókkal reagáló *Chenopodium quinoa* vagy *Ch. murale* növényeket is inokuláltunk.

3.5 A fertőzések vizuális értékelése és a növények szelektálása

3.5.1 Magyarországon bejegyzett fajták értékelése

Magyarországon bejegyzett 210, sorszámmal ellátott fajta és hibrid vetőmagját a NÉBIH Növénytermesztési és Kertészeti Igazgatóságától (Budapest) kaptuk. A magokat sorolóval kijelölt sorokba (1 sor egy genotípus, 20 mag/sor) 20x15 cm-es vetőtálcában vetettük.

Minden vizsgált fajta 5 egyedét a CMV-Ca2 izolátummal inokuláltuk szikleveles korban. 90 fajta esetén további 5 növényt a CMV-ScL izolátummal is fertőztünk. Fajtánként 5 növényt fertőzetlen kontrollként neveltünk. A tüneteket folyamatosan figyelemmel kísértük és a fertőzés után 20 nappal vizuálisan értékeltük. A fajták CMV fogékonyságának értékelésére számszerűsített módszert dolgoztunk ki, mely a tüneti értékelések szubjektivitását csökkenti. Mivel az egyes genotípusokon belül a növényegyedek tünetei szinte teljesen azonosak voltak, ezért egy genotípust egységként értékeltünk. A fajtákon három különböző tünettípust figyeltünk meg: a növények növekedésének, a levelek alakjának illetve a színének változását. Az egyes tünettípusokon belül súlyossági kategóriákat különböztettünk meg. A magassági növekedésre, valamint a levélalakra vonatkozó súlyossági kategóriákba sorolást becslés alapján végeztük. Mindhárom tünettípuson belül a súlyossági kategóriákhoz számértéket rendeltünk (2-4. táblázatok).

2. táblázat: A fertőzés magassági növekedésre kifejtett hatása (H)

Súlyossági kategória	A kategória jellemzői	Számérték
normál méret	nincs jelentős növekedés csökkenés a kontrollhoz képest	0
enyhe törpülés	a növények a kontroll csoport magasságának 80-90%-át érték el	1
közepes törpülés	a növények a kontroll csoport magasságának 60-80%-át érték el	2
súlyos törpülés	a növények a kontroll csoport magasságának 60%-át sem érték el	3

3. táblázat: A fertőzés levélalakra kifejtett hatása (Ld)

Súlyossági kategória	A kategória jellemzői	Számérték
normál alak	a növény leveleinek alakja megegyezik a kontrollal	0
enyhe levéltorzulás	a levelek nagyon enyhén deformáltak	1
közepes levéldeformáció	a levelek enyhén megnyúltak, kissé aszimmetrikusak	2
súlyos levéldeformáció	a levelek elkeskenyednek, aszimmetrikusak	3

4. táblázat: A fertőzés levélszínre gyakorolt hatása (M)

Súlyossági kategória	A kategória jellemzői	Számérték
normál szín	a növény leveleinek színe nem tér el a kontrolltól	0
enyhe mozaik	a levelek világosabbak, mint a kontroll növények levelei, az apró, tűszúrásnyi fehér pontok, vagy halvány mozaik miatt	1
közepes mozaik	a levelek világoszöld mozaikfoltosak	2
súlyos mozaik	a leveleken éles, zöldessárgás mozaik foltok láthatóak	3

Mindhárom tünettípus súlyossági kategóriáit figyelembe véve a megbetegedés súlyosságát betegségindex-szel (Bi) fejeztük ki:

$$Bi = H + Ld + M$$

ahol:

Bi = Betegség index

H= A vírus növekedésre kifejtett hatásának számértéke

Ld= A vírus levélalakra kifejtett hatásának számértéke

M= A vírus levélszínre kifejtett hatásának számértéke

A betegség indexeket figyelembe véve a növény genotípusok fogékonyságát az alábbi (5. táblázat) kategóriákba soroltuk:

5. táblázat: Fogékonysági kategóriák a Betegségindex alapján

0	nem fogékony	ha Bi=0
1	nagyon enyhén fogékony	ha Bi=1-2
2	enyhén fogékony	ha Bi=3
3	közepesen fogékony	ha Bi=4
4	nagyon fogékony	ha BI=5-6
5	extrém fogékony	ha Bi>7

A CMV-ScL és CMV-Ca2 izolátumok virulenciája közötti korrelációt Microsoft Excel program segítségével számítottuk ki.

3.5.2 VTK S_1 és S_2 populációk és hibridek értékelése és szelektálása

Vietnami eredetű fűszerpaprika genotípus (VTK) 14 anyanövényét a Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóintézetben Dr. Salamon Pál tartotta fenn. A sorszámozott VTK 1-14, anyanövények bogyóiból származó magokat vetőtálcába vetettük (S_1 populációk) és először szikleveles korban, majd 6-8 leveles korban inokuláltuk a CMV-Ca2 izolátummal. (A vizsgálatokból a 3-as és a 9-es anyanövények utódai alacsony csírázási százalék miatt kimaradtak). A növényeken megjelenő tüneteket folyamatosan, termésérésig értékeltük, és a beteg egyedeket eltávolítottuk. Az S_1 növénypopulációkból szelektált 44 egyedet 12 cm

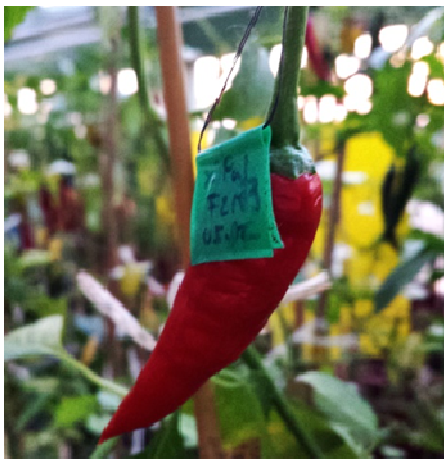
átmérőjű cserepekbe ültettük át, és jelenleg is fenntartjuk. A szelektált növények 16 kiválasztott egyedének utódaiból növényvonalakat (S_2 populációk) hoztunk létre.

A VTK vonalak értékelésénél nem állítottunk fel súlyossági kategóriákat, mert itt a tünetmentes paprika növények számát, és a tünetes növényeken a szisztemizálódás sebességét értékeltük. A VTK S_2 vonalakat először szikleveles korban fertőztük. Az egyedeket tünetileg értékeltük, és a továbbiakban csak azokat a vonalakat tanulmányoztuk, melyek minden egyede az első értékelés során tünetmentesnek bizonyult. A növényeket átültetés után POCHARD (1977) módszere szerint dekapitáltuk (5. ábra), és vonalanként 10-12 növényt az első 2 lomblevélen CMV-Ca2 izolátummal fertőztük. A tüneteket a 2. fertőzés után kétszer, 18 és 26 nappal értékeltük. Egy vonal (8/2) minden egyedéről levélmintát gyűjtöttünk a northern vizsgálathoz.



5. ábra: VTK S_2 populáció CMV-vel fertőzött, dekapitált egyedei
(Fotó: Dr. Salamon Pál)

3.6 Manuális keresztezés



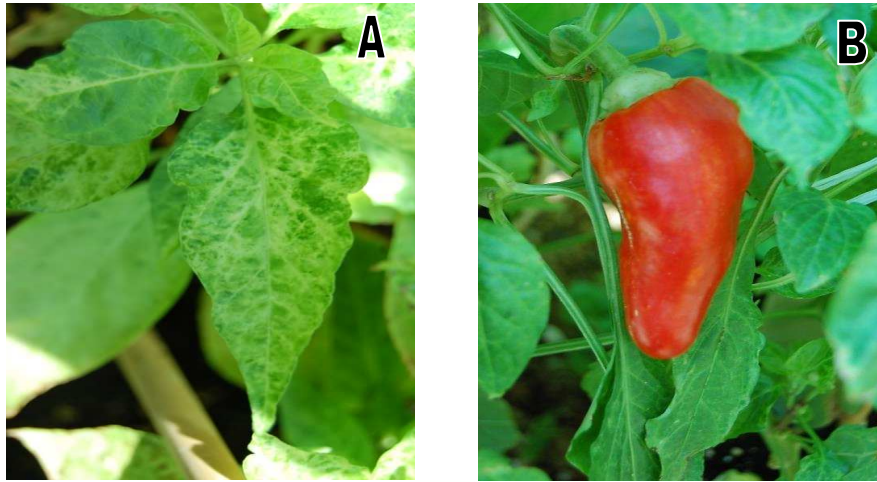
6. ábra: Jelölt keresztezett bogyó

A VTK S_1 növények közül keresztezési partnereket választottunk ki. Keresztezési partnerként használtuk továbbá a Palotás F_1 hibrid fűszerpaprika F_2 populációjának szelektált növényeit ($PalF_2$), melyeket Dr. Salamon Pál bocsátott rendelkezésünkre. A keresztezési partnerek anyanövényként és pollendonorként egyaránt szerepeltek.

Az anyanövény partnerek még ki nem nyílt bimbós állapotú virágait lándzsatűvel feltártuk, majd az összes porzót fertőtlenített csipesszel eltávolítottuk (kézi kasztrálás), figyelve arra, hogy a bibét ne sértsük meg. Az apanövény egy, már felnyílt portokjával a pollent az anyanövény bibéjére vittük át, és a portokot a bibe mellé helyeztük. A keresztezett virágokat egyenként jelöltük (6. ábra), a keresztezés adatait feljegyeztük.

3.7 Magok és növények kezelése a magátviteli vizsgálatokhoz

A magátviteli vizsgálatokhoz a 'Start' és 'SynCecei' paprikafajták CMV-G08 jelzésű izolátummal fertőzött egyedeiről (7. ábra) gyűjtöttünk beteg bogyókat.



7. ábra: Betegség tünetek a CMV-G08 izolátummal fertőzött 'Start' paprikafajta levelén (A) és termésén (B)
(Fotók: Dr. Salamon Pál)

A beteg bogyókat feltártuk, a magok egy részét szűrőpapíron szárítottuk, és a vetésig szobahőmérsékleten tároltuk. A magok kisebb részét a preparálás után közvetlenül talajba, vetőtálcába vetettük.

A tárolt magok egy részét felületileg sterilizáltuk a következő módon: a magokat 3 órán keresztül áztattuk steril desztillált vizes edényben, majd sterilizáló oldatban (10 g Ca hypoclorit, 90 ml desztillált víz, 1 csepp tween 20 fertőtlenítő szer) 20 percig 50 rpm-en rázógépen ráztuk. Ezt követően steril vízzel 5-ször öblítettük. A sterilizált magvakat MS táptalajra helyeztük. (MUSASHIGE & SKOOG 1962). A vízzel telítődött, enyhén megduzzadt magvak egy részét PCR vizsgálatokhoz használtuk fel. Másik részét szikleveles korrig táptalajon neveltük (8. ábra), majd tőzegbe tűzdeltük. A nem sterilizált és a sterilizált magokról kelő növényeket az MBK üvegházában neveltük, és folyamatosan tünetileg értékeltük.



8. ábra: Felületileg fertőtlenített, táptalajra vetett magból kelő szikleveles paprikanövények

3.8 Molekuláris vírusdiagnosztikai vizsgálatok

3.8.1 Northern blot vizsgálatok

A totál nukleinsav extrakcióját Invitrogen protokoll szerint trizollal végeztük. A vizsgált növények csúcsi leveleiből kb. 0,1 g tömegű szövetet lehűtött dörzsmozsárban 1 ml Trizol reagenssel homogenizáltuk, és Eppendorf csőbe pipettáztuk. Ezt követően a szuszpenziót 5 percig szobahőmérsékleten inkubáltuk, majd 200 µl kloroform hozzáadása után ismételt 5 percig szobahőmérsékleten inkubáltuk. A kloroformos szuszpenziót 15 percig 4 °C-on, 12000 rpm-en centrifugáltuk. A kb. 600 µl vizes fázishoz 500 µl izopropanolt adtunk, amivel 10 percig szobahőmérsékleten inkubáltuk, és 10 percig 4 °C-on centrifugáltuk. A kicsapódott nukleinsavat alkohollal (1 ml 70%-os etil-alkohol, 5 perc 12000 rpm centrifugálás) 3x mostuk. A maradék alkoholt vákuumszáritóban 2 percig elpárologtattuk, majd a megszáradt nukleinsavat 30 µl steril vízben oldottuk vissza. Az RNS molekulák degradálódásának elkerülése érdekében a kivonást végig jégen, elszívófülkében, kesztyűben, gyorsan végeztük. A mintákat -70 °C-on tároltuk.

A nukleinsav kivonás minőségét etídium-bromid tartalmú 1,2%-os agaróz gélen, 100 V-on történő futtatással ellenőriztük, és ChemiDoc MP géldoc készülék segítségével dokumentáltuk. A nukleinsav minták koncentrációját ND-1000 NanoDrop Spektrofotométerrel határoztuk meg, ez alapján a mintákból 6 µg RNS-t használtunk fel. A nukleinsavat és 5 µl FDE festéket tartalmazó, steril vízzel 10 µl-re egészített térfogatú mintákat 5 perces 65 °C-on történő inkubálás után etídium-bromid tartalmú, 1,2%-os agaróz gélre vittük fel. Az RNS-eket TBE pufferben választottuk el 100 V-on. A futtatás után a gélből a nukleinsavak transzfere 20xSSC-vel (3M NaCl, 3,3 mM tri-Na-citrát, pH 7,0) Hybond NX membránra kapilláris blot technikával történt SAMBROOK & RUSSEL (2001) módszere alapján. A blotolás után a membránra Amersham Life Science Cross-link készülékkel irreverzibilisen rögzítettük a nukleinsav mintákat.

