

**NÖVÉNYEK ÉS VÍRUSOK KAPCSOLATAI A PAPRIKA (*CAPSICUM*) -
TOBAMOVÍRUS PATOSZISZTÉMÁKBAN**

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

Írta:

SALAMON PÁL

Budapest, 2006

A doktori iskola

megnevezése: Interdiszciplináris (1. Természettudományok /1.5. Biológiai tudományok/, 4. Agrártudományok /4.1. Növénytermesztési és kertészeti tudományok) Doktori Iskola

tudományága: Növénytermesztési és kertészeti tudományok

vezetője: Dr. Papp János
egyetemi tanár, DSc
Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar,
Gyümölcsstermő Növények Tanszék

Témavezető: Dr. Velich István
egyetemi tanár, DSc
Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar,
Genetika és Növénynevelés Tanszék

A jelölt a Budapesti Corvinus Egyetem Doktori Szabályzatában előírt valamennyi feltételnek eleget tett, az értekezés műhelyvitájában elhangzott észrevételeket és javaslatokat az értekezés átdolgozásakor figyelembe vette, azért az értekezés védési eljárásra bocsátható.

.....
Az iskolavezető jóváhagyása

.....
A témavezető jóváhagyása

Az Egyetem Mezőgazdasági Tudományági Doktori Bizottsága 2003. szeptember 30-i határozatában a nyilvános vita lefolytatására az alábbi Bíráló Bizottságot jelölte ki:

BÍRÁLÓ BIZOTTSÁG:

Elnöke:

Balázs Sándor, MHAS

Tajjai:

**Rimóczi Imre, DSc
Pedryc Andrzej, CSc
Glits Márton, CSc
Lukács Noémi, CSc**

Opponensei:

**Burgyán József, DSc
Bisztray György, CSc**

Titkár:

Pedryc Andrzej, CSc

TARTALOM	1
i. Rövidítések	3
ii. A kísérletekben felhasznált tesztnövények	4
iii. Előszó és köszönetnyilvánítás	6
1. BEVEZETÉS	7
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	11
2.1 A Tobamovirus nemzetség jellemzése és a paprikapatogén tobamovírusok	11
2.1.1 A Tobamovirus nemzetség jellemzése.....	11
2.1.2 A paprikapatogén tobamovírusok differenciálása	15
2.2 Capsicum - Tobamovirus gazda-parazita kapcsolatok	24
2.2.1 A Capsicum (paprika) nemzetség – taxonómia és modernkori domesztikáció	24
2.2.2 Tobamovírus fogékonyság és ellenállóság a paprika (<i>Capsicum</i>) nemzetségben ...	26
2.3 A Capsicum-Tobamovirus patoszisztémák kialakulása és változásai.....	33
3. ANYAG ÉS MÓDSZER	36
3.1 Anyag.....	36
3.1.1 Növények, üvegházak és fitotronok	36
3.1.2 Vírusizolátumok (<i>Tobamovirus</i> génbank)	36
3.1.3 Antiszérumok, immundiagnosztikumok.....	37
3.1.4 Laboratóriumi műszerek és eszközök.....	38
3.1.5 Vegyszerek, reagensek, diagnosztikumok	38
3.2 Módszer	39
3.2.1 Növénynevelés, -ápolás –és fenntartás	39
3.2.2 Inokulumok készítése és mechanikai inokuláció.....	39
3.2.3 Vírusizolálás, -differenciálás (-szeparálás) -és fenntartás	40
3.2.4 A vírusizolátumok tulajdonságainak vizsgálata	40
3.2.4.1 A gazdanövénykör tanulmányozása és szimptomatológiai jellemzés	40
3.2.4.2 Citopatológia.....	41
3.2.4.3 Keresztvédetség megállapítása	41
3.2.4.4 Fizikai tulajdonságok megállapítása.....	41
3.2.4.5 A virionok elektronmikroszkópos vizsgálata	41
3.2.4.6 Vírustisztítás	42
3.2.4.7 Antiszérumok előállítása	42
3.2.4.8 Szerológiai vizsgálatok	42
3.2.4.9 Virionok elektroforetikus mobilitásának vizsgálata agaróz gélben.....	44
3.2.4.10 <i>Capsicum</i> fajok, -fajták, -hibridek és -vonalak tobamovírus fogékonyságának és/vagy rezisztenciájának megállapítása.....	44

4.	EREDMÉNYEK.....	46
4.1	Ebszőlőcsucsról (<i>Solanum dulcamara</i> L.) és paprikáról (<i>Capsicum annuum</i> L.) származó tobamovírus izolátumok összehasonlító jellemzése.....	46
4.1.1	Tobamovírus előfordulása termesztett ebszőlőcsucson.....	46
4.1.2	Tobamovírusok izolálása és differenciálása „Ob” jelzésű paprika mintákból	50
4.1.3	Tobamovírus előfordulása vadon élő ebszőlőcsucson	56
4.1.4	Tobamovírus izolátumok jellemzése	60
4.1.4.1	Gazdanövénykör és szimptomatológia	60
4.1.4.2	Keresztvédetség	66
4.1.4.3	Citopatológia.....	66
4.1.4.4	Átvihetőség vetőmaggal és a vetőmag szennyeződésének vizsgálata.....	67
4.1.4.5	A pollen szennyeződésének vizsgálata	67
4.1.4.6	Fizikai tulajdonságok.....	67
4.1.4.7	A virionok alakja és méretei	67
4.1.4.8	Vírustisztítás, a virionok ülepedése és UV spektruma	67
4.1.4.9	Szerológia rokonság.....	69
4.1.4.10	A virionok elektroforetikus mobilitása agaróz gélben.....	73
4.2	Tobamovírus-fogékonyság és -rezisztencia <i>Capsicum</i> fajokon	74
4.2.1	Az Evita paprika fajta TMV ellenállóságának kialakítása és vizsgálata	74
4.2.2	A Greygo paprikafajta tobamovírus-rezisztenciája	77
4.2.3	Az L ³ és L ⁴ allélekre heterozigóta paprika rezisztencia tulajdonságai	81
4.2.4	Tobamovírus-rezisztencia díspaprika tételekben	84
4.2.5	Paprika (<i>Capsicum</i>) fajok-, fajták- és vonalak reakciói különböző patogenitású paprikáról izolált és nem izolált tobamovírusokkal szemben.....	87
5.	MEGVITATÁS	90
5.1	<i>Obuda pepper virus</i> (syn.: <i>dulcamara yellow fleck virus</i>): egy Magyarországon endemikus, rezisztencia-törő új tobamovírus faj tulajdonságai és introdukciója a paprika-patoszisztémába	90
5.2	A <i>Capsicum-Tobamovirus</i> kapcsolatok elméleti és gyakorlati kérdései	99
5.3	Epilógus: vad patoszisztémák, kultúr-patoszisztémák és a globalizáció.....	104
6.	ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK	105
7.	ÖSSZEFOGLALÁS	107
8.	SUMMARY	110
9.	IRODALOM.....	113

i. RÖVIDÍTÉSEK¹

CMI/AAB = Commonwealth Mycological Institute/Association of Applied Biologists

CMV = *Cucumber mosaic virus*

CP = coat protein

DNS = dezoxy-ribonukleinsav

ICTV = International Committee on Taxonomy of Viruses

KDa = kilodalton

LMC = low molecular weight component

MTA = Magyar Tudományos Akadémia

OMMI = Országos Mezőgazdasági Minősítő Intézet

PVY = *Potato virus Y*

RNS = ribonukleinsav

TAV = *Tomato aspermy virus*

TBSV = *Tomato bushy stunt virus*

tRNS = transzlációs RNS

Zrt = zártkörű részvénytársaság

¹ A Tobamovírus fajok nevének akronímái a nemzetséget áttekintő 1. táblázatban található

ii. A KÍSÉRLETEKBEN FELHASZNÁLT TESZTNÖVÉNYEK ¹

Apiaceae (Umbelliferae)

Eryngium (E.) planum L. (donor: Dr. C. Wetter)

Cucurbitaceae

Cucumis (C.) sativus L. cvs. Delicatess, Budai csemege

Chenopodiaceae

Chenopodium (Ch.) amaranticolor Coste et Reyn.

Chenopodium (Ch.) murale L.

Chenopodium (Ch.) quinoa Willd.

Leguminosae

Phaseolus (Ph.) vulgaris L. cv. Red Kidney (donor: Dr. A. Kowalska)

Plantaginaceae

Plantago major L. (Saját gyűjtés)

Solanaceae

Capsicum (C.) annuum L.

cv. Almaalakú (donor: Fehér András)

cv. Javított cecei (donor: Dr. Andrásfalvy András)

cv. D-Cecei-SH (donor: Dr. Zatykó Lajos)

cv. Albaregia (donor: Dr. Zatykó Lajos)

cv. Rapidus F1 (donor: Dr. Fehér András)

cv. Rapires F1 (donor: Dr. Fehér András)

cv. Novator F1 (donor: Dr. Fehér András)

cv. Novares F1 (donor: Dr. Fehér András)

cv. Ciklon F1 (donor: Dr. Moór Józsefné)

cv. Century F1 (donor: Sági Zsolt)

„L3L3” vonal (donor: Sági Zsolt)

„L4L4” vonal (donor: Sági Zsolt)

„L3 x L4” hibrid (donor: Sági Zsolt)

„P11” (donor: Dr. A. A. Cook)

cv. Florida VR2 (donor: Dr. Horváth József, dr. A. A. Cook eredeti anyagából)

cv. Veltor F1 (donor: Dr. Fehér András)

cvs. Greygo I-196, Greygo DH (donor: Venczel Gizella)

Capsicum (C.) chacoense Hunz.