A membránt a hibridizációra lezárt hibridizációs csőben 65 °C-on készítettük elő. Először 100 ml 2x SSC-ben 20 percig mostuk, majd 10 ml hibridizációs folyadékban egy órán át prehibridizáltuk.

A hibridizációhoz [α -³²P]-dCTP-vel jelölt, tisztított DNS fragmentumokat használtunk. Próbaként CMV-Fny izolátumáról származó PCR fragmentet használtunk, melyet Dr. Várallyay Éva bocsátott rendelkezésünkre. A próba jelöléséhez a ThermoScientific DecaLabel kitet használtuk a gyártó utasításai alapján. A membránt a jelölt próbával lezárt

hibridizációs csőben 10 ml hibridizációs folyadékban (5xSSC; 5xDenharts; 0,4 mg/ml élesztő RNS) egy éjszakán át 65°C-on inkubáltuk. A nem specifikusan megtapadt próbát csökkenő ionkoncentrációjú SSC és 0,1% SDS tartalmú oldatokkal, 65°C-on mostuk. A membránt 2x, 0,5x illetve 0,1x SSC tartalmú oldatokkal 15, 15 illetve 20 percig inkubáltuk. A folyamat végeztével a folpack-kal becsomagolt membránt kazettába helyeztük, és sötét szobában Fuji Medical Super RX röntgen filmet helyeztünk rá. Az erre exponálódott képet előhívó oldatban (Fuji X-fix) előhívtuk. Az expozíciós idő 5 óra volt.

3.8.2 PCR vizsgálatok

A minták totálnukleinsav kivonását az MTA Növényvédelmi Intézetben általánosan alkalmazott metodika alapján végeztük (SALÁNKI 2012). A sziklevelekből kb. 1 cm hosszú részt használtunk fel. 5 növény mintáit összevontan dolgoztuk fel. A bogyóhúsból és a placentából steril szikével vettünk mintát. A növéymintákat jégen lehűtött dörzsmozsárban homogenizáltuk 400 µl kivonó pufferben (50 mM Tris pH=7,6, 100 mM NaCl, 1 mM EDTA, 0,5 % SDS, 0,3 % merkaptotanol), majd fenol-kloroform (50-50%) keverékkel 5 percig 13000 rpm-en centrifugáltuk. A felső fázisból az RNS-t 400 µl kloroformmal extraháltuk, a vizes és a szerves fázist centrifugálással választottuk el, majd az RNS-t 1 ml abszolút etanollal 20 µl 4 M Na-acetát jelenlétében kicsaptuk. A csapadékot 4 °C-on 20 percig centrifugáltuk, 70%-os etanollal mostuk, majd 20 percig vákuumszáritóban szárítottuk, végül 40 µl steril vízbe visszaoldottuk. A nukleinsav mintákat a további felhasználásig -70 °C-on tároltuk.

A polimeráz láncreakcióhoz először komplementer DNS-t (cDNS) készítettünk. 4µl nukleinsav oldathoz 1µl primert (5' –GCG GAT CCT GGT CTC CTT TTG GAG GCC– 3') adtunk. A keveréket 65°C-on 5 percig inkubáltuk, gyors centrifugálás után jégre helyeztük, majd 2µl 5× RT puffert, 1µl 5mM/µl-es dNTPs-t, 1µl steril desztillált vizet, 0,5µl reverz transzkriptáz enzimet (200u/µl) (Fermentas) és 0,5µl HPRI RNase inhibitor (Fermentas). Az kész oldatokat 60 percig 42°C-on inkubáltuk. Gyors centrifugálás után ismét jégre kerültek.

A cDNS 1µl-éhez hozzáadtunk 5µl 10× Taq puffert, 3µl (25mM) MgCl₂-ot, 1µl Taq-polimerázt (5u/µl) (Fermentas), 2µl 5mM/µl-es dNTPs-t, 1-1µl primert (5' –GCG GAT CCT GGT CTC CTT TTG GAG GCC– 3'; 5' – CTC TAT TAT TCA GAT CGT CGT CAG – 3'), és 36 µl steril desztillált vizet. A primerek RNS2 specifikus kb. 700 nt hosszúságú szakaszát amplifikálják. A PCR reakció paraméterei az voltak: 95°C 5 perc; 30 ciklus: 95°C 30 mp, 60°C 30 mp, 72°C 1 perc 20 mp; 72°C 7 perc.

A PCR termékekből 2 µl-t futtattunk meg 2 µl FDE hozzáadásával, 1%-os agaróz gélen.

4. EREDMÉNYEK

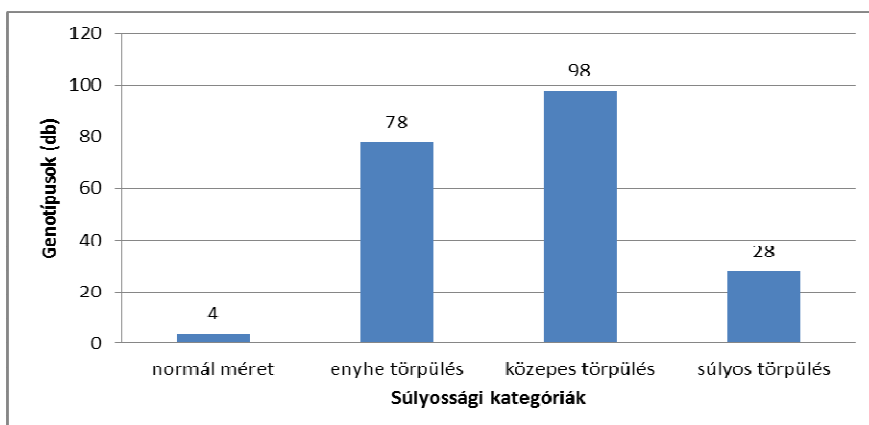
4.1 Magyar fajták ellenállósági tulajdonságai

A vetés után 2 héttel, szikleves korban a CMV-Ca2 izolátummal fertőzött, egyedi sorszámmal ellátott 210 Magyarországon bejegyzett fajtán és hibriden, a CMV fertőzést követően, az alábbi tüneteket figyeltük meg: TÓBIÁS et al. (1978) észrevételeihez hasonlóan a vizsgált genotípusok különböző mértékben törpültek (**9. ábra**):



9. ábra: Paprika fajták és hibridek törpülése CMV-Ca2 fertőzés hatására

A CMV fertőzésre 98 genotípus (az összes genotípus 46,7%-a) közepesen súlyos törpüléssel reagált. A genotípusok közel 40 %-a (78 fajta) enyhén törpült. A súlyosan törpült genotípusok száma 28 volt, mely az összes vizsgált fajta 13,3%-át jelentette. A kontroll növényekhez képest 4 genotípusnál, azaz a vizsgált genotípusok csupán 1,9 %-ánál növekedés gátlás az értékelés időpontjáig nem volt megfigyelhető (**10. ábra**).

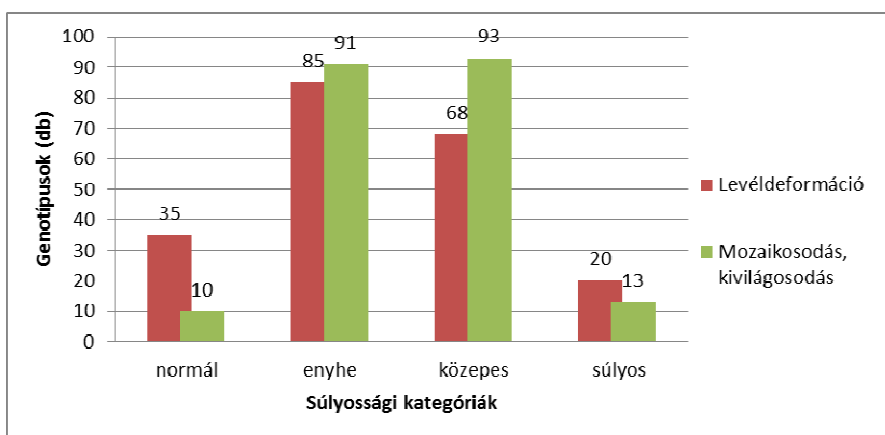


10. ábra: A CMV- Ca2 fertőzés magassági növekedésre gyakorolt hatása szerinti súlyossági kategóriákba sorolt fajták és hibridek száma

A leveleken kialakuló tüneteket értékelve a következőket állapítottuk meg: A levélszint tekintve a fajták közel felén (42,8%-án, azaz 90 genotípuson) enyhe tünetek jelentek meg

(kivilágosodást okozó tűszúrásnyi fehér pontok, klorózis, illetve világoszöld mozaik foltok). Nagy arányt képviseltek (44,8%) a közepesen mozaikos levelű genotípusok is. A két tüneti kategóriához tartozó fajták száma együtt az összes genotípus 87,6%-át adta (**11. ábra**). A fiatal korban fertőzött paprikáknál MURPHY (2013) és TÓBIÁS et al. (1978) szerint is a leggyakrabban a levelek kivilágosodása, valamint halvány mozaikosodása figyelhető meg a CMV korai fertőzésénél. 13 genotípusnál, azaz az összes fajta 6,2%-ánál erős mozaik foltosságot tapasztaltunk. 10 genotípus esetén (a vizsgált fajták 4,8%-án) a fertőzött egyedek levelei, a kontroll növényekhez hasonlóan, fényesek voltak, azokon sem mozaikfoltokat, sem kivilágosodást nem lehetett megfigyelni.

A levéldeformációt illetően a fajták és hibridek többsége enyhe (86 genotípus, 41,0%) vagy közepes (68 genotípus, 32,4%) súlyosságú levéldeformációt mutatott. Viszonylag kevés fajtán (20 genotípus, 9,5%) figyeltünk meg súlyos tüneteket. 34 fajta (16,2%) volt levéldeformációktól mentes (**11. ábra**).

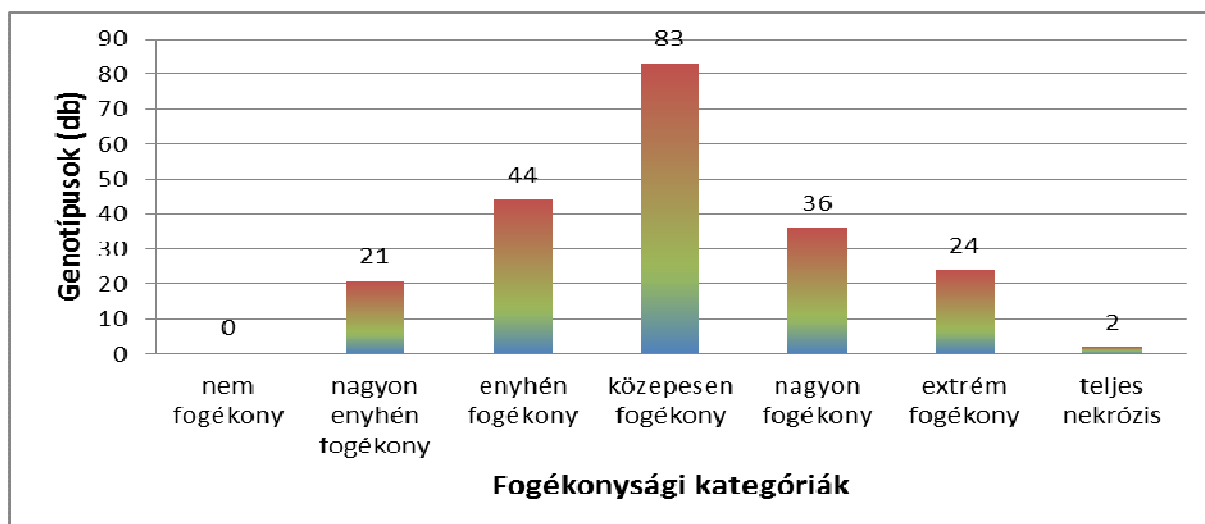


11. ábra: A levéltünetek alapján különböző súlyossági kategóriákba sorolt fajták és hibridek száma.

Azt is megállapítottuk, hogy az olyan genotípusokon, melyeken valamely tünettípus még nem jelent meg, más tünettípusok már megfigyelhetőek voltak. A 4 nem törpült genotípus (75, 78, 86, 203) közül a 203-ason csak matt, világos levelek valamint enyhe mozaikfoltok látszottak. A 78-as genotípuson emellett még enyhe levéldeformáció is látható volt. A 86-os paprikafajtán a másik 2 tünettípus a súlyosabb kategóriákba (közepes levéldeformáció és súlyos mozaik) esett. Azok a paprikák, melyeken mozaikfoltok még nem látszottak, általában enyhén vagy közepesen törpültek, és enyhe levéldeformációt mutattak. Egy genotípus (120-as) növényei a normál levélszín ellenére súlyos törpüléssel és közepes levéldeformációval reagáltak. A levélalak változást nem mutató 34 genotípus növényei közepesen vagy enyhén törpültek, és öt genotípus kivételével (31, 60, 80, 165, 219) – melyeken közepesen erős mozaik foltosságot figyeltünk meg – csak enyhén mozaikosodtak.