„G” (donor: Növénygenetikai Intézet, Gatersleben)

Capsicum (C.) chinense Willd.

P.I. 159 236 (donor: Dr. A.A. Cook és Dr. Zatykó Lajos)

Capsicum (C.) frutescens L.

cv. Tabasco (donor: Dr. A. A. Cook és Dr. A. Th. B. Rast)

Cyphomanra betaceae Sent. (donor: Botanical Garden, Oulu)

Datura stramonium L.

Lyopersicon (L.) esculentum Mill.

cv. Rutgers (donor: Dr. A. Kowalska)

cv. Primset (donor: Dr. Burgyán József)

cv. Kecskeméti 262 (donor: Dr. Milotay Péter)

„Tm-1/Tm-1 vonal” (donor: Dr. Milotay Péter)

„Tm-2/Tm-2 vonal” (donor: Dr. Milotay Péter)

¹ A rezisztencia vizsgálatokhoz felhasznált, az ii. pont alatt nem említett *Capsicum* fajok, -fajták és -vonalak a Zöldségtermesztési Kutatóintézet Zrt. *Capsicum* génbankjából származtak.

„Tm-2^a/Tm-2^a vonal” (donor: Dr. Milotay Péter)

Nicotiana (N.) benthamiana Domin.

Nicotiana (N.) clevelandii Gray.

Nicotiana (N.) glutinosa L.

Nicotiana (N.) megalosiphon Heurck et Muell.

Nicotiana (N.) glauca Graham

Nicotiana (N.) tabacum L. cv. Xanthi-nc

Nicotiana (N.) tabacum L. cv. Samsun

Nicotiana rustica L.

Solanum (S.) glaucophyllum Desf. (syn.: *S. malacoxylon*; donor: Dr. Wasserman)

Solanum (S.) tuberosum L. cv. Kisvárdai rózsa (donor: Dr. Wolf István)

Solanum (S.) giganteum Jacq. (donor: Dr. A. Th. B. Rast)

Solanum (S.) dulcamara L. (donor: MTA Botanikus Kert, Vácrátót)

iii. ELŐSZÓ ÉS KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Doktori (PhD) értekezés elkészítéséhez a rendszerváltozás óta Magyarországon doktori iskolák nyíltak, ahol fiatalok vezető kutatók mellett egy-egy témába bekapcsolódva kezdik el tudományos pályafutásukat. A doktori képzés ideje három év. Jelen értekezés szerzője három évtizede készítette el egyetemi diplomamunkáját virológiai témában (SALAMON, 1975) és kezdte el a kutatómunkát egy másik rendszerben, ahol nem volt hivatalos kutatóképzés és a kutatásokat finanszírozó pályázati lehetőség. Értekezésem elkészítését a kutatásban eltöltött évtizedek után sokkal inkább tekintem hitvallásnak azon értékekről, melyeket a tudományos munkáról mindig is gondoltam, mint a tudományos karrier (újabban „életpálya modell”) nélkülözhetetlen részének.

A kísérleteket több intézmény (MTA Növényvédelmi Kutatóintézete, Budapest, Pannon Agrártudományi Egyetem Burgonyakutatási Osztálya, Keszthely, Kertészeti és Élelmiszeripari Egyetem, Budapest; Zöldségtermesztési Kutatóintézet Zrt., Kecskemét) munkatársaként és mint együttműködő kutató a Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpontban (Gödöllő) végeztem legtöbbször munkatársakkal (kutatók, növénynemesítők, egyetemi hallgatók, laboránsok) együttműködve, akik tevékeny részesei az eredményeknek. Az értekezésben ezért indokoltnak tartottam a többes szám első személyű nyelvi forma alkalmazását, kivéve azokat az eseteket, amikor kifejezetten saját elképzeléseimet, gondolataimat vagy megjegyzéseimet fogalmazom meg.

Visszatekintve az elmúlt három évtizedre hálával és köszönettel emlékezem néhai Dr. Beczner László virológusra és Dr. Lehoczky János növénypatológusra, akik vezető kutatóként, első munkahelyemen, az MTA Növényvédelmi Kutatóintézetében 12 éven keresztül segítették munkámat. Köszönöm egykori tanítóimnak, Dr. Horváth József virológus-akadémikusnak és Dr. Petróczi István professzornak, hogy támogatták pályám kezdetén és akiktől a növényvírus-patológia könyvekből aligha megtanulható szemléletét elsajátíthattam.

Hálával tartozom a Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpontnak (Gödöllő) és a Zöldségtermesztési Kutató Intézet Zrt.-nek (Kecskemét), ahol nehéz időkben helyet, bátorítást és segítséget kaptam munkám folytatásához. Köszönöm Ledóné Dr. Darázi Hajnalka, Dr. Zatykó Lajos és Sági Zsolt növénynemesítőknek, hogy nemesítési programjaikban támogatták elképzeléseimet és velük együttműködve részese lehettem több paprikafajta nemesítésének.

Ezúton mondok köszönetet Dr. Csilléry Gábor paprikanemesítőnek az „Ob” jelzésű, különleges vírusokkal fertőzött paprika növények rendelkezésre bocsátásáért, valamint mindazon magyar és külföldi virológus és növénynemesítő kollégáknak, akik vírusokkal és növényanyagokkal vagy különböző vizsgálatokban segítettek munkámat. Nevüket az értekezés vonatkozó fejezeteiben említtem meg. Végezetül köszönöm Dr. Papp János és Dr. Velich István professzoroknak, hogy a Budapesti Corvinus Egyetem Kertészettudományi Karán doktori témámat befogadták és ápolták.

1. BEVEZETÉS

A kultúrnövények megvédése a kórokozóktól, a kártevőktől és a konkurens növényektől minden korban a mezőgazdasági termelést folytató ember egyik legfontosabb és legnehezebb feladata volt. A II. világháború után fellendült kémiai növényvédelem tényleges, de csak részleges sikerei ma már elhalványodni látszanak részben a felismert káros mellékhatások miatt, részben azért, mert növényvédő szerek alkalmazásával sohasem értek el komoly eredményeket olyan fontos kórokozókkal szemben, mint a vírusok és a szubvirális patogének (viroidok, szatellitek). A vírussal fertőzött növény gyógyítására alkalmas növényvédő szerek hiányában a védekezés lehetősége a fertőzések vagy a betegségek kialakulásának megelőzésére korlátozódik. Ennek leghatékonyabb módszere az ellenálló (rezisztens) növényfajták nemesítése és gyakorlati hasznosítása.

Az 1950-1960-as évekig tisztázódott, hogy hazai körülmények között a paprikán a bokrosodás betegséget („újhítóság”) előidéző CMV mellett a legjelentősebb és a legnagyobb károkat a TMV okozza (SZIRMAI, 1941; PETRÓCZI, 1956; SOLYMOSY, 1958; KAPPELLER, 1962; HORVÁTH, 1969). A TMV biológiai tulajdonságai miatt (pl. a részecskék különleges ellenállósága és fertőzőképessége, átvihetősége szövetnedvvel, maggal és virággporral) a preventív növényvédelmi eljárások gyakran nem elégségesek a fertőzések kialakulásának és továbbterjedésének megakadályozásához. A TMV elleni védekezésben jelentős előrelépés volt a virológusok (Szirmai János, Milinkó István, Solymosy Ferenc, Horváth József) és a paprikanemesítők (Angeli Lambert, Kovács János, Zatykó Lajos, Kapeller Károly) első generációjának egymásra találása és a rezisztenciára-nemesítés megindulása az 1960-70-es években (SZIRMAI, 1970; ANGELI et al., 1971; KOVÁCS és HORVÁTH, 1973; KAPPELLER, 1971; ZATYKÓ, 1974; ZATYKÓ et al., 1979) A világ paprikanemesítésével is lépést tartva ekkor jelentek meg az első, már TMV rezisztencia gént (L^1 gén) is tartalmazó hazai fajták (pl. D-Cecei-SH, Rezisztens Keszthelyi, Fehérözön, Kalocsai V1).

A különböző kórokozókkal szemben ellenálló növények termesztésének története azt mutatja, hogy a növényfajták kórokozókkal szembeni rezisztenciája sokszor nem tartós. Ennek több oka lehet. Legtöbbször a kórokozó megváltozása, alkalmazkodása a rezisztens növény-genotípusokhoz (patodémekhez) töri le az ellenállóságot (HARRISON, 2002). Ilyen esetekben a kórokozó faj új patotípusai alakulnak ki és terjednek el. A paprikába beépített, az L^1 allél által biztosított rezisztencia sem bizonyult tartósan hatékonynak, mert a 70-es évek közepétől világszerte olyan „TMV törzsek” bukkantak fel és terjedtek el, amelyek áttörték ezt az ellenállóságot.