Az inokulált 210 paprika genotípus közül 2 fajtát (a 88-as és a 121-es) a fenti szempontok alapján nem tudtam értékelni, mert ezeken az értékelés időpontjára teljes szár és csúcsnekrózis alakult ki.

Az összesített fogékonysági kategóriákat tekintve kiugróan magas volt a közepesen károsodott paprika fajták és hibridek gyakorisága (39,5 %), de nagy arányban voltak jelen az enyhén és súlyosan károsodott genotípusok is (21,0% és 17,1 %; **12. ábra**). A szélsőségek (nagyon enyhén fogékony valamint nagyon súlyosan fogékony kategóriák) gyakorisága alacsonyabb volt. A legsúlyosabb fertőzöttséget a 2 teljes nekrózissal reagáló fajta mutatta (**12. ábra**). Teljesen tünetmentes fajtát nem találtunk a vizsgált genotípusok között, REDDICK és HABERA (2004) megfigyeléseihez hasonlóan, akik 250 szikleveles korban fertőzött paprikavonal között sem találtak CMV rezisztens genotípust. A Magyarországon köztermesztésben lévő 5 vizsgált között TÓBIÁS et al. (1978) sem talált rezisztens fajtát.



12. ábra: A CMV-Ca2 fertőzés súlyossága alapján a különböző fogékonysági kategóriákba tartozó paprikafajták és hibridek száma

Az egyes fajták sorszámát a CMV-Ca2 törzsre való fogékonyságát kategóriánként a **MELLÉKLET 12. táblázat**ában tüntettük fel.

4.2 CMV-Ca2 és CMV-ScL virulenciájának vizsgálata

A különböző CMV izolátumok közötti virulencia-különbség kimutatására a CMV-Ca2 izolátummal párhuzamosan 90 genotípus 5-5 egyedét a CMV-ScL izolátummal is fertőztük.

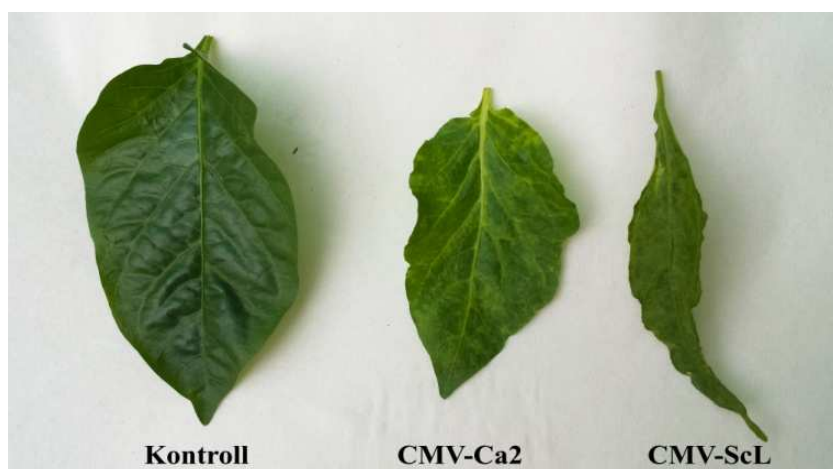
Megállapítottuk, hogy a magassági növekedés súlyossági kategóriáiba sorolt genotípusok számát tekintve a két vírustörzs között nincs jelentős különbség (**6. táblázat**). Az azonos kategóriákba azonban nem ugyanazok a fajták tartoztak (csak 36%-ban korreláltak, **6. táblázat**).

6. táblázat: CMV-Ca2 és CMV-ScL izolátumokkal fertőzött, különböző tünettípusok súlyossági kategóriába sorolt fajták és hibridek száma

Súlyossági kategóriák	Tünettípusok					
	Törpülés		Levéldéformáció		Mozaikosodás	
	CMV-Ca2	CMV-ScL	CMV-Ca2	CMV-ScL	CMV-Ca2	CMV-ScL
0 <i>normál</i>	2	4	13	1	7	0
1 <i>enyhe</i>	35	28	33	13	40	2
2 <i>közepes</i>	39	35	32	23	36	32
3 <i>súlyos</i>	14	23	12	53	7	56
Korreláció*	0,36		0,25		0,22	

*= a korreláció nem az összesített adatsorokra, hanem a genotípusok adataira külön vonatkozik

Megfigyelhető volt, hogy a CMV-ScL izolátum által okozott levélmorfológiai elváltozások a CMV-Ca2 izolátumhoz viszonyítva már ekkor sokkal súlyosabbak voltak (13. ábra, 6. táblázat), összhangban SALAMON et al. (2012) eredményeivel, akik szerint a *Solanaceae* családba tartozó fajok többségén a CMV-ScL súlyos levélelkeskenyedést okoz, többek között *Capsicum annuum* cv. 'Albarégián' is.

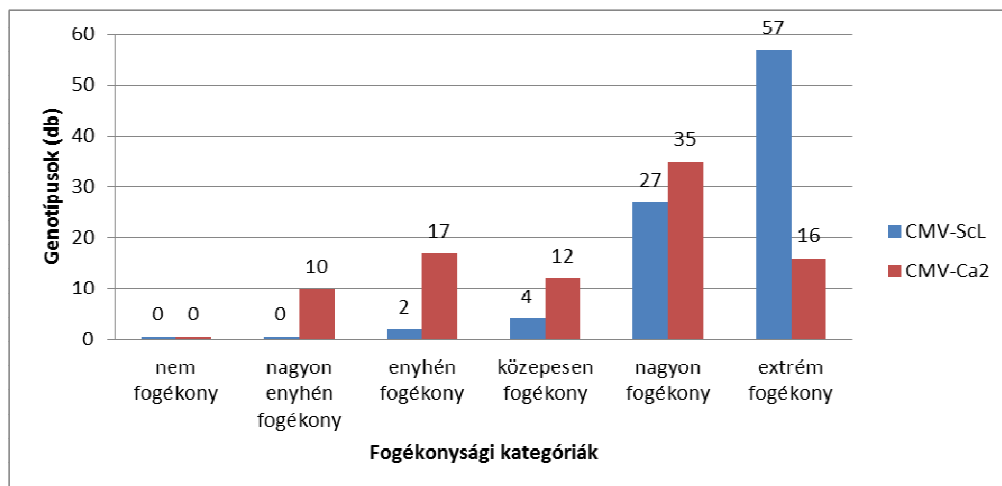


13. ábra: CMV-Ca2 és CMV-ScL izolátumok által előidézett levélmorfológiai elváltozások

A genotípusok levélmorfológiai tüneteinek súlyosságának korrelációja csak 0,25 és 0,22 volt. A két vírustörzs 27 genotípusnál azonos súlyosságú tünetet okozott, a többi genotípusnál a CMV-ScL általában súlyosabb levélmorfológiai változást idézett elő.

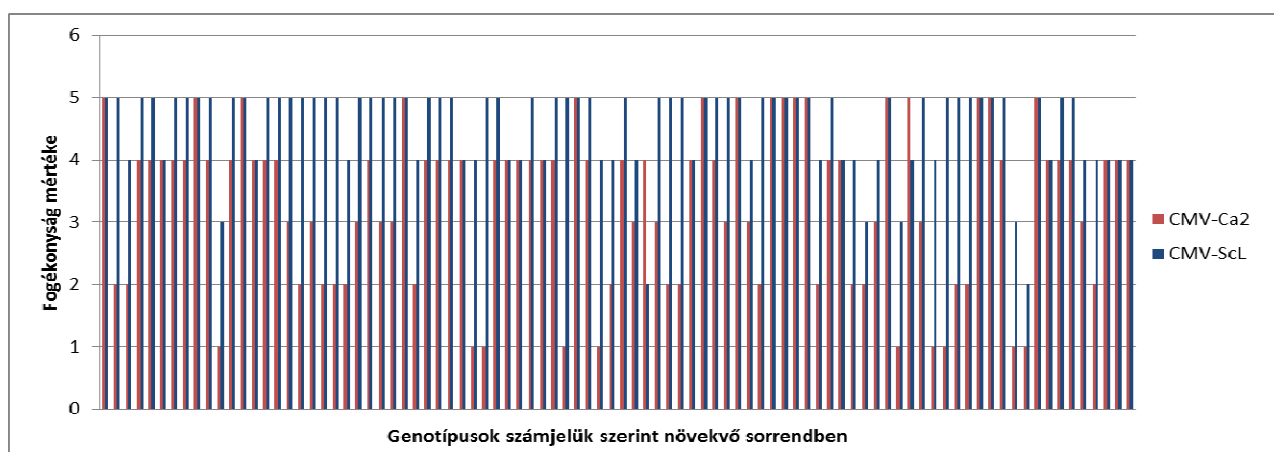
A betegségindexek alapján számított fogékonysági kategóriákat tekintve nem találtunk olyan fajtát, melyet a CMV-ScL izolátum ne károsított volna (14. ábra). Nem fordult elő olyan fajta sem, melyen ez az izolátum csak nagyon enyhe megbetegedést okozott volna. A CMV-ScL izolátum kimagaslóan sok genotípuson (a vizsgált genotípusok 63%-án) nagyon

súlyos megbetegedést idézett elő. A CMV-Ca2 izolátum esetén ez csupán 18% volt. A genotípusok 1/3-át (30%) a CMV-ScL izolátum súlyosan károsította, míg a maradék 6 genotípus az enyhén és közepesen fogékony kategóriákba esett.



14. ábra: CMV-Ca2 és CMV-ScL fertőzés hatására különböző fogékonysági kategóriákba sorolt fajták és hibridek száma

Az egyes genotípusokon a CMV-ScL izolátum legalább olyan súlyos (27 esetben azonos, 61 esetben súlyosabb) tüneteket okozott, mint a CMV-Ca2 izolátum. Kivételt csak 2 paprika genotípus (a 154-es és a 192-es számú fajta) jelentett, melyeken a CMV-Ca2 izolátum okozott súlyosabb tüneteket (15. ábra). Az egyes fajták sorszáma a CMV-ScL törzsre való fogékonyságát kategóriánként a **MELLÉKLET 13. táblázatában** tüntettük fel.

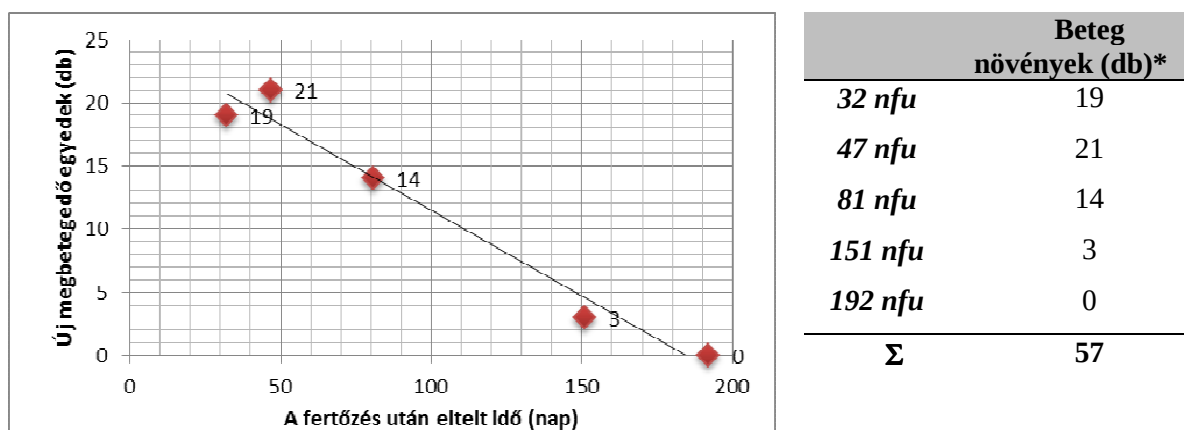


15. ábra: A különböző paprika genotípusok fogékonysága a CMV-Ca2 és CMV-ScL fertőzésekre

4.3 Rezisztencia vizsgálatok és szelekciók a VTK paprika populációkban

Az MBK-ban fenntartott 12 Távol-keleti VTK genotípus S_1 utódpopulációiban jellemző volt, hogy a tünetek egyes növényeken hamarabb, másokon később alakultak ki. Általában megfigyelhető volt, hogy a betegségtünetekkel reagáló VTK növényeken a CMV-Ca2 izolátum által okozott tünetek lassabban alakultak ki, mint a közismerten fogékony Fehérözön fajtán.

Az S_1 populációk 101 növényéből összesen 57 egyeden alakultak ki tünetek. Az inokulációt követő 32. napon még csak 19, a 47. napon 21, a 81. napon újabb 14, és végül a fertőzés utáni 151. napon további 3 növény mutatott szisztémikus tünetet (16. ábra). A fertőzés után 192 nappal, valamint ezt követően már nem találtunk újabb beteg egyedeket.



16. ábra: A VTK S_1 populációk újonnan megbetegedő egyedeinek száma a fertőzés után eltelt idő függvényében

nfu = napok a fertőzés után

*= az adott időpontban újonnan megjelenő (korábbi értékelések során tünetmentes) beteg egyedek száma

Az S_1 populációk között nem találtunk olyan vonalat, melynek minden egyede rezisztens lett volna. A vonalak ugyanakkor nem azonos arányban

tartalmaztak beteg és tünetmentes egyedeket. A tünetmentes növények aránya vonalanként 12,5 % és 87,5 % között változott (7. táblázat). A legnagyobb arányban a VTK-8 vonalban fordultak elő rezisztens egyedek. Viszonylag nagy (50%-os, vagy annál nagyobb) arányban voltak jelen rezisztens egyedek a VTK-2; VTK-10; VTK-11 és VTK-13-as vonalakban is.

7. táblázat CMV-Ca2 izolátummal inokulált VTK S₁ populációk szegregációja tünetmentes és beteg egyedekre

VTK S ₁ vonalak sorszáma	Inokulált növények (db)	Tünetmentes növények (db)	Beteg növények (db)	Tünetmentes növények %
VTK-1	6	1	5	16,67%
VTK-2	6	3	3	50,00%
VTK-4	6	2	4	33,33%
VTK-5	11	4	7	36,36%
VTK-6	6	2	4	33,33%
VTK-7	8	1	7	12,50%
VTK-8	8	7	1	87,50%
VTK-10	8	4	4	50,00%
VTK-11	3	2	1	66,67%
VTK-12	8	2	6	25,00%
VTK-13	21	13	8	61,90%
VTK-14	10	3	7	30,00%
Σ	101	44	57	43,56%

Az S₁ növények öntermékenyített egyedeinek utódaiból S₂ vonalakat hozunk létre, melyek közül a dolgozat megírásáig 16 vonalat teszteltünk. A vonalak, hasonlóan a szülőpopulációkhoz, nem egységesen fertőződtek. Az első tüneti értékelés időpontjában (a fertőzés után 20 nappal) 16 vonal közül 9 vonalnak egyetlen egyede sem mutatott tünetet (**8. táblázat**).

8. táblázat: VTK S₂ utódpopulációk szegregációja 20 nappal az 1. fertőzés után

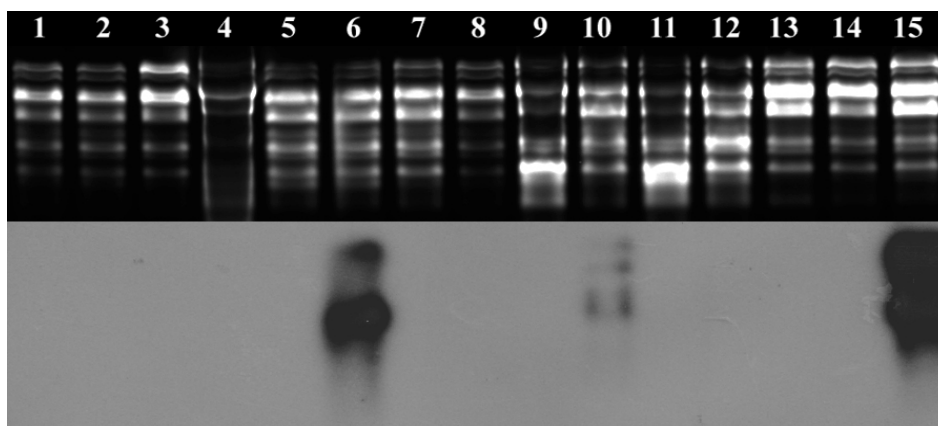
VTK S ₂ vonalak sorszáma	Inokulált növények (db)	Tünetmentes növények (db)	Beteg növények (db)
VTK 2/1	16	16	0
VTK 2/2	15	10	5
VTK 5/1	14	14	0
VTK 6/1	17	17	0
VTK 7/1	15	12	3
VTK 8/1	10	10	0
VTK 8/2	16	16	0
VTK 10/1	18	18	0
VTK 11/1	19	15	4
VTK 11/2	11	6	5
VTK 12/1	21	12	8
VTK 13/1	18	18	0
VTK 13/2	18	18	0
VTK 13/3	15	14	1
VTK 14/1	18	16	2
VTK 14/2	14	14	0
Σ	255	227	28

Ezeket a vonalakat kiemeltük és az egyes vonalak 12-12 egyedét az első két-három levélemelet fölött dekapitáltuk, majd a CMV-Ca2 izolátummal ismét fertőztük. 18 nappal a második fertőzés után még nem találtunk újabb fogékony töveket, de 8 nappal később 4 növényen mozaikfoltosság alakult ki. Ezek 3 különböző vonalhoz tartoztak. A három vonalat felszámoltuk, így 6 potenciálisan rezisztens vonal maradt (**9. táblázat**).

9. táblázat VTK S2 utódpopulációk szegregációja 26 nappal az 2. fertőzés után

VTK S2 vonalak sorszáma	Inokulált növények (db)	Tünetmentes növények (db)	Beteg növények (db)
VTK 2/1	12	12	0
VTK 5/1	12	11	1
VTK 6/1	12	10	2
VTK 8/1	12	12	0
VTK 8/2	12	12	0
VTK 10/1	12	12	0
VTK 13/1	12	12	0
VTK 13/2	12	12	0
VTK 14/2	12	11	1
Σ	108	104	4

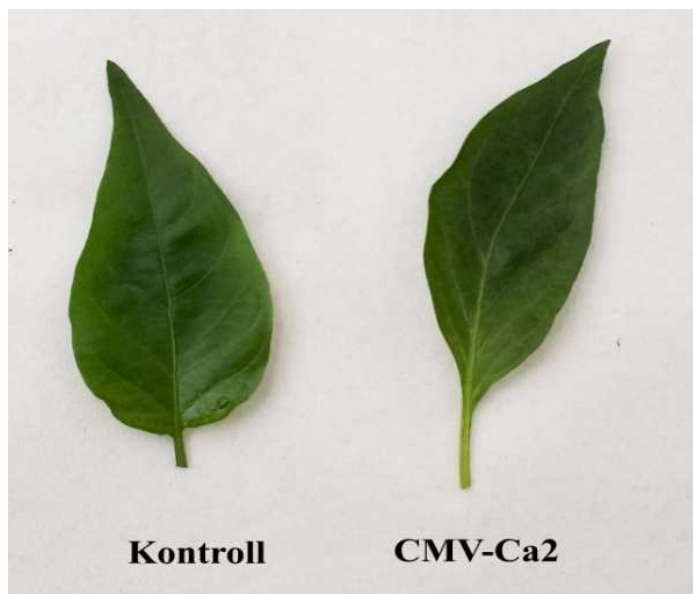
Tekintettel arra, hogy korábban a VTK-8 S₁ vonal rendelkezett a legnagyobb arányban rezisztens egyedekkel, northern hibridizációs módszerrel vizsgáltuk a VTK 8/2-es S₂ vonal egyedeinek CMV fertőzöttségét, melyek a mintavétel időpontjában (a 2. fertőzés után 43 nappal) még tünetmentesek voltak. Northern hibridizációs módszerrel azonban 2 paprikából mutattunk ki CMV RNS-t, egyiknél nagyobb, másiknál kisebb mennyiségben (**17. ábra**). A gélt a felvitt minták nukleinsav koncentráció különbségei miatt nem tartottuk alkalmasnak mennyiségi elemzésre.



17. ábra: VTK 8/2 vonal CMV fertőzöttségének vizsgálata northern hibridizációval

1 = Vissza nem vágott fertőzetlen kontroll; **2** = Visszavágott fertőzetlen kontroll; **3-14** = VTK 8/2 vonal visszavágott inokulált egyedei; **15** = CMV-Ca2-vel fertőzött fogékony kontroll

A VTK S₂ utódnövényeken megjelenő tünetek nem bizonyultak olyan súlyosnak, mint a párhuzamosan vizsgált hazai genotípusok többségén. A törpülés később alakult ki, mint a fogékony fajtákon és a leveleken csak halványzöld mozaikfoltosság volt megfigyelhető (**18. ábra**).



18. ábra: CMV-Ca2 által okozott mozaik és elkeskenyedés a VTK paprika levelén

4.4 VTK és Pal F₂ szülőktől származó F₁ hibridpopulációk vizsgálata

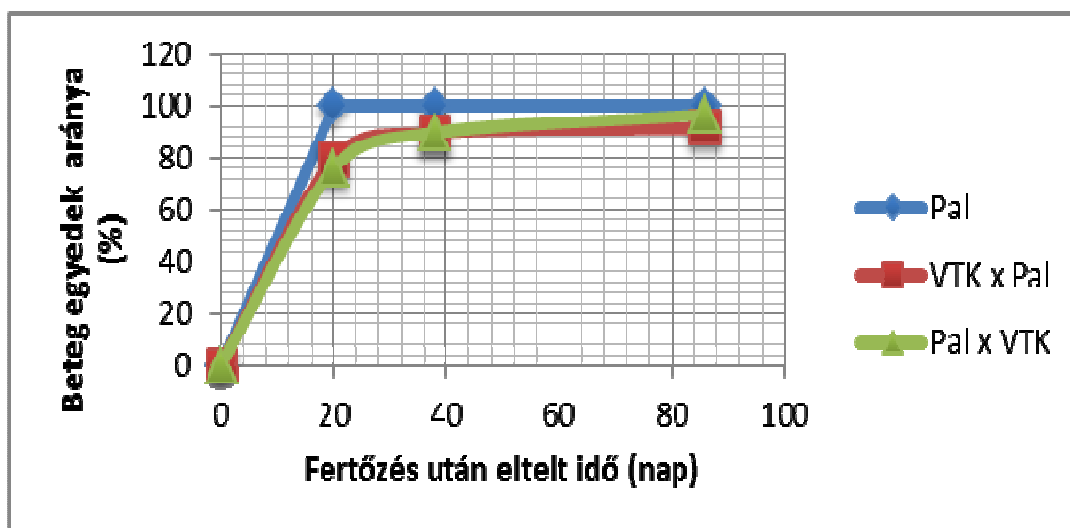
A VTK S₁ anyanövények és a Pal F₂ nemzedék növényei között mindkét irányban elvégzett keresztezésekből származó F₁ hibrideket, és a Pal F₂ növények öntermékeny utódait a CMV-Ca2 izolátummal inokuláltuk szikleveles korban. A Pal F₂ nemzedék minden egyedének utódnövényeit (Pal F₃ egyedek) egységesen fogékonnak találtuk (a teljes populációt tekintve). A VTK S₁ és Pal F₂ szülők F₁ nemzedékének fertőzött egyedeit először a fertőzés után 20 nappal értékeltük. Ekkor a hibridpopulációk egyedeinek többségén (összesen 102 növényen) már a CMV-re jellemző tüneteket tapasztaltunk (**10. táblázat**). Megfigyeltük, hogy ezeken a hibrideken a tünetek néhány nappal később jelentek meg, mint a Pal F₂ öntermékeny utódállományán. A tünetmentesnek bizonyult 26 paprikát az első értékelés után 16 nappal is megvizsgáltuk. Ekkorra újabb 14 növény betegedett meg. A tünetmentes egyedeket tovább értékelve (a fertőzés után 85 nappal) újabb 5 beteg növényre figyeltünk fel (**10. táblázat**). Az összesen 116 vizsgált F₁ hibrid közül 7 maradt tünetmentes.

A különböző VTK egyedek Pal F₂-vel alkotott hibridjeit külön vonalként értékeltük (10. táblázat).

10. táblázat: VTK és Pal hibridek F₁ nemzedékének megbetegedése CMV fertőzés után

Vizsgált genotípusok	Inokulált növények (db)	Beteg növények száma (db)*		
		20 nfu	38 nfu	86 nfu
Pal x VTK 13/3	10	8	10	10
Pal x VTK 13/2	18	13	16	18
Pal x VTK 1/1	13	11	12	12
Pal x VTK 2/1	17	12	14	16
Beteg növények (%)		75,9%	89,7%	96,6%
VTK 5/1 x Pal	16	13	15	15
VTK 1/1 x Pal	15	12	14	14
VTK 12/1 x Pal	16	14	14	14
VTK 6/1x Pal	11	7	9	10
Beteg növények (%)		79,3%	89,7%	91,4%
Pal kontroll összes	82	82	82	82
		100,00%	100,00%	100,00%

A beteg F₁ növények százalékos arányának összehasonlítása a fertőzés után eltelt idő függvényében azt mutatta, hogy apai vagy anyai hatás a rezisztencia öröklődésében nem állapítható meg (19. ábra).