Az új „TMV-törzsek” megjelenése nagy kihívást jelentett a virológusok és a paprikanemesítők számára egyaránt. A víruskutatásra elsősorban az új törzsek taxonómiai azonosítása, valamint differenciálásuk és diagnosztizálásuk módszereinek kidolgozása várt. Két évtized kutatómunkája tisztázta, hogy kevés kivételtől eltekintve az „új TMV paprika törzsek” valójában különböző vírusfajok.

A nemesítőknek a virológusokkal karöltve rövid idő alatt kellett megoldani az újabb rezisztencia források felkutatásával, a megtalált rezisztencia gének öröklődési viszonyainak tisztázásával és azok újabb fajtákba történő beépítésével kapcsolatos feladatokat. Magyarországon mindezt ráadásul olyan periódusban (80-as évek), amikor a paprikatermesztésben jelentős technológiai -és fajtaváltás következett be. Szabadföldön tért nyert a helyrevetéses technológia (ZATYKÓ, 1978), amely - kiküszöbölve a TMV fertőzéséhez és terjedéséhez kedvező palántázást - csökkentette a mozaik betegség jelentőségét a fűszerpaprika és a szabadföldi ipari feldolgozású paprikák esetében (ZATYKÓ, 1980). A friss fogyasztású zöldpaprikák termesztése ugyanakkor egyre inkább a hajtásba, termesztő házakba (fólia-ház, üvegház) került (SOMOS et al., 1980), ahol palántáról nevelve, kis tőszám (3-5 növény/nm) mellett, hosszúra nyúlt tenyészidőszakban kell extra minőségű és

mennyiségű termést elérni. A hajtatas megkövetelte igényeknek ma már csak a hibridfajták felelnek meg, amelyek előállítására megváltoztatta a nemesítési stratégiákat is (ZATYKÓ, 2006). A hajtatási technológiákhoz azonban olyan fitotechnikai műveletek (metszés, kötözés) kapcsolódnak, amelyek segítik a mechanikailag könnyen átvihető vírusok, elsősorban a tobamovírusok terjedését. Fentiek miatt az intenzív hajtatásban, ahol egy-egy paprikató is nagy érték, a tobamovírus-rezisztencia már nem csak ajánlott, hanem meg is követelt fajtatulajdonság.

Növényvirológusként három évtizede veszek részt a paprikát fertőző vírusok hazai kutatásában és vírusrezisztens paprikafajták nemesítésében. Az ezen a területen végzett munka korai szakaszában a paprikán előforduló vírusok (TMV, BBWV, TAV, CMV, TBSV, PVY) azonosításával és jellemzésével foglalkoztam (SALAMON et al., 1980a, b; TÓBIÁS et al., 1978; SALAMON és SZÜRKE, 1982; SALAMON, 1985), amelyeket ma különböző intézmények (MBK, Gödöllő; ZKI Zrt., Kecskemét) nemesítési és/vagy kutatási céllal hasznosítanak. A paprika tobamovírusokkal szembeni rezisztenciájának kiterjedt kutatása és a rezisztencia-nemesítés olyan időszakban kezdődött, amikor a növényvirológia még nem rendelkezett elégséges ismerettel ahhoz, hogy minden esetben megalapozott kritériumokat adjon az azonos rokonsági körökhöz (taxonómiai csoportokhoz, HARRISON et al., 1971) tartozó vírusok „faji” elkülönítésére. A tobamovírusokat legtöbbször a TMV egymáshoz jobban vagy kevésbé hasonlító törzseiként tartották nyilván (pl. TMV-bab, -paradicsom, -útifű, -uborka törzsek). A fiziko-kémiai és szerológiai tulajdonságok vizsgálata (SIEGEL és WILDMAN, 1954; VAN REGENMORTEL, 1975; GIBBS, 1977) mutatott rá arra, hogy a „TMV törzsek” között sok esetben a különbségek olyan nagyok, amelyek más víruscsoportokban csak különböző, saját névvel rendelkező vírusokra jellemzők /pl. CMV és TAV (*Cucumovirus* csoport), PVY és TEV (*Potyvirus* csoport), DuMV és BeMV (*Tymovirus* csoport)/. A virionok biokémiai tulajdonságainak és szerológiai rokonsági viszonyainak megismerésével a 70-es években körvonalazódott a patológiai és szerológiai szempontból jelentősen különböző TMV törzsek elkülönülő vírusokként („fajok”) történő definiálása és ehhez kapcsolódóan az elkülönítő vírusnevek (pl. ToMV, RMV, SHMV, ORSV és CGMMV) használata (GIBBS, 1977).

Ebben az időszakban jelentek meg Magyarországon is a rezisztencia-törő tobamovírusok a paprikán, többek között a tudományra nézve is új vírusfaj, az ObPV (syn.: DYFV), valamint a TMGMV és a PMMoV különböző törzsei (CSILLÉRY és RUSKÓ, 1980a; SALAMON és BECZNER, 1982; SALAMON, 1982; SALAMON és BECZNER, 1987; SALAMON et al., 1987; SALAMON 1993). Ma már világosan látjuk, hogy a rezisztencia-törő tobamovírusok hazai felbukkanása sokkal inkább „vírusintrodukciók” sorozata volt, mintsem a helyi víruspopulációk alkalmazkodására a rezisztens paprika genotípusokhoz (SALAMON és PALKOVICS, 2005).

Az 1980-as évektől foglalkozom olyan vírusellenálló paprika genotípusok szelektálásával, amelyek a nemesítés számára, mint kiinduló alapanyagok hasznosíthatók. Ilyen alapanyagok kerültek többek között a Vetőmag Vállalat Kutató Központjához Szentesre (BARTA et al., 1985) és a Veszprémi Egyetem Georgikon Karára (Keszthely, Dr. Kovács János nemesítő csoportja). Az együttműködések eddigi eredménye az Evita paprikafajta nemesítése.

A 90-es évektől tanulmányozom a termelői piacokon vagy dísznövény üzletekben forgalmazott, illetve kiskertekben fellelhető díszpaprika típusokat részben nemesítési céllal, részben vírus-rezisztencia tulajdonságok felkutatására (SALAMON, 1999). Ezek a kutatások meggyőztek arról, hogy a hazai paprika génkészlet (gén-pool) még ma is olyan tartalékokkal rendelkezik, amelynek felderítése és kihasználása a jövő egyik fontos kutatási feladata lehet.

1996-tól a Zöldségtermesztési Kutató Intézet Zrt. nemesítői teamjében alkalmam nyílt hasznosítani a korábbi kutatási tapasztalatokat, és megbizonyosodhattam a tudományos kutatások nagy gyakorlati jelentőségéről. Az itt végzett munka eredménye a Century

paprikafajta, amely az első hazai, L⁴ rezisztencia alléllal rendelkező cecei-típusú paprika hibrid (SÁGI és SALAMON, 1998a, b).

A virológia és a rezisztencia-nemesítés számára az elmúlt másfél évtizedben a növényi biotechnológia, valamint a molekuláris virológia új perspektívákat nyitott (ZAITLIN és PALUKAITIS, 2000; DUDITS és HESZKY, 2003; HESZKY et al., 2005). A növény-szövettenyésztési módszerek fejlődése (pl. a dihaploid paprika növények előállítása portokkultúrákból, GÉMESNÉ et al. 1998; MITYKÓ és GÉMES-JUHÁSZ, 2006), a növényi rezisztencia-gének és a vírus-gének klónozása valamint bázissorrendjük megállapítása, továbbá ezeknek a géneknek a kultúrnövényekbe juttatása különböző transzformációs módszerekkel olyan arzenálhoz jutatta a növény-nemesítést, amelyet ha jól és meggondoltan hasznosít, korábban elképzelhetetlen gyorsasággal és eredménnyel veheti fel a harcot a növényvírusokkal szembeni is (FITCHEN ÉS BEACHY, 1993; WHITHAM et al., 1996; KIRÁLY, 2000). Mint a növény-nemesítéshez közelálló és a virológus-patológus természetesen nem hagyhattam figyelmen kívül a molekuláris szinten elért eredményeket, amelyekre, ahol elengedhetetlen, hivatkozni fogok. Munkám során – elsősorban korlátozott lehetőségeim miatt – a molekuláris virológiai és a biotechnológiai módszerek alkalmazására nem volt módom. Meggyőződésem azonban, hogy a virológia, a növénygenetika és a nemesítés klasszikus irányai – és ennek képviselői – nem szorulhatnak háttérbe a „molekuláris korszak” beköszöntével, sőt, új kórokozók vagy azok különleges változatainak felfedezésével és a növény-vírus kapcsolatok patológiai, genetikai és ökológiai-járványtani összefüggéseinek feltárásával nemcsak megalapozhatják, hanem sok esetben ki is jelölhetik a jövő molekuláris kutatásait.