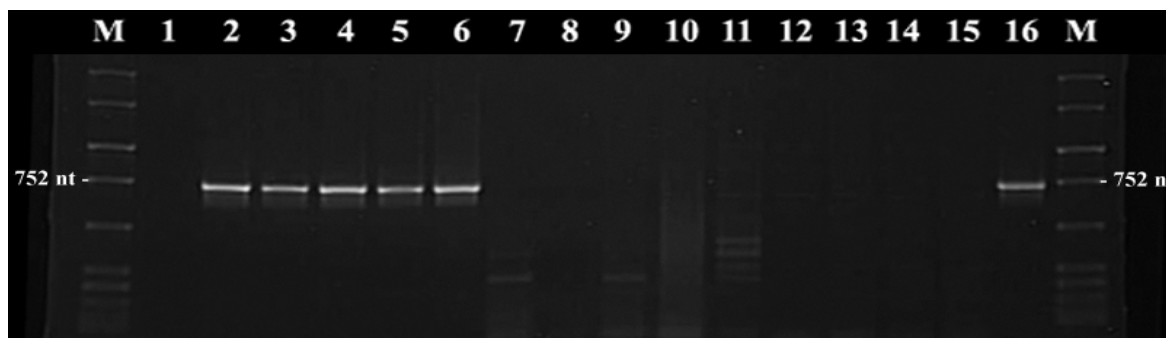


19. ábra: A VTK x Pal F₂ és Pal F₂ x VTK populációk beteg egyedeinek %-os aránya a fertőzés után eltelt idő függvényében

4. 5 Magátviteli kísérletek

A CMV-G08 izolátummal fertőzött 'Start' és 'SynCecei' növények öntermékeny bogyóinak, fertőzöttségét PCR vizsgálattal tanulmányoztuk. Megállapítottuk, hogy a CMV a bogyók húsából, a magot tartó placentából, valamint a frissen kipreparált magokból egyaránt kimutatható volt (**20. ábra**). A magok nem voltak deformáltak. Eredményeink alátámasztották SUTIC et al.(1959), TÓBIÁS és MOLNÁR (1978), valamint más kutatók munkáját, melynek során a bogyóhúsból izoláltak CMV-t, és a magok deformációját nem tapasztalták. A fertőtlenített magokat ALI és KOBAYASHI (2010) vizsgálataihoz hasonlóan szintén vírusfertőzöttnek találtuk.

A különböző kezelések után (eltérő idejű tárolás, felületi sterilizálás, táptalajra vetés) a magokról kelő szikleveles növények betegségi tüneteket nem mutattak TÓBIÁS (1978) eredményeihez hasonlóan, de ALI és KOBAYASHI eredményeivel ellentétben minden növény (összesen 314) a PCR vizsgálatok alapján vírusmentesnek bizonyult (**20. ábra, 11. táblázat**). Az üvegházban tovább nevelt növények a dolgozat megírásáig (8-10 leveles korig) tünetmentesen fejlődtek.



20. ábra: A CMV kimutatása paprikamintákból PCR vizsgálattal

M = DNS marker, **1** = fertőzetlen levélkontroll, **2, 16** = pozitív levélkontroll; **3** = bogyóhús, **4** = placenta; **5,6**= frissen preparált magok, **7-10**= sterilizált magról kelő 'Start' szikleveles növények, **11-15**= sterilizált magról kelő 'SynCecei' szikleveles növények

11. táblázat: Különböző módon kezelt magokból származó, PCR-rel vizsgált szikleveles növények száma.

Megkezelés		Növényszám (db)	
Sterilizálás	Száritás időtartama	'Start'	'SynCecei'
Nem sterilizett, talajra vetett	21 nap	22	20
	3 nap	50	65
	0 nap	40	-
Sterilizett, táptalajra vetett	21 nap	23	17
	3 nap	51	26
Σ		186	128

5. ÉRTÉKELÉSEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

5.1 Magyar fajtákon és hibrideken végzett vizsgálatok

A köztermesztésben lévő magyar paprika genotípusok fiatalkori CMV fertőzéssel szembeni ellenállóságára vonatkozó ismeretek hazánkban hiányosak. Ez indokolta, hogy ilyen irányú kutatómunkát végezzünk a Magyarországon bejegyzett paprikafajták és hibridek lehető legszélesebb körében. Igyekeztünk választ találni arra, hogy van-e a magyar paprikafajták között CMV- fertőzéssel szemben ellenálló genotípus, melyet fajtanemesítésben rezisztenciaforrásként lehet használni. Azt is felmértük, hogy a fogékony genotípusok esetén a CMV fertőzés mennyire károsítja a növényeket. A fajták és hibridek esetleges ellenállóságának bizonyítására a fertőzés korai körülményeit vettük alapul. Ennek oka, hogy több tanulmány szerint ha „korrezisztens” paprikafajták, fiatal korban fertőződnek, a fogékony paprikafajtákhoz hasonlóan károsodhatnak (ZATYKÓ & TÓBIÁS 1987; GARCIA-RUIZ & MURPHY 2001). Arra is igyekeztünk fényt deríteni, hogy a hazai paprikafajtákon a CMV fertőzés mely tünettípusai és azoknak mely súlyossági fokozatai a legjellemzőbbek.

Azt is vizsgáltuk, hogy az előbbi megfigyeléseket, egy Magyarországon izolált kevésbé gyakori Sg-II alcsoportba vírustörzs (SALAMON et al. 2012) mennyire módosíthatja, illetve, mennyire különbözik a virulenciája az előzőekben használt vírustörzstől. Az utóbbi években kialakult enyhe telek, a klímaváltozás és az átlaghőmérséklet növekedése az ilyen jellegű törzsek elszaporodását elősegítik.

A paprikafajták korai fogékonyágának pontos megítélésére és összehasonlítására más problémák esetén alkalmazott módszerekkel analóg, számszerűsített módszert dolgozunk ki. A számszerű értékek által könnyebbé vált a különböző tünettípusok összevetése a teljes fajtaszortimentre való tekintettel, valamint lehetővé vált a különböző típusú és súlyosságú tünetek adott genotípuson belüli együttes értékelése.

A hazánkban gyakori CMV-Ca2 vírustörzsszel szemben az összes Magyarországon bejegyzett paprikafajta 94%-ának, összesen 210 fajta fogékonyágát vizsgáltuk meg. Megállapítottuk, hogy mindhárom tünettípust (törpülés, mozaikosodás, levéldeformáció) figyelembe véve a fertőzés után 20 nappal nem volt olyan Magyarországon köztermesztésben lévő paprikafajta, vagy hibrid, amelyen a korai CMV fertőzés tünetei ne jelentek volna meg. Ennek oka lehet, hogy a szikleveles korú növények reagálnak a fertőzésre a legérzékenyebben, ahogy azt korábban ZATYKÓ és TÓBIÁS (1987), valamint GARCIA-RUIZ és MURPHY (2001) is megállapította. Eredményeinkkel összhangban az irodalmi adatok szerint

is ritka a szikleveles korban végzett fertőzésnek ellenálló fajta. REDDICK és HABERA (2004) a szikleveles korú növények fertőzése után 250 genotípus közt sem talált CMV-vel szemben rezisztens fajtát. Ezzel szemben szikleveles korban végzett fertőzés után JIEUN et al. (2013) 2 amerikai és 1 koreai fajta rezisztenciáját állapította meg.

A fogékony magyar fajták között kiugróan magasnak találtuk a közepesen károsodott genotípusok arányát. A szélsőségek (nagyon enyhén valamint extrém fogékony kategóriák) gyakorisága kisebb volt. Feltűnő volt, hogy a fertőzés a CMV-re nem jellemzően 2 genotípus (a 88-as és a 121-es) pusztulását okozta.

Az egyes tünettípusokat külön is vizsgáltuk. Mindhárom tünettípusnál jellemző volt az enyhe és a közepes kategóriák kimagasló aránya. Közepes és súlyos törpülés a vizsgált genotípusok esetén 68,6%-kal nagyobb arányban fordult elő, mint a szélsőségek (tünetmentes, és súlyos tünettellel rendelkező genotípusok). A középső értékek nagy aránya méginkább jellemző volt a levélmozaikosodásra. Ez esetben az enyhe és közepes kategóriák 76,6%-kal képviseltek nagyobb arányt, mint a tünetmentes és súlyosan mozaikos levelű genotípusok együttvéve. Eredményeim megfelelnek MURPHY (2013) megfigyeléseinek, miszerint leginkább az általam leírt enyhe törpülésnek és enyhe mozaik levéltüneti kategóriáknak megfelelő tünetekre lehet számítani. TÓBIÁS et al. (1978) szintén fajtánként eltérő mértékű növekedésbeli visszamaradást, valamint eltérő súlyosságú levélmorfológiai elváltozást figyelt meg. A paprikákat legkevésbé a levéldeformáció sújtotta. A levéldeformáció tünettípus esetén jóval magasabb arányban fordultak elő normál kategóriába tartozó genotípusok, mint a többi tünettípus esetén (a normál levélszínnel rendelkezőknél 11,4%-kal, a nem törpülteknél 14,3%-kal nagyobb arányban). Ennek oka az lehet, hogy fertőzött paprikákon a többi tünettípusnál lassabban alakul ki a levéldeformáció (MURPHY 2013).

A vizsgált genotípusok közül 90-et használtunk fel a CMV-Ca2 és CMV-ScL vírustörzsek virulenciájának összehasonlítására. A két törzs között a növekedésben okozott károk mértéke egyezett a leginkább, de a korreláció itt is csak 36%-os volt. Az egyes súlyossági kategóriákba azonban szinte azonos számú genotípus tartozott, de a két vírustörzs által okozott törpülés mértéke nem függött egy genotípusokon belül. Ez azt mutatja, hogy a törpülés kialakulása rendkívül fajtafüggő. Eredményeink szerint a levélmorfológiát érintő változások hamarabb, és súlyosabb mértékben jelennek meg a CMV-ScL izolátummal fertőzött növényeken, SALAMON et al. (2012) kutatásaival összhangban. Megállapítottuk, SALAMON et al. (2012) eredményeit alátámasztva, miszerint a CMV-ScL izolátum a *Solanaceae* fajokon általában súlyos mozaikosodást és levéllekeskenyedést okoz.

Vizsgálataink alapján arra következtettünk, hogy a CMV-ScL virulenciája paprikán jóval nagyobb, mint a tipikus CMV tüneteket előidéző CMV-Ca2. Ennek oka feltehetőleg a CMV-ScL izolátum különösen erős scilencing szuppresszora (SALAMON szóbeli közlés).

A fenti kísérletek eredményei alapján arra a következtetünk, hogy a vizsgált magyar fajták és hibridek nem rendelkeznek magas szintű rezisztenciával a CMV egyik alcsoportjához tartozó vírustörzzsel szemben sem. A fertőzés lehetősége ugyanakkor folyamatosan fenyegeti főként a szabadföldi paprikaállományokat. A CMV járványok elleni védekezésére ezért ellenálló fajták létrehozásával kell felkészülni.

5.2 Rezisztencia vizsgálatok és szelekciók a VTK populációkban

Egy vietnámi származású paprika genotípus CMV rezisztens származékát korábban már felhasználták, a nemesítésben (SALAMON et al. 2005). Munkánkban hasonló eredetű, de a rezisztencia szempontjából részletesebben még nem vizsgált, VTK jelzésű vonalakat használtunk fel. A fertőzések után 12 VTK S₁ vonalról megállapítottuk, hogy populációik fogékony és rezisztens egyedekre hasadnak. A rezisztens egyedek egy részének utódait kétszeri fertőzéssel teszteltük, és 6 vonalat találtunk, melynek eddig minden egyede tünetmentes. A vonalak tünetmentessége azonban nem jelent vírusmentességet, egyes egyedek fertőzöttségét northern vizsgálattal mutattuk ki.

A VTK S₁ és S₂ populációkban egyaránt megfigyeltük, hogy a fogékony egyedek a közismerten fogékony fajtáktól eltérően viselkedtek. Az egyes paprikanövények megbetegedési idejének különbözősége, valamint a hiperszenzitív reakcióra utaló nekrotikus léziók hiánya alapján következtethetünk arra, hogy a VTK vonalakban a rezisztencia a vírus növényben belüli hosszútávú mozgásának gátlásából adódhat, hasonlóan a 'Vania', 'Milford', és 'Perennial' fajtákhoz (CARANTA 2002, WANG & BOSTLAND 2006). A VTK jelű növények rezisztenciájának feltételezett jellegét az is alátámasztja, hogy a CMV fertőzés hatására a VTK és Pal F₂ hibridek viselkedése a Pal F₂ öntermékeny utódaitól különbözött. A VTK szülőkhöz és annak utódaihoz hasonlóan a hibrid vonalak egyedein a tünetek nem azonos időpontban tűntek fel. Az újonnan megjelenő beteg egyedek száma a VTK vonalakhoz hasonlóan csökkenő tendenciát mutatott. A hibridek a Pal F₂ szülőkhöz viszonyított toleránsabb viselkedése arra utalhat, hogy a tulajdonság több génnel, kvantitatív jellegűen öröklődhet, több paprika genotípus CMV rezisztenciájához hasonlóan. Mennyiségi öröklődésű a 'Vania', 'Milford', 'Perennial' fajták és a *Capsicum annuum* 'BJ0747-1-3-1-1' rezisztenciája is (CARANTA et al. 2002, WANG & BOSTLAND 2006, YAO et al. 2013).

A hibridek nagy arányú megbetegedéséből feltételezhető, hogy a rezisztencia öröklődését meghatározó fő gén vagy gének recesszívek. Valószínűsítjük, hogy minor gének is szerepet játszanak a folyamatban, abból ítélve, hogy a hibrid vonalakon a tünetek később, és időben nem egységesen jelentek meg, NONO WONDIM et al. (1993a,b), GUBE et al. (2000) által meghatározott rezisztenciákhoz hasonlóan.

A rezisztencia géneinek meghatározása azonban csak a beltenyésztett homozigóta vonalak létrehozása után válik lehetségessé. Tiszta homozigóta vonalak előállításához további öntermékenyítésekre, és vizsgálatokra van szükség.

A fertőzöttség gyorsabb meghatározása érdekében érdemes lehet a vírushatást molekuláris módszerekkel vizsgálni.

5.3 Magátviteli kísérletek

A vírusok elleni védekezés egyik alapvető követelménye a vírusmentes szaporítóanyag biztosítása. A magátvitel döntő szerepet játszhat a vírusok áttelelésében és az beteg magokról származó növényi fertőzés elsődleges forrásai lehetnek. Kísérleteinkben arra kerestük a választ, hogy a CMV átvihető-e paprikamaggal.

A CMV-G08 vírustörzsszel fertőzött 'Start' és 'SynCecei' paprikákkal végzett magátviteli kísérleteinkben a fertőzött bogyóhúsban, a placentában TÓBIÁS et al. (1978) eredményeihez hasonlóan a vírust kimutattuk. A frissen preparált magból a vártak megfelelően a vírust szintén kimutattuk. Ezt nem csak a vírus magon belüli jelenléte, hanem a húsból a magra került vírusos szövetnedv is okozhatta. Ennek elkerülésére a magokat szárítottuk és sterilizáltuk. Ezekben a magokban a vírust szintén kimutattuk ALI és KOBAYASHIHOZ (2010) hasonlóan. Velük ellentétben azonban a 314 db szikleveles növényekből nem tudtuk kimutatni, függetlenül a mag kezelésének módjától. Eredményeim nem támasztották alá ALI és KOBAYASI (2010) vizsgálatainak eredményeit, miszerint a CMV paprikamaggal is terjed. Ennek több oka is lehet: tulajdonítható a fajták vagy az izolátumok különbözőségének maggal történő átvihetőség lehet izolátumspecifikus. A vizsgálatokat hazai fajtákon végeztük, míg Ali és Kobayasi amerikai fajtákat használt, így az is előfordulhat, hogy a vizsgált fajták magátvitel tekintetében eltérően viselkednek. Eredményeink különbözősége abból is adódhat, hogy munkánkban a vizsgálatokhoz eltérő primereket használtunk.

A magátviteli kísérleteket a fentiek miatt más vírustörzsek és más fajták használatával és nagyobb növény számmal további vizsgálatokra érdemesnek tartjuk.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

A paprika a világ egyik legfontosabb zöldségnövénye, többek között Magyarországon is kultikus jelentőségű népelelmezési cikk. Termésmennyiségét minden földrészen számottevően korlátozza az uborka mozaik vírus (CMV), melyet a virológusok 2011-ben a 4. legjelentősebb növényi vírusnak ítélték meg. A CMV elleni védekezés alapvető követelménye a vírusmentes szaporítóanyag biztosítása, leghatékonyabb módja rezisztens fajták termesztése.

Kutatásaink célja ezért az volt, hogy a magyar paprikafajták CMV ellenállóságának tulajdonságait megismerjük, rezisztencia-nemesítéshez felhasználható forrást keressünk, illetve a CMV paprika vetőmaggal történő átvihetőségét tanulmányozzuk.

Megvizsgáltuk 210 Magyarországon elismert paprikafajta viselkedését a Sg-I patológiai csoportba tartozó CMV-Ca2 izolátummal szemben, ezek közül 90 fajtát a Sg-II patológiai csoportba tartozó CMV-ScL izolátummal szemben is. Megállapítottuk, hogy a vizsgált fajták 100%-a fogékony, és a Sg-I alcsoportba tartozó izolátum esetén a fogékonyság súlyossága normál eloszlású. Megfigyeltük továbbá a Sg-II alcsoportba tartozó vírustörzs a különböző genotípusokon jóval súlyosabban károsított. Levontuk azt a következtetést, hogy a magyar fajták CMV elleni rezisztencianemesítésben nem használhatók. Továbbá javasoljuk minkét Sg vírustörzseinek felhasználását a rezisztencianemesítési tesztek során, a két alcsoport eltérő virulenciája miatt.

Lehetséges rezisztencia forrásként a NAIK MBK-ban fenntartott, vietnámi eredetű (VTK) chili paprika típus 12 anyanövényének utódpopulációit vizsgáltuk. Összesen 101 inokulált növényből 44 tünetmentes maradt, de egységesen rezisztens vonalakat nem találtunk. A tünetmentes növények közül vonalak kialakításához eddig 16 növény utódainak fertőzését végeztük el, és 6 olyan populációt találtunk, melynek egyedei két vírusinokuláció után nem mutattak tüneteket. Egy vonal fertőzöttségét northern vizsgálatokkal ellenőriztük, és két tünetmentes egyedből a vírus jelenétét ki mutattunk. A vonalak rezisztenciájának jellemzésére további tüneti értékeléseket és a tünetmentes egyedek fertőzöttségének molekuláris módszerekkel történő ellenőrzését javasoljuk.

A magátvitel tanulmányozásához a CMV-G08 izolátummal (Sg-I) fertőzött növényekről gyűjtöttünk beteg bogyókat. A vírus jelenlétét PCR módszerrel kimutattuk a bogyóhúsban, a frissen preparált és a sterilizált magban, de nem tudtuk kimutatni 314 db magból fertőzött magból kikelt szikleves korú növényből. A növények PCR vizsgálatának eredményei eltérnek az irodalmi adatoktól. Az eltérés okainak feltárása további PCR vizsgálatokat igényel.

7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetet mondok külső témavezetőmnek, Dr. Salamon Pálnak a kísérletek tervezésében és értékelésében nyújtott szakmai tanácsaiért, javaslataiért és a konzultációk során rám szánt időért.

Köszönettel tartozom belső témavezetőmnek Dr. Kiss Erzsébetnek, aki rugalmasságával és hasznos tanácsaival segítette kísérleteim elvégzését.

Köszönet illeti a Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóintézet Növénygenomikai és Növény-mikroba Interakciós Csoportot, és a Növényi Fejlődésbiológia Csoport tagjait. Külön köszönet Dr. Dalmádi Ágnesnek, aki a northern blot vizsgálatokban nyújtott segítséget, valamint Dr. Várallyay Évának, aki a vizsgálatok elvégzésének lehetőségét, illetve a northern vizsgálatokhoz használt próbát biztosította.

Köszönöm Dr. Salánki Katalinnak, hogy lehetőséget biztosított laboratóriumában a PCR vizsgálatok elvégzéséhez. Köszönetet mondok még Nemes Katalinnak a PCR vizsgálatok kivitelezésében és az eredmények elemzésében nyújtott segítségéért.

Köszönöm a NÉBIH Növénytermesztési és Kertészeti Igazgatóságának együttműködését, hogy biztosította a Magyarországon bejegyzett fajták vetőmagjait a kísérleteimhez.

Végül, de nem utolsó sorban, szeretnék köszönetet mondani az MBK üvegházi dolgozóinak, a növények nevelésében és fenntartásában nyújtott segítségükért.

8. IRODALOMJEGYZÉK

- ABDALLA O., DESJARDINS P. & DODDS J. (1991): Identification, disease incidence, and distribution of viruses infecting peppers in California. - *Plant Disease*, 75(10):1019-1023.
- ADAMS I. P., GLOVER R. H., MONGER, W. A., MUMFORD R., JACKEVICIENE, E., NAVALINSKIENE, M., SAMUITIENE, M. & BOONHAM N. (2009): Next-generation sequencing and metagenomic analysis: A universal diagnostic tool in plant virology. - *Molecular Plant Pathology*, 10: 537–545.
- AKANDA A. M., TSUNO K., MAEDA T. & WAKIMOTO S. (1991): Cucumber Mosaic Virus in Bangladesh. - *Journal Of The Faculty Of Agriculture Kyushu University*, 35 (3,4): 151-159.
- ALI A. & KOBAYASHI M. (2010): Seed transmission of Cucumber mosaic virus in pepper. - *Journal of Virological Methods*, 163: 234–237.
- ANDERSON P. J., BOYCE P. M. & BALANCEHARD C. L. (1995): RNA4 Sequences of Cucumber Mosaic Virus Subgroups I and II.- *Gene*, 161: 293-294.
- ARGOS P. (1988): A sequence motif in many polymerases. - *Nucleic Acids Research*, 16: 9909-9916.
- ARIL-SOKMEN M., MENNAN H., SEVIK M.A. & ECEVIT O. (2005): Occurrence of viruses in field-grown pepper crops and some of their reservoir weed hosts in Samsun, Turkey. – *Phytoparasitica*, 33: 347–358.
- AROGUNDADE O., BALOGUN O S. & . KAREEM K. T. (2012): Occurrence and distribution of pepper veinal mottle virus and cucumber mosaic virus in pepper in Ibadan, Nigeria. – *Virology*, 9(1): 79-82.
- ASHFAQ M., IQBAL S., MUKHTAR T. & SHAH H. (2014): Screening for resistance to Cucumber mosaic cucumovirus in chilli pepper. - *Journal of Animal and Plant Sciences*, 24(3): 791–795.
- BARACSI É. (1999) : A biotesztek virológiai alkalmazása - A növény-vírus kapcsolat típusai; In: HORVÁTH J. & GÁBORJÁNYI R. (szerk.): *Növényvírusok és virológiai vizsgálati módszerek* Mezőgazda Kiadó, Budapest, 425 pp.: 139-141.
- BRIGNETI G., VOINET O., LI W.X.; JI L.H., DING S.W. & BAULCOMBE D.C.: (1998): Viral pathogenicity determinants are suppressors of transgene silencing in *Nicotiana benthamiana*. - *The EMBO Journal*; 17(22): 6739–6746.
- BUZKAN N., ARPACI B. B., SIMON V., FAKHFAKH H. & MOURY B. (2013): High prevalence of poleroviruses in field-grown pepper in Turkey and Tunisia. - *Arch Virol*. 158: 881–885.
- CANTO T. & PALUKAITIS P. (2001): A *Cucumber mosaic virus* (CMV) RNA 1 transgene mediates suppression of the homologous viral RNA 1 constitutively and prevents CMV entry into the phloem. – *Journal of Virology*, 75: 9114-9120.
- CARANTA C, PFLIEGER S., LEFEBVRE V., DAUBEZE A. M., THABUIS A. & PALLOIX A. (2002) QTLs involved in the restriction of cucumber mosaic virus (CMV) long-distance movement in pepper.- *Theoretical and Applied Genetics*, 104(4): 586-591
- CARRÈRE I., TEPFER M. & JACQUEMOND M. (1999): Recombinants of cucumber mosaic virus (CMV): determinants of host range and symptomatology. - *Archives of Virology*, 144: 365–379.
- CASTAGNOLI F., POLVERARI A. & MARTE M. (1997): Behaviour of an access in of *Capsicum baccatum* var. *pendulum* towards cucumber mosaic virus. - *Phytopathologia Mediterranea*, 36(3): 154–158.
- CHEN L.; SHANG Q. X.; CHEN X. Y.; XING D. M.; YANG R.; HAN C. G.; RAN C.; WEI Y. M.; ZHAO X. Y. & LIU Z. P: (2014): First report on the occurrence of Cucumber mosaic virus on *Fragaria ananassa* in China. - *Plant Disease* 98(7): 1015.
- DE WISPELAERE M., GAUBERT S., TROUILLOUD S., BELIN C. & TEPFER M. (2005): A map of the diversity of RNA3 recombinants appearing in plants infected with cucumber mosaic virus and tomato aspermy virus. – *Virology*, 331: 117–127.