Az értekezés célkitűzései:

Az értekezés első részében célunk volt, hogy

- irodalmi áttekintést adjunk a paprikáról izolált (paprikapatogén) tobamovírusokról, különös tekintettel a vírusfajok és a vírus patotípusok differenciálására
- az irodalmi ismeretek alapján jellemezzük a *Capsicum* nemzetségben a tobamovírus rezisztenciát- és fogékonyságot és ennek genetikai hátterét
- fentieket is elemezve rámutassunk a *Capsicum*-tobamovírus patoszisztémák labilitására és ebben az emberi tevékenység meghatározó szerepére

A kísérleti munka virológiai részében célunk volt, hogy

- jellemezzük a hazai flórából származó új paprikapatogén tobamovírus faj, az *Obuda pepper virus* (syn.: *dulcamara yellow fleck virus*) izolátumainak differenciálási szempontból fontos tulajdonságait és ismertessük azokat az eredményeket, amelyek feltárták a vírus természetes forrását

A rezisztencia-nemesítési -és genetikai munkákba bekapcsolódva célul tűztük ki, hogy

- a TMV fogékony, csípős szentesi Almapaprika fajtát, mint nemesítési kiinduló forrást felhasználva TMV ellenálló, édes, ipari feldolgozásra alkalmas alma alakú paprika fajtát állítsunk elő, és vizsgáljuk a fajta rezisztencia tulajdonságának megőrzését,
- elemezzük a Greygo paprikafajta nem tisztázott genetikai hátterű tobamovírus ellenállóságát és megállapítsuk a fajta rezisztencia szintjét,
- megállapítsuk a különböző tobamovírus rezisztencia allélekre nézve heterozigóta (L³L⁴) paprika genotípus viselkedését különböző tobamovírusokkal szemben,

- jellemezzük a Magyarországon fellelhető, nem nemesített paprika gén-poolból gyűjtött, elsősorban dísznövényként hasznosítható paprikák tobamovírus ellenállóságát és/vagy fogékonyságát,
- tanulmányozzuk a *Capsicum* nemzetség Magyarországon nem termesztett fajainak valamint vad fajainak illetve ezek származékainak tobamovírus ellenállóságát azzal céllal, hogy eddig nem ismert rezisztencia típusokat és forrásokat találjunk. A kísérletekbe prognosztikai céllal olyan, a paprikáról még nem izolált tobamovírusokat is bevontunk (pl. RMV, ORSV, SHMV), amelyekkel szemben a *Capsicum* nemzetség fajainak fogékonyságát és/vagy rezisztenciáját eddig nem vagy alig tanulmányozták.

Végezetül célunk volt, hogy megvitassuk az új tudományos eredményeket és megállapítsuk hasznosításuk lehetőségeit.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1 A *Tobamovirus* nemzetség jellemzése és a paprikapatogén tobamovírusok differenciálása

2.1.1 A *Tobamovirus* nemzetség jellemzése

Taxonómia és nomenklatura

A *Tobamovirus* nemzetség egymással rokon növényvírusok csoportja, melyet más vírusnemzetségektől a virion és a vírusgenomot alkotó RNS tulajdonságai különböztetnek meg (FAQUET et al., 2005). A nemzetség (*Toba-mo-virus*) névadó- és típusfaja a TMV, az elsőként felfedezett növényvírus, a virológia fontos modell objektuma (WILKINSON, 1976; HARRISON és WILSON, 1999; KNAPP és LEWANDOWSKI, 2001; SCHOLTOFF, 2004). A tobamovírusokat¹ eddig magasabb taxonhoz nem sorolták. ROZANOV et al. (1992) szerint a replikációs stratégia és a gének bázissorrend motívumai alapján a tobamovírusok a taxonként nem definiált „Sindbis-szerű” vírusok szupercsoportjának „altovirus” („alphavirus-tobamovirus”) alcsoportjához sorolhatók. Patológiai és molekuláris-genetikai elemzések alapján a tobamovírusok három alcsoportra (subgroup) oszthatók² (LARTEY et al., 1996; FRAILE et al., 1997; GIBBS, 1999). Mivel a virológiában a nemzetség alatti egyetlen rendszertani egység a faj (FAQUET et al., 2005), ez a csoportosítás taxonómiai szempontból (pl. mint subgenus) még nem értelmezhető.

A *Tobamovirus* nemzetséghez jelenleg 22 vírusfaj tartozik (1. táblázat). A paprikapatogén BePMV (WETTER et al., 1987) az ICTV fajlistáján még nem szerepel. Az *Obuda pepper virus* (VAN REGENMORTEL et al., 2000a) azonos az ebszőlőcsucor sárga foltosság vírussal (dulcamara yellow fleck virus, DYFV; SALAMON és BECZNER, 1987; SALAMON et al., 1987; syn.: *Solanum dulcamara* yellow fleck virus, SDYFV; SANFAÇON et al., 1993), melynek jellemzése tárgya az értekezésnek. A vírusfajok variánsait (törzsek, patotípusok, szerotípusok), mint faj alatti taxonokat az ICTV nem értelmezte, jelölésük a kutatók feladata. MAYO et al. (2002) szerint ugyanakkor fontos a nemzetségek típusfajának és a fajok referencia izolátumainak kiválasztása. A tobamovírusokról szinoptikus leírások találhatóak a CMI/AAB Description of Plant Viruses sorozatban, valamint VAN REGENMORTEL és FRAENKEL-CONRAT (1986) és BRUNT et al. (1996) könyveiben.

A vírusok elnevezéséről az utóbbi években vita bontakozott ki az irodalomban (BOS, 1999a; GIBBS, 2000; VAN REGENMORTEL és MAHY, 2004; EBERHARD, 2004). A nemzetség nevét is magába foglaló anglicizált bi(tri)nominális vírusnév használatot (pl. *Tobacco mosaic Tobamovirus*) az ICTV nem vezette be, ugyanakkor - miután definiálták a vírusfaj fogalmát³ - több virológus már új, latinizált binominális nomenklatura hívévé vált (BOS, 1999a; AGUT, 2002; GIBBS, 2003; HUBALEK, 2004; GIBBS és GIBBS, 2006). A latin binominális növényvírus nevek alkalmazásának lehetőségére és példáira /pl. *Tobamovirus (Tmv.) tabaci = Tobacco mosaic virus/* a család- és nemzetségnevek rövidítésével együtt elsőként tettünk javaslatot (SALAMON, 1996; 2006a, b). Ezeket a neveket és névrövidítéseket az értekezésben nem használjuk.

¹ tobamovírus = olyan vírus (sensu lato), amely a *Tobamovirus* nemzetségbe tartozik.

² A HLSV és a HFPV, a MaMV, valamint a SFBV (1. táblázat) az újabb vizsgálatok szerint további lehetséges alcsoportok képviselői.

³ Az ICTV 1991-ben VAN REGENMORTEL (1989, 1990) javaslatára a vírusfajt az alábbiakban definiálta: „A viral species is a polythetic class of viruses that constitutes a replicating lineage and occupies a particular ecological niche”. (A vírusfaj a vírusok olyan sokjellemezős osztálya, amelyet azonos leszármazású és saját ökológiai helyet elfoglaló vírusok alkotnak.). A fajnevek az ICTV határozata alapján nagy kezdőbetűvel és dőlt betűvel írandók.

1. táblázat

A *Tobamovirus* nemzetség fajainak tudományos és magyar neve
(FAQUET et al., 2005; SALAMON, 2006b)¹

A vírusfaj tudományos neve és akronímájaA vírus magyar neve

<i>Cucumber fruit mottle mosaic virus</i> (CFMMV)	-uborka termésfoltosság mozaik vírus*
<i>Cucumber green mottle mosaic virus</i> (CGMMV)	-uborka zöldfoltosság mozaik vírus
<i>Frangipani mosaic virus</i> (FrMV)	-frangipani mozaik vírus*
<i>Hibiscus latent Fort Pierce virus</i> (HLFPV)	- <i>Hibiscus</i> látens Fort-Pierce vírus*
<i>Hibiscus latent Singapore virus</i> (HLSV)	- <i>Hibiscus</i> látens Szingapúr vírus*
<i>Kyuri green mottle mosaic virus</i> (KGMoMV)	-japánuborka zöldfoltosság mozaik vírus*
<i>Obuda pepper virus</i> (ObPV)	-Óbuda paprika vírus
<u><i>Odontoglossum ringspot virus</i> (ORSV)</u>	<u>-<i>Odontoglossum</i> gyűrűsfoltosság vírus</u>
<i>Paprika mild mottle virus</i> (PaMMV)	-fűszerpaprika enyhe foltosság vírus
<i>Pepper mild mottle virus</i> (PMMoV)	-paprika enyhe foltosság vírus
<u><i>Ribgrass mosaic virus</i> (RMV)</u>	<u>-lándzsás útifű mozaik vírus*</u>
<i>Sammons' Opuntia virus</i> (SOV)	-Sammons <i>Opuntia</i> vírus
<u><i>Sunn-hemp mosaic virus</i> (SHMV)</u>	<u>-szunkender mozaik vírus*</u>
<i>Tobacco latent virus</i> (TLV)	-dohány látens vírus*
<i>Tobacco mild green mosaic virus</i> (TMGMV)	-dohány enyhe zöld mozaik vírus
<i>Tobacco mosaic virus</i> (TMV)	-dohány mozaik vírus
<i>Tomato mosaic virus</i> (ToMV)	-paradicsom mozaik vírus
<i>Turnip vein-clearing virus</i> (TVCV)	-tarlórépa érkivilágosodás vírus*
<i>Ullucus mild mottle virus</i> (UMMV)	- <i>Ullucus</i> enyhe foltosság vírus
<i>Wasabi mottle virus</i> (WMoV)	-japánlótorma foltosság vírus*
<i>Youcai mosaic virus</i> (YoMV)	-réparepce mozaik vírus*
<i>Zucchini green mottle mosaic virus</i> (ZGMMV)	-cukkini zöldfoltosság mozaik vírus*