- DING B., LI Q., NGUYEN L., PALUKAITIS P. & LUCAS W.J. (1995): *Cucumber mosaic virus* 3a protein potentiates cell-to-cell trafficking of CMV RNA in tobacco plants. - *Virology*, 207: 345-353.
- DING S.-W., ANDERSON B.J., HAASE H.R. & SYMONS R.H. (1994): New Overlapping Gene Encoded by the Cucumber Mosaic Virus Genome. - *Virology* 198: 593–601.
- DIVÉKI Z., SALÁNKI K. & BALÁZS E. (2004): The Necrotic Pathotype of the Cucumber mosaic virus (CMV) Ns Strain Is Solely Determined by Amino Acid 461 of the 1a Protein. - *Molecular Plant-Micobe Interactions*; 17(8): 837-845.
- DOOLITTLE S. P. & GILBET W. (1916): A nem mosaic disease of cucumber. – *Pathology*, 145-147.
- DRAGANAA P., ALEKSANDRAB B., IVANAB S., MAJAA I., MILKAA V. & BRANKAB K. (2010): - Presence and distribution of pepper viruses in Serbia. - *Ratarstvo i povrtarstvo*, 47(2): 567-576.
- DU Z., CHEN F., ZHAO Z., LIAO Q., PALUKAITIS P. & CHEN J. (2008): The 2b protein and the C-terminus of the 2a protein of Cucumber mosaic virus subgroup I strains both play a role in viral RNA accumulation and induction of symptoms. – *Virology*, 380:363–370.
- EDWARDSON J. R. & CHRISTINE R. G. (1986): Viruses infecting forage legumes Agricultural Experiment Stations. - *Monograph Series University of Florida* 1: 1-246.
- EDWARDSON J. R. & CHRISTIE, R. G. (1991): Cucumoviruses. In *CRC Handbook of Viruses Infecting Legumes*, CRC Press, Boca Raton, FL. pp. 293–319.
- FRANCKI R. I. B., RANDLES J. W., CHAMBERST T. C. & WILSON S. B. (1966): Some Properties of Purified Cucumber Mosaic Virus (Q Strain). – *Virology*, 28: 729-741.
- FRANCKI R. I. B., FAUQUET C.M., KNUDSON D.L., BROWN F. (1991): Classification and Nomenclature of Viruses, Fifth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. *Virology Division of the International Union of Microbiological Societies*
- GÁBORJÁNYI R. (1999): A vírusgenom szerveződése és a vírusok replikációja-Feltételezések a vírusok törzsfajlásáról In: HORVÁTH J.& GÁBORJÁNYI R. (szerk.) *Növényvírusok és virológiai vizsgálati módszerek*, Mezőgazda Kiadó, Budapest, pp. 237-240
- GALLITELLI D. (2000): The ecology of Cucumber mosaic virus and sustainable agriculture. - *Virus Research* 71: 9–21.
- GAL-ON A., KAPLAN I., ROOSSINCK M. J. & PALUKAITIS P. (1994): The Kinetics of Infection of Zucchini Squash by Cucumber Mosaic Virus Indicate a Function for RNA 1 in Virus Movement. – *Virology*, 205(1): 280–289
- GAL-ON A., KAPLAN I.B. & PALUKAITIS P. (1996): Characterisation of Cucumber mosaic virus II: Identification of movement protein sequences that influence its accumulation and systemic infection in tobacco. - *Virology*, 226: 354-361.
- GARCIA-RUIZ H. & MURPHY J. F. (2001): Age-related Resistance in Bell Pepper to Cucumber mosaic virus. - *Annals of Applied Biology*, 139(3): 307–317
- GILINGERNÉ P. M. & BÍRÓ L.(2008): A hazai zöldségfogyasztás elemzése az OLEF felmérés alapján: <http://www.mtt.hu/portal/downloads/tanulm/>
- GONDA T. J. & SYMONS R. H. (1979): Cucumber Mosaic Virus Replication in Cowpea Protoplasts: Time Course of Virus, Coat Protein and RNA Synthesis. - *Journal of general Virology*, 45: 723-736.
- GONSALVES D., PROVVIDENTI R. & EDWARDS M.C.: (1982): Tomato white leaf: The relation of an apparent satellite RNA and cucumber mosaic virus. - *Phytopathology* 72: 1533–1538.
- GOTO K., KOBORI T., KOSAKA Y., NATSUAKI T., MASUTA C. (2007): Characterization of Silencing Suppressor 2b of Cucumber Mosaic Virus Based on Examination of its Small RNA-Binding Abilities; - *Plant and Cell Physiology*, 48(7): 1050-1060.
- GRUBE R. C., ZHANG Y., MURPHY J. F., LOAIZA-FIGUEROA F., LACKNEY V. K., PROVVIDENTI R. & JAHN M. K. (2000): New source of resistance to Cucumber mosaic virus in *Capsicum frutescens*. - *Plant Disease*, 84(8): 885–891.

- HABILI N. & FRANCKI R. I. B. (1974): Comparative studies on tomato aspermy and cucumber mosaic viruses: Physical and chemical properties. – *Virology*, 57: 392-396.
- HAYES R. J. & BUCK K. W. (1990): Complete replication of a eukaryotic virus RNA in vitro by a purified RNA-dependent RNA polymerase. – *Cell*, 63: 363-368.
- HOBBS H. A., EASTBURN D. M., D'ARCY C. J., KINDHART J. D., MASIUNAS J. B., VOEGTLIN D. J., WEINZIERL, R. A. & MCCOPPIN, N. K. (2000): Solanaceous weeds as possible sources of Cucumber mosaic virus in southern Illinois for aphid transmission to pepper. – *Plant Disease* 84: 1221-1224.
- IQBAL S, ASHFAQ M, SHAW H, INAM-UL-HAQ M, AZIZ-UD-DIN. (2012): Prevalence and distribution of Cucumber Mosaic Virus (CMV) in major chilli growing areas of Pakistan. – *Pakistan Journal Of Botany*; 44(5):1749-1754.
- JACQUEMOND M. (2012): Chapter 13 - Cucumber Mosaic Virus. In GAD LOEBENSTEIN & HERVÉ LECOQ (Szerk.), *Advances in Virus Research*, Academic Press, Burlington: pp.: 439–504.
- JÄGGER I.C. (1916): Experiments with the cucumber mosaic disease, – *Pathology*, 6: 148-151
- JIEUN S., SHENGJUN X., JUNYOUNG K., JEHYEON W., HANGIL K., YONGJU P., SAEJIN H. & BYUNGSUP K. (2013): CMV-P1 resistance evaluation using enzyme-linked immunosorbent assay of pepper genetic sources (*Capsicum* spp.). – *Korean Journal of Horticultural Science & Technology*, 31(6): 764–771.
- KANG W.-H., HOANG N. H., YANG H.-B., KWON J.-K., JO S.-H., SEO J.-K., KIM H. K., CHOI D. & KANG B.-C. (2010): Molecular mapping and characterization of a single dominant gene controlling CMV resistance in peppers (*Capsicum annuum* L.). – *Theoretical and applied genetics*, 120(8): 1587–1596.
- KANG W.-H., SEO J.-K., CHUNG B. N., KIM K.-H. & KANG B.-C. (2012): Helicase domain encoded by Cucumber mosaic virus RNA1 determines systemic infection of Cmr1 in pepper. – *PloS one*, 7(8): e43136.
- KIM J.-S., LEE S.-H., CHOI H.-S., KIM M.-K., KWAK H.-R., KIM J.-S., CHOI G.-S. (2012): 2007-2011 Characteristics of Plant Virus Infections on Crop Samples Submitted from Agricultural Places- *Research in Plant Disease*, 18(4), 277–289.
- KOVACHEVSKY I. (1965): Krasztavicsna mozaicsna viroza v Bulgarija-Zemizdat
- KOVACHEVSKY J. (1940): Die Reisigkrankheit der Paprikapflanzen (*Capsicum anuum*). – *Zeitung der Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, 50: 298-350
- LAPIDOT M., BEN-JOSEPH R., PARAN I., BEN-HARUSH S., PILOWSKY M., SHIFRISS C. & COHEN S. (1997): Tolerance to cucumber mosaic virus in pepper: Development of advanced breeding lines and evaluation of virus level. – *Plant Disease*, 81(2): 185–188.
- LI Q., RYU K.H. & PALUKAITIS P. (2001): Cucumber mosaic virus–plant interactions: identification of 3a protein sequences affecting infectivity, cell-to-cell movement, and long-distance movement. – *Molecular Plant Microbe Interactions*, 14: 378–385.
- MARROU J., QUIOT J.B., MARCHOUX G. & DUTEIL M. (1975): Caracterisation par la symptomatologie de quatorze souches du virus de la mosaïque du concombre et de deux autres cucumovirus: tentative de classification. *Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen - Rijksuniversiteit Gent.*, 40: 107-121.
- MARTELLI G. P. & RUSSO M. (1985): Virus-host relationships. Symptomatological and ultrastructural aspects. In: Francki R.I. B. (ed.) *The Plant Viruses, Polyhedral Virions with Tripartite Genomes*, New York Plenum Press. pp. 163-205.
- MAZOUREK M., MORIARTY G., GLOS M., FINK M., KREITINGER M., HENDERSON E., PALMER G., CHICKERING A., RUMORE D.L. & KEAN D. (2009): “Peacework”: A cucumber mosaic virus-resistant early red bell pepper for organic systems. – *Horticultural Science* 44: 1464–1467.
- MIHAILOVA B., STOIMENOVA E., PETROV P. & STOYNOVA-BAKALOVA E. (2013): Movement of Cucumber Mosaic Virus in resistant pepper lines. – *Comptes Rendus de L’Academie Bulgare des Sciences* 66: 911–918.

- MIURA N.S.; BERAİM L. RIVAS E. B. (2013): Detection of Cucumber mosaic virus in commercial anthurium crops and genotypes evaluation. - *Horticultura Brasileira*, 31: 322-327.
- MOSSOP D.W. & FRANCKI R. I. B. (1978): Survival of satellite RNA in vivo and its dependence on Cucumber mosaic virus for replication. - *Virology*, 86: 562-566.
- MOURY B., & VERDIN E. (2012): Chapter 4 - Viruses of Pepper Crops in the Mediterranean Basin: A Remarkable Stasis. In Gad Loebenstein & HERVÉ LECOQ (ED.), *Advances in Virus Research Academic Press*, Burlington: pp.:127–162.
- MURPHY J. F. (2013): Tracking internode stunting in Cucumber mosaic virus infected of bell pepperplants. APS-MSA Join Meeting 2013 August 10-14; Texas p.140
- NARIKAWA T., HIDA K. & ZHANG B. (1987): Breeding sweet pepper resistant to cucumber mosaic virus. – *Capsicum Newsletter*, 6: 61-62.
- NITTA A., TAKANAMI Y., KUWATA S. & SUSUMU K. (1988): Inoculation with RNAs 1 and 2 of Cucumber mosaic virus induces viral RNA replicase activity in tobacco mesophyll protoplasts. - *Journal General Virology*, 69: 2695-2700.
- NONO-WOMDIM R., MARCHOUX G., POCHARD E., PALLOIX A. & SELASSIE K. (1991): Resistance of pepper lines to the movement of Cucumber mosaic virus. – *Journal of Phytopathology*, 132(1) 21-32.
- NONO-WOMDIM R., GEBERE-SELASSIE K., PALLOIX A., POCHARD E. & MACKOUX G. (1993a): Study of multiplication of cucumber mosaic virus in susceptible and resistant *Capsicum annuum* lines. – *Annals of Applied Biology*, 122(1) 49-56.
- NONO-WOMDIM R., PALLOIX A., GEBRE-SELASSIE K., & MARCHOUX G. (1993b): Partial Resistance of Bell Pepper to Cucumber Mosaic Virus Movement within Plants: Field Evaluation of its Efficiency in Southern France. - *Journal of Phytopathology*, 137: 125–132.
- OERKE, E.-C. (2006): Crop losses to pests. - *The Journal of Agricultural Science*, 144(1): 31–43.
- OWEN J. & PALUKAITIS P.(1988): Characterization of cucumber mosaic virus I. Molecular heterogeneity mapping of RNA 3 in eight CMV strains. – *Virology* 166: 459-502.
- OWEN J., SHINTAKU M L. F., AESCHLEMAN P., BEN TAHAR S. & PALUKAITIS P (1990): Nucleotide sequence and evolutionary relationships of cucumber mosaic virus (CMV) strains: CMV RNA3. - *Journal of General Virology*, 71: 2243-2249.
- PALUKAITIS P., ROOSSINCK M. J., DIETZGEN R. G. & FRANCKI, R. I. B. (1992): Cucumber Mosaic Virus. In MARAMOROSCH F. A. M. & KARL A. J. S. (ed.), *Advances in Virus Research*, Academic Press, 41, pp.: 281–348.
- PEDEN K. W. C. & SYMONS R. H. (1973): Cucumber Mosaic Virus Contains a Functionally Divided Genom. – *Virology*, 53: 487- 492.
- POCHARD E. (1977): Methodes pour la letude dela resistance partielle au virus du concombre chez le piment. In: *Capsicum* 77, C.R. 3e. Congr. Eucarpia sur la Genetique a la selection du Piment, Montfavet, France pp.: 93-104.
- POGUE G. P., MARSH L. E., CONNEL J. P. & HALL T. C. (1992): Requirement for ICR-like sequences in the replication of brome mosaic virus genomic RNA. – *Virology*, 188: 742-753.
- QUEMADA H. D., GONSALVES D. & SLIGHTOM J. L. (1991): Expression of coat protein gene from cucumber mosaic virus strain C in tobacco: protection against infections by CMV strains transmitted mechanically or by aphids. - *Phytopathology*, 81(7): 794–802.
- RABOUDI F., MOUSSA A., MAKNI H., MARRAKCHI M. & MAKNI M. (2002): Serological detection of plant viruses in their aphid vectors and host plants in Tunisia. - *EPPO Bulletin* 32(3): 495.
- RAJ S. K., KUMAR S. & SNEHI S. K: (2008): First Report of *Cucumber mosaic virus* on *Jatropha curcas* in India. - *Plant Disease*, 92(1): 171.
- REDDICK B. B. & HABERA L. F. (2004): New resistance to plant viruses. – *Capsicumand Eggpalnt Newsletter*. 109.-<http://www.chilepepperinstitute.org/content/files/capegg23.pdf>
- REZAIAN. A., WILLIAMS R. H. V. & SYMONS H. R. (1985): Nucleotide sequence of cucumber mosaic virus RNA1. - *European Journal of Biochemistry*, 150(6): 331 -339.

- ROOSSINCK M. J. & PALUKAITIS P. (1990): Rapid Induction and Severity of Symptoms in Zucchini Squash (*Cucurbita pepo*) Map to RNA1 of Cucumber Mosaic Virus. - *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 3(3): 188-192.
- ROOSSINCK M.J., ZHANG L. & HELLWALD K.H. (1999): Rearrangements in the 5' nontranslated region and phylogenetic analyses of *Cucumber mosaic virus* RNA 3 indicate radial evolution of three subgroups. – *Journal of Virology*, 73:6752-6758.
- SALAMON P., BENCZER L., MOLNÁR A. & DEZSÉRY M. (1980): Diagnosis of virusdiseases of pepper (*Capsicum annuum* L.). Abst. Conf. New Endeavours in Plant Protection. Budapest, Sept. 2-5, p. 96.
- SALAMON P., SZÜRKE J., DEZSÉRY M. (1982): Paprika sárga érmozaik (pepper yellow vein mosaic): egy ismeretlen eredetű újabb fertőző paprika betegség fellépése és elterjedése Magyarországon. *Növényvédelmi Tud. Napok 1982*. Budapest, 14
- SALAMON P., GAJDOS L., VARRÓ P., KISS L. & SALÁNKI K. (2005): Resistance of pepper (*Capsicum annuum* L.) genotypes to cucumber mosaic virus (CMV): characterization and introgression of the resistance to new pepper lines. 10. Tiszántúli Növényvédelmi Fórum, 18-20 October 2005, Debrecen, Hungary, pp.: 303-310.
- SALAMON P., HIRKA J., HORVÁTH J., JUHÁSZ Z., VARRÓ P., MILOTAY P. (2008): Late viral infections detected in forced pepper (*Capsicum annuum*) and tomato (*Solanum lycopersicum*) - symptoms in the fruits. 13. Tiszántúli Növényvédelmi Fórum, Debrecen, Hungary; 15-16 September 2008; Debreceni Egyetem; pp.: 59-65.
- SALAMON P. & VÁRALLYAY É. (2009): Szatellit RNS-t tartalmazó Uborka mozaik vírus (*Cucumber mosaic virus*, CMV) fertőzése paprikán.-*Növényvédelmi Tudományos Napok 2009.*, Budapest, 97 p.:33
- SALAMON P., NEMES K. & SALÁNKI K. (2012): An unusual subgroup II Cucumber mosaic virus strain isolated from *Scopolia carniolica* in Hungary.- *JOURNAL OF AGRICULTURAL SCIENCES*, Debrecen pp 111-114.
- SALAMON P., PALKOVICS L. & SALÁNKI K. (2014): Az Uborka mozaik vírus (*Cucumber mosaic virus*). – *Agrofórum*, 25(10): 33-38.
- SALÁNKI K. (2012): A Cucumovírusok kórtani változékonysága – Doktori értekezés; Gödöllő
- SAMBROOK J. & RUSSELL D. W. (2001): Molecular cloning - A laboratory manual 3. ed. Northern Blot Hybridisation Protocol, pp.: 7.42-7.44.
- SEO J. K., KWON S. J., CHOI H. S. & KIM K. H. (2009): Evidence for alternate states of Cucumber mosaic virus replicase assembly in positive- and negative-strand RNA synthesis. - *Virology*, 383: 248-260.
- SHINTAKU M. H., ZHANG L. & PALUKAITIS P. (1992): A single amino acid substitution in the coat protein of cucumber mosaic virus induces chlorosis in tobacco. - *The Plant Cell* 4(7): 751-757.
- SMITH K. M. (SZERK.). (1972): C-Cucumber mosaic virus: In *A Textbook of Plant Virus Diseases* (Third Edition) Academic Press, New York & London pp.: 122–256.
- SOARDS A. J., MURPHY A. M., PALUKAITIS P. & CARR J. P. (2002): Virulence and Differential Local and Systemic Spread of Cucumber mosaic virus in Tobacco are Affected by the CMV 2b Protein. – *Molecular Plant-Microbe Interactions* 15(7): 647-653.
- STOIMENOVA E., MARINOVA G. & GARCIA-LUQUE I. (2005): Influence of virus concentration on expression of cucumber mosaic virus resistance in pepper. - *Biotechnology and Biotechnological Equipment* 19: 36–41.
- SU S., LIU Z., CHEN C., ZHANG Y., WANG X., ZHU L., MIAO L., WANG X.-C. & YUAN M. (2010): Cucumber mosaic virus movement protein severs actin filaments to increase the plasmodesmal size exclusion limit in tobacco. - *The Plant Cell*, 22(4): 1373–1387.
- SUTIC D. (1959): Die Rolle der Paprikasamens bei der Virusübertragung.- *Zeitung der Phytopathology* 36: 83-93.
- SVOBODA J. & SVOBODOVÁ-LEIŠOVÁ L. (2012): Occurrence of viruses on pepper plantations in the Czech Republic. - *Horticultural Science*, 39(3):139-143.

- SZILASSY D., SALÁNKI K. & BALÁZS E. (1999): Molecular Evidence for the Existence of Two Distinct Subgroups in Cucumber Mosaic Cucumovirus. - *Virus Genes*, 18(3): 221-227
- SZIRMAI J. (1941): A fűszerpaprika leromlását megindító újhítségnek nevezett vírusbetegségről. *Növényegészségügyi évkönyv* 1: 109-109
- TALIAŃSKI M.E. & GARCÍA-ARENAL F. (1995): Role of cucumovirus capsid protein in long-distance movement within the infected plant. - *Journal of Virology*, 69:916-922.
- TIAN Z., LIU W., LUO C., LI Y. & LIU T. (2012): Transmission Comparisons of Cucumber Mosaic Virus Subgroup I and II Isolates by Different Aphid Species. - *Journal of Phytopathology*, 160: 299–303.
- TÓBIÁS I., MOLNÁR B., SALAMON P. & BENCZER L. (1978): A paprikapatogén vírusok fertőzésének hatása néhány étkezési paprikafajtára. – *Kertgazdaság*, 10(3): 51-60
- TÓBIÁS I., SZABÓ B., SALÁNKI K. & PALKOVICS L. (2007): A cukkini sárga mozaik vírus és az uborka mozaik vírus terjedése a héj nélküli tök (*Cucurbita pepo* var. *Styriaca*) magjával - *Növényvédelem*, 43(7): 291-300.
- TOMLINSON J. A., & CARTER A. L. (1970): Studies on the seed transmission of cucumber mosaic virus in chickweed (*Stellaria media*) in relation to the ecology of the virus. - *Annals of Applied Biology*, 66(3): 381–386.
- VARVERI & BOUTSIKA. (1999): Characterization of cucumber mosaic cucumovirus isolates in Greece. - *Plant Pathology*; 48(1):95-100.
- VOZELJ N., PETROVIC N., NOVAK M. P., TUSEK M., MAVRIC I. & RAVNIKAR M. (2003): The most frequent viruses on selected ornamental plants and vegetables in Slovenia. *Zbornik predavanj in referatov 6. Slovenskega Posvetovanja o Varstvu Rastlin*. - *Zreze Slovenije*, 4-6: 300–304.
- WAHYUNI W. S., DIETZGEN R. G., HANADA K. & FRANCKI R. I. B. (1992): Serological and biological variation between and within subgroup I and II strains of cucumber mosaic virus. - *Plant Pathology*, 41: 282–297.
- WANG D. & BOSLAND P.W. (2006): The genes of Capsicum. – *Horticultural Science*, 41: 1169–1187.
- WATERWORTH H. E., TOUSIGNANT M.E. & KAPER J. M. (1978): Lethal disease of tomato experimentally induced by RNA 5 associated with cucumber mosaic virus isolated from *Commelina*[diffusa] from El Salvador. – *Phytopathology*, 68: 561-566.
- WIKOFF W. R., TSAI C. J., WANG G., BAKER T. S. & JOHNSON J. E. (1997): The structure of cucumber mosaic virus—cryoelectron microscopy, X-ray crystallography and sequence analysis. – *Virology*, 232: 91–97.
- YAO M., LI N., WANG F. & YE Z. (2013): Genetic analysis and identification of QTLs for resistance to cucumber mosaic virus in chili pepper (*Capsicum annuum* L.). - *Euphytica* 193: 135–145.
- ZATYKÓ L. & TÓBIÁS I. (1987): Korhoz kötött uborka mozaik vírus (CMV) tolerancia a "Táltos Synthetic" paprika fajtában - *Kertgazdaság*, 19(5): 59-61.
- ZHANG D., TAN X., WILLINGMANN P., ADAM G. & HEINZE C. (2011): Problems Encountered with the Selection of Cucumber Mosaic Virus (CMV) Isolates for Resistance Breeding Programs. – *J. Phytopat.* 159: 621–629.
- ZITIKAITĖ I & URBANAVIČIENĖ L. (2010): Detection of natural infection by Cucumber mosaic virus in vegetablecrops. - *Biologija* 14-19
- FAOSTAT (2012): <http://www.faostat.fao.org/>
- FRUITVEB HUNGARY (2012): A zöldség és gyümölcs ágazat helyzete Magyarországon 6-7.

9. MELLÉKLET

12. táblázat: Magyar fajták és hibridek fogékonysága a CMV-Ca2 törzzsel szemben

CMV-Ca2		
Fogékonysági kategória	Fajták sorszáma	Összesen
<i>Nem fogékony</i>	–	0
<i>Nagyon enyhén fogékony</i>	46, 57, 63, 75, 105, 106, 130, 137, 142, 145, 149, 150, 158, 167, 190, 194, 195, 203, 205, 207, 223	21
<i>Enyhén fogékony</i>	1, 2, 13, 14, 17, 21, 22, 33, 35, 40, 41, 43, 54, 56, 60, 68, 70, 81, 82, 83, 91, 97, 100, 102, 111, 117, 131, 134, 139, 146, 147, 152, 153, 157, 162, 163, 168, 175, 180, 183, 185, 196, 198, 213	44
<i>Közepesen fogékony</i>	3, 4, 6, 7, 8, 11, 12, 15, 16, 18, 23, 26, 27, 28, 31, 32, 34, 39, 42, 45, 47, 48, 51, 55, 58, 59, 65, 69, 73, 74, 76, 77, 78, 79, 80, 86, 87, 93, 94, 95, 98, 101, 103, 104, 108, 109, 110, 114, 115, 116, 120, 122, 126, 128, 132, 135, 136, 141, 151, 160, 161, 164, 165, 171, 173, 174, 182, 187, 189, 191, 193, 197, 209, 211, 212, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221	83
<i>Súlyosan fogékony</i>	5, 9, 19, 20, 25, 29, 30, 50, 52, 53, 66, 67, 71, 72, 85, 90, 92, 99, 107, 112, 113, 124, 125, 129, 144, 148, 154, 155, 166, 170, 181, 202, 204, 210, 222, 224	36
<i>Extrém fogékony</i>	10, 37, 38, 44, 49, 62, 84, 89, 96, 140, 143, 156, 159, 169, 172, 176, 177, 178, 179, 188, 192, 199, 201, 208,	34
<i>Teljes nekrozis</i>	88, 121	2

13. táblázat: Magyar fajták és hibridek fogékonysága a CMV-ScL törzzsel szemben

CMV-ScL		
Fogékonysági kategória	Fajták sorszáma	Összesen
<i>Nem fogékony</i>	–	0
<i>Nagyon enyhén fogékony</i>	–	0
<i>Enyhén fogékony</i>	154, 205	2
<i>Közepesen fogékony</i>	46, 185, 190, 203	4
<i>Súlyosan fogékony</i>	17, 25, 51, 83, 97, 104, 105, 108, 109, 126, 145, 147, 151, 164, 173, 180, 182, 183, 187, 192, 194, 209, 212, 213, 214, 215, 218	27
<i>Extrém fogékony</i>	10, 14, 19, 20, 26, 34, 44, 45, 48, 49, 67, 73, 74, 75, 80, 81, 82, 87, 90, 93, 95, 96, 98, 101, 103, 106, 107, 122, 136, 142, 143, 144, 148, 161, 162, 163, 169, 170, 171, 172, 175, 176, 177, 178, 179, 181, 188, 193, 195, 196, 198, 199, 201, 202, 208, 210, 211	57

Az általam vizsgált paprika gentoípusok vizsgálata a fajta nevek mellőzésével egyedi sorszám alkalmazásával történt a különböző gazdasági érdekek tiszteletben tartása miatt.

10. NYILATKOZAT

Alulírott Barnácz Fruzsina Enikő, a Szent István Egyetem Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar Kertészmérnöki Szak nappali tagozatos III. évfolyamos hallgatója nyilatkozom, hogy a TDK dolgozat saját munkám, melynek elkészítése során a felhasznált irodalmat korrekt módon, a jogi és etikai szabályok betartásával kezeltem.

TDK dolgozatom állam- vagy szolgálati titkot nem tartalmaz.

Gödöllő, 2014. november 03.

.....
Barnácz Fruzsina Enikő