¹ A *-gal jelölt magyar vírusnevek az irodalomban először publikált magyar vírusnevek (SALAMON, 2006 b), melyek megalkotásakor figyelembe vettük magyar virológusok munkáit (HORVÁTH, 1972; NÉMETH, 1979; HORVÁTH és GÁBORJÁNYI, 1999) valamint a vírusnevek megalkotására és helyesírására vonatkozó újabb törekvéseket (BŐSZE, 2003; TÓTH, 2004). A frangipani (*Plumeria*, templomfa, frangipani/fa) és a sunn-hemp (*Crotalaria juncea*, bengálkender, szunkender) angol növénynevek fordításakor a magyar nevek közül azt választottuk, amely az angol névre jobban emlékeztet. A kyuri a *Cucumis sativus* (uborka) kígyóuborkaszerű változata, melyet Japánban megkülönböztetnek más uborka változatoktól. A magyar japánuborka név (nomen provisoricum) képzését indokolta a KGMoMV magyar nevének megkülönböztetése a CGMMV magyar nevével. A „ribgrass” a *Plantago lanceolata* növényfaj angol közönséges neve, ezért az RMV magyar nevében eddig használt útifű (= a *Plantago* nemzetség magyar neve) helyett a lándzsás útifű megnevezést tartjuk helyesebbnek. A wasabi (*Wasabia japonica* syn. *Cochlearia wasabi*, *Eutrema japonica*) és a youcai (*Brassica rapa* var. *oleifera*) magyar neve japánlótorma és réparepce. A magyar vírusnevekben a latin növényemzetség neveket (*Odontoglossum* = kosborfűrt; *Opuntia* = fügekaktusz; *Ullucus* = bazella) nem fordítottuk és dőlt betűvel írtuk, míg a tulajdonneveket (Sammons) és a földrajzi neveket (pl. Fort-Pierce) normál betűtípussal írtuk. A földrajzi neveket csak akkor fordítottuk, ha magyar megfelelőjük ismert (Szingapúr, Óbuda). A növények magyar megnevezésében PRISZTER (1998) munkáját követtük. A táblázatban kövér betűvel a paprikát spontán fertőző, aláhúzással a paprikát kísérleti körülmények között fertőző tobamovírusokat emeltük ki. A *Tobamovirus* nemzetség feltehetően önálló, de az ICTV által még nem elfogadott további fajai: bell pepper mottle virus (BePMV, WETTER et al., 1987), maracuja mosaic virus (MarMV; SONG et al., 2006; cactus mild mottle virus (CMMoV, MIN et al., 2006), rose (?) tobamovirus (BRUNT et al., 1996); potato 14R (?) tobamovirus (BRUNT et al., 1996) és *Streptocarpus* flower break virus (SFBV, HEINZE et al., 2006).

A nemzetséget jellemző tulajdonságok

A nemzetség¹ a virológiában – eltérően a fajtól – univerzális taxon, azaz a nemzetség tagjai (fajok, izolátumok) más nemzetségek tagjait kizáró közös tulajdonságokkal rendelkeznek (VAN REGENMORTEL és MAHY, 2004). A *Tobamovirus* genus-t más vírusnemzetségektől a virion morfológiai tulajdonságai, a genom szerveződése, a vírusreplikáció módja, a strukturális és nem strukturális fehérjék száma és mérete különítik el, melyekre az alábbiak jellemzők:

A virion morfológiai tulajdonságai

A tobamovírusok virionjai merev pálcika alakúak, hosszúságuk 290-310 nm (a TMV esetében 300 nm), szélességük 17-18 nm (BRUNT et al., 1996). Elektronmikroszkópos felvételeken a virion közepén csatorna figyelhető meg. A virionokat kb. 2600, azonos aminosav sorrendű és összetételű, 17.5 kDa molekulatömegű köpenyfehérje (CP) molekula (strukturális alegység) építi fel, melyek helikálisan egymáshoz kapcsolódva körülvesszik a virion tömegének kb. 5 %-át kitevő genomi RNS-t. A víruspartikulumokból kis mennyiségben nem vírus eredetű fehérjéket is kimutattak (HULL, 2002).

A vírusgenom tulajdonságai (genom szerveződés és replikáció)

A tobamovírusok genomját a virionokba épülő egyetlen, a fajtoktól függően változó nagyságú, 6300-6500 nukleotidból (nt) felépülő egyszálú, 2×10^6 molekulatömegű RNS molekula képezi, amely önmagában is fertőzőképes (BRUNT et al., 1996). A genomi RNS 3' vége egyetlen aminosavat (a TMV esetében pl. hisztidint) kötő tRNS-szerű struktúra, míg az 5'-véget cap struktúra zárja (HULL, 2002).

A TMV volt az első növényvírus, amelynek teljes bázissorrendjét megállapították (GOELET et al., 1982). Napjainkban már minden önálló fajként elismert tobamovírus egy vagy több izolátumának teljes vagy közel teljes bázissorrendje ismert. Ezek az adatok adatbázisokban hozzáférhetők (LEWANDOWSKI, 2005; ADAMS és ANTONIW, 2005; 2006)

In vitro és *in vivo* transzlációs kísérletek valamint a nukleotid szekvencia adatok elemzése azt igazolta, hogy a tobamovírusok genomi RNS-e pozitív értelmű és legalább négy, eltérő molekula tömegű fehérjét kódol (LARTEY et al., 1996; 1. ábra). A genomi RNS 5' végéről közvetlenül egy 126 kDa-os és egy 183 kDa-os fehérje íródik át, utóbbi az előző fehérje génjének túlolvasi terméke. Az RNS a 3' vég közelében két másik fehérjét, egy 30 kDa-os és egy 17.5 kDa-os fehérjét is kódol, amelyek nem közvetlenül a teljes hosszúságú genomi RNS-ről, hanem szubgenomi (sg) RNS-ekről (I₂ és LMC sgRNS-ek) transzlálódnak (BEACHY és ZAITLIN, 1977). *In vitro* transzlációs kísérletben SULZINSKI et al. (1985) egy további, szintén szubgenomi RNS-ről (I₁ sgRNS) átíródó 54 kDa-os proteint mutattak ki, amelyet *in vivo* még nem azonosítottak. MOROZOV et al. (1993) a bázissorrend adatok elemzése alapján több tobamovírus (TMV, ToMV, TMGMV) genomján egy kis molekulatömegű (4-5 kDa-os) fehérjét kódoló nyílt leolvasási keretet (ORF6) találtak, amely átfedi a 30 kDa-os és a 17.5 kDa-os fehérjét kódoló géneket (2. ábra). A tobamovírus-replikáció molekuláris mechanizmusának részletes tárgyalása meghaladja jelen értekezés kereteit, ezért erre vonatkozóan utalunk BUCK (1999) és HULL (2002) munkáira.

¹ A nemzetség (*Genus*) definíciója a virológiában HULL (2002) nyomán : „a population of virus species that share common characteristics and are different from other populations of species” (a vírusfajok olyan populációja, melyeket közös tulajdonságok kötnek össze és különböztetnek meg a fajok más populációtól)

Strukturális és nem strukturális fehérjék

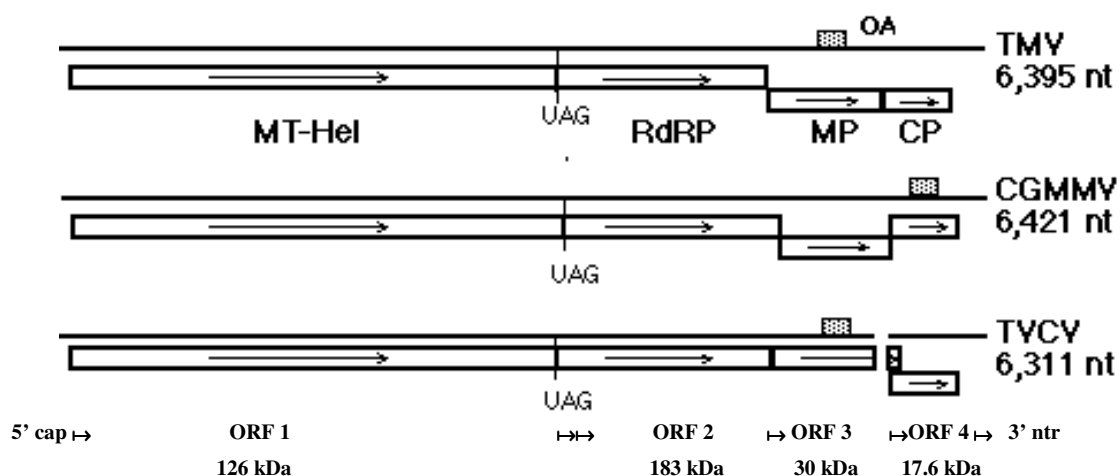
A tobamovírusok genomja egyetlen strukturális (a virionba beépülő) fehérjét kódol, a 17.5 kDa-os köpenyfehérjét (CP), melynek fő funkciója a vírus RNS védelme (HULL, 2002).

A 126-, 183- és 30 kDa molekula tömegű, nem strukturális fehérjék fő funkciói ROZANOV et al. (1992), LARTEY et al. (1996) valamint CRAEGER et al. (1999, 2. ábra) szerint az alábbiak: a 126 kDa-os fehérje metiltransferáz (MT) és RNS helikáz (H) aktivitással, míg a 183 kDa-os fehérje ezeken kívül RNS függő RNS polimeráz (RdRp) aktivitással is rendelkezik. A 30kDa-os fehérjének a vírus sejtről-sejtre történő mozgásában van szerepe (movement protein, MP).

A fő funkciók mellett az említett fehérjékhez vagy az azokat kódoló génekhez a vírus patogenezisben más funkciók is kapcsolódnak (PADGETT és BEACHY, 1993; PADGETT et al., 1997; BERZAL-HERRANZ et al., 1995; DE LA CRUZ et al., 1997; CULVER, 2002; DING et al. 2004). A TMV genomon felfedezett, *in vivo* még nem detektált 54 kDa-os fehérje feladata nem ismert. A TMV ORF6 által kódolt 4.8 kDa-os fehérjéről CANTO et al. (2004) igazolták, hogy *N. benthamiana* tesztnövényen a vírus patogénitását befolyásolja.

1. ábra

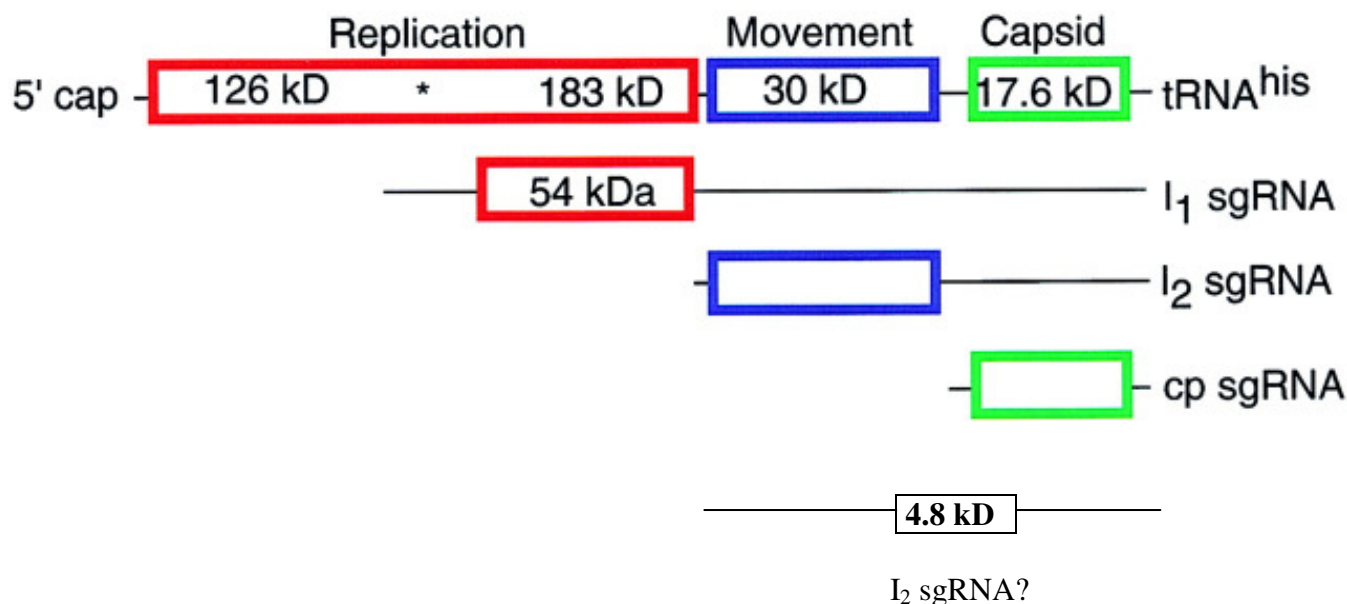
A tobamovírusok génszerveződése (LARTEY et al., 1996) nyomán módosítva¹



¹Az 1. ábra a metiltransferáz-helikázt (MT-Hel), az RNS-függő RNS polimerázt (RdRp), a mozgásért felelős proteint (MP) és a köpenyfehérjét (CP) kódoló régiók (ORF 1-4), valamint a gátolható terminációs kodonok (UAG) és a virion összeépülés kezdőpontjának (OA, pontozott négyzet) relatív helyét jelöli az 1-es (*Solanaceae*-patogén, TMV), a 2-es (*Cucurbitaceae-Leguminosae*-patogén CGMMV) és a 3-as (*Cruciferae*-patogén, TVCV) alcsoportokhoz tartozó tobamovírusok esetében. A lépcsőzetesen eltolódó boxok két régió átfedését jelzik. A TVCV esetében az MP és a CP régiók közötti szakadás a TMV-hez viszonyított nukleotid hiányt jelzi. Az ORF-ek alatt a fehérjetermék molekulatömegét tüntettük fel.

2. ábra

A TMV molekuláris biológiai vázlat (CREAGER et al., 1999) nyomán módosítva¹



¹Magyarázat: A genomi RNS (felül) és a 3' végi koterminális szubgenomi RNS-ek (sorban ez alatt). A nyitott leolvasási keretek által kódolt proteinek molekulatömege kDa-ban megadva és a gének szerepe (Replication = replikáció; Movement = mozgás; Capsid = köpenyfehérje). A jóslott 54 kDa-os fehérje feladata nem ismert. Az ORF6 relatív helyét CANTO et al. (2004) munkája nyomán (alul) jelöltük.

2.1.2 A paprikapatogén tobamovírusok differenciálása

A paprikapatogén vírusok köre

A paprikáról izolált (a paprikát spontán fertőző) tobamovírusok 6 elismert fajt (TMV, ToMV, TMGMV, PMMoV, PaMMV, ObPV) képviselnek (1. táblázat), de a paprikát fertőző tobamovírusok köre ennél szélesebb. FELDMAN és OREMIANER (1972) Argentínában a TMV olyan különleges törzsét izolálták paprikáról, amely nem fertőzte a paradicsomot. Ez az izolátum WETTER et al. (1987) szerint elkülönülő tobamovírus fajt képvisel. Javasolt neve: bell pepper mottle virus (BePMV, csemegepaprika foltosság vírus). Fertőzési kísérletek igazolták, hogy az RMV lokálisan és szisztémikusan, míg az SHMV lokálisan fertőz egyes paprika genotípusokat (SCHUMAN, 1963; ERNWEIN és WETTER, 1987; CAPOOR, 1950). Az ORSV patogenitását illetően az irodalom ellentmondásos. Saját vizsgálataink szerint (SALAMON és NÉMETHY, 1988) az ORSV lokálisan, KAMIŃSKA és MALINOWSKI (1992) szerint szisztémikusan fertőzi a paprikát. DUBEY et al. (1981; cit. EDWARDSON és CHRISTIE, 1997) Indiában a paprikára is patogén, levéltetűvel átvihető tobamovírust izoláltak paradicsomról (tobacco mosaic aphid-borne virus, TtMV). A TtMV levéltetűvel történő átvihetősége és önálló faji státusza megerősítést igényel. A közel múltban Nigériában felfedezett *Solanaceae*-patogén TLV patogenitását a paprikán nem tanulmányozták (LADIPO et al., 2003).

VAN REGENMORTEL és MAHY (2004) szerint a vírusfajok megkülönböztetésében az alábbi tulajdonságok fontosak: hasonlóság a genomi bázissorrendben, természetes gazdanövénykör, sejt és szöveti tropizmus, patogenitás és citopatológia, az átvitel módja, fiziko-kémiai tulajdonságok és antigén tulajdonságok. Rámutatnak arra, hogy ezen tulajdonságok megítélése (súlyozása) a különböző vírus rokonsági körökben eltérő lehet.

Differenciálás a virionok morfológiai és fiziko-kémiai tulajdonságai alapján

A tobamovírusok virionjai a szisztemikusan fogékony gazdanövények leveleiből differenciál centrifugálási módszerekkel nagy mennyiségben tisztíthatók (GOODING és HEBERT, 1966; WETTER et al., 1984). A paprikapatogén tobamovírusok normál hosszúsága fajtól függően 300-312 nm között változik (EDWARDSON és CHRISTIE, 1997), de ezt a tulajdonságot, mint a fajokat elkülönítő (taxonómiai differenciáló) bélyeget nem vizsgálták részletesebben. Az ORSV-re és az SHMV-re jellemző rövid (short) partikulumokat a paprikát spontán fertőző hat tobamovírus faj izolátumai nem képeznek.

A tobamovírus virionok ülepedési állandója 190 S, UV abszorpciós spektrumának maximuma 260 nm, minimuma 242 nm, ezek aránya 1.11 – 1.3. Az abszorpciós maximumon mért specifikus extinkciós érték 3.1 (BRUNT et al., 1996). A virionok izoelektromos pontja fajtól függően változó (TMV = pH 3.5, TMGMV = pH 3.16, PMMoV = pH 3.38 - 3.71, ToMV = pH 4.5 - 4.64, RMV = 4.49; BRUNT et al., 1996), a PaMMV és az ObPV esetében nem ismert. Az eltérő izoelektromos pontnak a tobamovírusok taxonómiai elkülönítésében eddig nem tulajdonítottak jelentőséget.

Agaróz-gél elektroforézissel végzett vizsgálatok szerint a TMV, ToMV, TMGMV, RMV, PaMMV, PMMoV és az SHMV virionjainak elektroforetikus mobilitása eltérő (ASSELIN és GRENIER, 1985; SALAMON, 1988; STOIMENOVA és YORDANOVA, 2005). ASSELIN és GRENIER (1985) szerint agaróz-gél elektroforézissel nagyon tiszta virion preparátumok állíthatók elő.

A tobamovírusokra jellemző, hogy partikulumaik különböző fizikai és kémiai behatásokkal szemben (UV sugárzás, hő, vegyszerek) nagyon ellenállóak (cf. BRUNT et al., 1996). Növényi szövetnedvben hőinaktiválási pontjuk 90-94 °C, eltarthatóságuk *in vitro* több hónap vagy év (EDWARDSON és CHRISTIE, 1997).

Differenciálás a genom bázisszekvencia homológiák alapján

A genomi bázisszekvencia adatok sok vírusra kiterjedő ismerete előtt (az 1990-es évekig) nukleinsav hibridizálási módszerekkel (folyadék- és dot blot hibridizálás) tanulmányozták a biológiai és szerológiai tulajdonságok valamint a köpenyfehérje aminosav összetétele alapján elkülönülő vírusokként meghatározott tobamovírusok (a jelenlegi fajok) közötti bázisszekvencia homológiát. Ezek a vizsgálatok azt igazolták, hogy nem szigorú hibridizálási körülmények között a különböző fajok izolátumai különböző mértékű bázisszekvencia homológiát mutatnak, míg szigorú (stringent) viszonyok között csak az azonos fajhoz tartozó izolátumok hibridizálnak (PALUKAITIS és SYMONS, 1980; PALUKAITIS et al., 1981).

Kvantitatív dot-blot RNS-cDNS hibridizálással Dr. Beczner László kimutatta, hogy az ebszőlőcsucsorról és paprikáról Magyarországon izolált Sd és XII tobamovírus izolátumok (SALAMON és BECZNER, 1982) szigorú hibridizálási körülmények között egymással erősen, míg öt paprikapatogén *Tobamovirus* faj tipikus izolátumaival nem hibridizáltak (SALAMON et al., 1987; SALAMON és BECZNER, 1987). Ezeket a poszteren és előadásokon közzétett eredményeket SANFAÇON et al. (1993) részben megerősítették és igazolták, hogy az Sd izolátum erősen hibridizál az XII izolátumhoz hasonló „ToMV-Ob” izolátummal (CSILLÉRY et al., 1983). FORD et al. (1988) dot-blot nukleinsav hibridizással

is bizonyították, hogy az RMV *Plantago major*-ról származó hazai izolátuma (RMV-Tcs, SALAMON, 1979) erősen hibridizál a vírus típusizolátumával.

A 90-es évektől a nukleinsav klónozási módszerek fejlődésével és az automatizált bázissorrend meghatározásnak köszönhetően a genomi bázisszekvencia megállapítása minden tobamovírus faj egy-vagy több izolátuma esetében megtörtént (LEWANDOWSKI, 2005). A bázissorrend azonosságok és különbségek elemzése nyomán elfogadottá vált, hogy az azonos fajhoz tartozó tobamovírus izolátumok bázissorrend homológiája akár a teljes genom szintjén, akár egy-egy gént tekintve meghaladja a 90 %-ot, míg a különböző fajokhoz (1. táblázat) tartozó izolátumok között ez az érték nem éri el a 70-80 %-ot (LARTEY et al., 1996). A bázissorrend ma már olyan fontos faji differenciáló (demarkációs) bélyeg, amelynek ismerete nélkül az ICTV nem foglal állást adott vírusizolátum új fajként történő taxonómiai besorolását illetően. Feltehetően ez az oka annak, hogy a jól jellemzett, de nem szekvenált BePMV (WETTER et al., 1987) még nem nyert faji státuszt. Ezzel szemben az ICTV rövid idő alatt új fajként ismerte el a BePMV-nál sok szempontból kevésbé jellemzett TLV-t, amelynek csak egy izolátumát részben (CP-gén) szekvenálták és ez az adat alátámasztotta faji elkülönülését más tobamovírusoktól (LADIPO et al., 2003). A TLV fajnév elfogadásakor (az ICTV elhagyta az eredeti vírusnévből (Nigerian tobacco latent virus, NTLV) az izolálás helyére utaló „Nigerian” jelzőt MAYO (2004).

WETTER et al. (1984) a paprikán világszerte elterjedt PMMoV-t a biológiai tulajdonságok, a szerológiai rokonság valamint a CP aminosav összetétel alapján határozták meg elkülönülő tobamovírus fajként. A bázissorrend későbbi megállapítása és összehasonlító elemzése megerősítette a PMMoV faji elkülönülését más tobamovírusoktól (ALONSO et al., 1991). A PMMoV-nek a paprikán két patotípusa (P_{1,2} és P_{1,2,3}) fordul elő, amelyek a köpenyfehérje gén bázissorrendjében mutatnak kis különbséget (TENLLADO et al., 1994; VELASCO et al., 2002). A PMMoV Magyarországon azonosított Nov izolátumának (SALAMON és BECZNER, 1987; SALAMON, 1993) bázissorrendje nem ismert, más hazai izolátumai pedig 95-100 %-os CP szekvencia és aminosav sorrend homológiát mutattak a vírus külföldi izolátumaival (KÁLMÁN et al., 2001; KÁLMÁN, 2003).

A paprikáról Hollandiában izolált, TMV „paprika törzsként” meghatározott P11 jelzésű tobamovírus izolátum (RAST, 1979; 1982; TÓBIÁS et al., 1982) az ismert tobamovírus fajok izolátumaival csak kis bázissorrend homológiát mutatott (GARCIA-LUQUE et al., 1993). Ennek alapján az ICTV a „TMV-P11” izolátumot elkülönülő vírusfaj izolátumaként (a javasolt „Capsicum mild mosaic virus” név helyett) PaMMV néven regisztrálta (VAN REGENMORTEL et al., 2000). A PaMMV Bulgáriában és Japánban felfedezett izolátumai a CP-gén bázissorrendjében alig különböztek a P11 izolátumtól (RUIZ DEL PINO et al., 2003; HAMADA et al., 2004).

Japán és amerikai laboratóriumokban IKEDA et al. (1993) illetve PADGETT és BEACHY (1993) egymástól függetlenül határozták meg a paprikáról Magyarországon izolált ToMV-Ob vírustörzs (CSILLÉRY ÉS RUSKÓ, 1980b; CSILLÉRY et al., 1983) bázissorrendjét. A tobamovírusok más fajaitól (így a ToMV-től is) a genom bázissorrend alapján jelentősen elkülönülő vírus elnevezésére fenti szerzők nem tettek javaslatot (dolgozataikban tobamovirus-Ob izolátumként említik). Az ICTV a bázissorrend adatok közzététele után a vírust *Obuda pepper virus* (ObPV) tudományos néven regisztrálta (VAN REGENMORTEL ET AL., 2000). GIBBS et al. (2004) a tobamovírusok filogenetikai törzsfáján az ObPV két izolátumát tüntetik fel, ObPV-type és ObPV-TMV-Ob jelzéssel, a génbanki NC_003852 (IKEDA et al., 1993) és L11665 (PADGETT és BEACHY, 1993) adatokra hivatkozva, jóllehet mindkét szekvencia adat forrása ugyanazon vírusizolátum (ToMV-Ob, CSILLÉRY et al., 1983) volt.

LARTEY et al. (1996) szerint az ORSV rekombináns vírus lehet, de rekombinációra utaló szekvencia elemeket mutattak ki a TMGMV valamint az ObPV között is.

GIBBS et al. (2004) 9 *Tobamovirus* faj 48 izolátumának bázissorrend adatait tanulmányozva nemzetség-specifikus és faj-specifikus nukleotid kombinációs motívumot (nucleotide combination motif, NC) fedeztek fel a tobamovírusok polimeráz (RdRp) génjén. Javasolják, hogy az NC '4404-4450' motívumot a jövőben építsék be a fajleírásokba, ahogyan azt GIBBS (2003) a „*Tobamovirus tabaci*” (= TMV) példáján modellként közzétette.

Differenciálás a köpenyfehérje (CP) és vírus által kódolt más fehérjék aminosav összetétele és aminosav sorrendje alapján

A CP aminosav összetételét (az aminosavak számát és az egyes aminosavak moláris arányát) a TMV, ToMV, TMGMV és a PMMoV esetében kémiai módszerekkel az 1980-90-es évekig meghatározták. Az összehasonlító vizsgálatok azt igazolták, hogy a különböző vírusok (a mai értelemben vett fajok) izolátumainak CP aminosav összetétele jelentősen különbözik és a fajra jellemző (GIBBS, 1977). A fajok rokonsági viszonyait elemezve KOENIG és GIBBS (1986) szoros korrelációt állapítottak meg a CP aminosav összetétel, a szerológiai módszerekkel meghatározott SDI értékek és a kvantitatív nukleinsav hibridizálással kimutatott genomi szekvencia homológiák alapján megállapított rokonsági viszonyok között. A paprikapatogén tobamovírusok közül a még nem szekvenált BePMV CP aminosav összetétele más tobamovírusoktól jelentősen különbözik (WETTER et al., 1987). A tobamovírus-genom más génjei által kódolt 126kD-os, 180-kD-os és 30 kD-os nem strukturális fehérjék bázissorrend adatokból következtetett aminosav sorrendje és összetétele fajonként CP-hez hasonlóan nagy különbségeket mutat (LARTEY et al., 1996).

Differenciálás az antigén tulajdonságok és a szerológiai rokonság alapján

A tobamovírusok virionjai erős immunogének. A különböző fajokhoz tartozó izolátumok között kvantitatív és kvalitatív szerológiai módszerekkel közelebbi vagy távolabbi szerológiai rokonságot állapítottak meg (VAN REGENMORTEL, 1975; JAEGLE és VAN REGENMORTEL, 1985). A szerológiai rokonság kifejezésére a tobamovírusok mintáján vezették be a szerológiai differenciál index (SDI) fogalmát, amely számszerűen is jellemzi két vírusizolátum szerológiai rokonságának mértékét (VAN REGENMORTEL, 1975).

JAEGLE és VAN REGENMORTEL (1985), PARES (1985) valamint WETTER et al. (1984) vizsgálatai szerint a paprikapatogén tobamovírusok közül egymással szorosabb (SDI < 2.0) szerológiai rokonságot mutat a TMV és a ToMV, a TMGV és a ToMV, míg a PMMoV, a PaMMV és az RMV ezekkel a vírusokkal és egymással csak távoli (SDI > 3.0) szerológiai rokonságban állnak.

Az Argentínában felfedezett különleges „TMV paprika törzs” (FELDMAN és OREMIANER, 1972), amelyet később a leírókra utaló „FO” izolátum jelzéssel tanulmányoztak más tobamovírusokkal távoli szerológiai rokonságot mutatott (TÓBIÁS et al., 1982; WETTER et al., 1987),

Génbankokban őrzött, és a TMV különböző törzseiként nyilvántartott paprikapatogén tobamovírus izolátumukat WETTER (1984) kvalitatív szerológiai vizsgálatok alapján a TMV-vel, a TMGMV-vel és a ToMV-vel azonosított. A szerológiai eredményeket a patológiai tesztek (differenciáló tesztnövények reakciói) megerősítették

A ToMV-Ob vírustörzs szerológiai rokonságát más tobamovírusokkal TÓBIÁS et al. (1982) valamint CSILLÉRY et al. (1983) tanulmányozták. Megállapították, hogy a ToMV-Ob törzs a legismertebb paprikapatogén tobamovírusokkal (TMV, ToMV) valamint a paprikára specializálódott TMV-P8, -P14, és -FO „törzsekkel” távoli szerológiai rokonságot mutat (SDI > 3.0). SANFAÇON et al. (1993) ezeket az adatokat megerősítették. TÓBIÁS et al. (1982) közeli szerológiai rokonságot (SDI < 2.0) állapítottak meg a ToMV-Ob és a TMV-P11 izolátumok között.

BURGYÁN et al. (1978; 1980) a TMV és a ToMV különböző hazai izolátumainak kvantitatív és kvalitatív szerológiai összehasonlító elemzéséről számoltak be. Megállapították, hogy a paprikáról származó, C13 jelzésű tobamovírus izolátum (SALAMON, nem közölt adat) a TMV-U2 izolátummal szoros szerológiai rokonságban áll, míg a *Solanum dulcamara*-ról származó Sd izolátum (BECZNER et al., 1980) a TMV U1 és -U2 törzstől valamint a ToMV-től a nagy SDI index értékek (> 3.0) és a specifikus antigén determinánsok alapján elkülönül. A távoli szerológiai rokonság miatt az Sd izolátum további vizsgálatát javasolták.

Differenciálás a gazdanövénykörök és a szimptomatológiai tulajdonságok alapján

Természetes gazdanövénykörök

EDWARDSON és CHRISTIE (1997) szerint a TMV előfordulását 99, különböző növénycsaládokhoz tartozó növényfajon állapították meg, míg a ToMV természetes gazdanövényeinek száma 17 faj. A TMGMV-t vadon élő *N. glauca*-ról, termesztett dohányról és paprikáról, valamint *Rhoeo spatacea*-ról (*Commelinaceae*) és a *Gesneridaceae* család 12 fajához tartozó növényekről izolálták. A TMGMV előfordulását Magyarországon a paprikán kívül (C13 izolátum) a lampionnövény termesztett változatán (*Physalis alkekengii* var. *franchetii*) állapítottuk meg (SALAMON ÉS DEZSÉRY, 1983). A fenti polifág tobamovírusok spontán gazdanövényeinek száma az új felfedezésekkel napról-napra nő. A TMV fertőzését pl. KAZINCZI et al. (1999) a közelmúltban a Magyarországon terhes gyomnövényé vált selyemkórón (*Asclepias syriaca*) mutatták ki. A PMMoV és a PaMMV csak paprikáról ismert vírusok, míg a BePMV-t a paprikán kívül tojásgyümölcsről (*Solanum melongena* L.) is izolálták Hollandiában (TÓBIÁS et al., 1982). Az ObPV (= ToMV-Ob = tobamovirus-Ob) fertőzése a paprikán csak Magyarországon bizonyított. Természetes előfordulásának megállapítását a *S. dulcamara*-n az értekezés ismerteti. A paprikát veszélyeztető RMV polifág tobamovírus, spontán gazdanövényei a *Caryophyllaceae*, *Cruciferae*, *Labiatae*, *Plantaginaceae* és *Scrophulariaceae* család főként vadon élő fajtái (BRUNT et al., 1996). A *Solanaceae* családból az RMV spontán előfordulását a dohányon és a paradicsomon (BRUNT et al., 1996), és újabban a petúnián (SEIGNER, 2006) állapították meg. A természetes gazdanövénykört tekintve a BePMV, a PMMoV, a PaMMV, az ORSV és az SHMV oligofág kórokozóknak tekinthetők.

FRAILE et al. (1995) valamint GIBBS (1999) elemzései szerint az azonos növénycsalád fajairól izolált tobamovírusok – néhány kivételtől eltekintve – szembetűnően közelebbi rokonságban állnak egymással, mint a különböző növénycsaládokról származó vírusfajok izolátumai. Fenti szerzők szerint ez arra utal, hogy a gazdaspecificitásban ko-evolúciós kapcsolat tükröződik a növények és a tobamovírusok között. A *Tobamovirus* nemzetségen belül az 1-es alcsoportba tartozó vírusokat elsősorban a burgonyafélékről, a 3-as alcsoportba tartozókat a keresztesvirágúakról izolálták. A 2-es alcsoport vírusai különböző kétszíkű családok (*Cucurbitaceae*, *Leguminosae*, *Malvaceae*) növényein fordulnak elő. A paprikáról izolált tobamovírusok kivétel nélkül az 1-es alcsoportba tartoznak, míg az RMV a 3-as, az SHMV pedig a 2-es alcsoportba sorolható (FRAILE et al., 1997). Az ORSV hibrid jelleget mutatott, mert a CP és az MP gének alapján az 1-es csoportba tartozik, míg más régiók alapján a 3-as csoportba tartozik (LARTEY et al., 1996).

Kísérleti gazdanövénykörök¹

A növényvírusok patogenitása, amely a parazitizmust jellemző egyik legfontosabb biológiai tulajdonságuk, behatóan a kísérleti gazdanövénykör tanulmányozásával jellemezhető (HOLMES, 1946). A kísérleti gazdanövénykörök évtizedek óta folyó összehasonlító vizsgálata azt igazolta, hogy az azonos vírusnemzetség azonos fajához tartozó vírusizolátumok gazdanövényköre – a defektív és különleges mutánsoktól eltekintve – azonos, míg a különböző fajok esetében kisebb vagy nagyobb mértékben különbözik (BOSWELL és GIBBS, 1983²). Ez a felismerés volt az alapja annak, hogy a növényvirológia patológiai korszakában, a kísérleti gazdanövénykörök ismerete – más biológiai tulajdonságok mellett pl. a vektorspecificitás, keresztvédettség – a vírusmeghatározáshoz mással nem helyettesíthető információkkal szolgált (SMITH, 1947). A virionok saját (intrinsic) fizikokémiai tulajdonságainak és szerológiai rokonsági viszonyainak megismerésével azonban nyilvánvalóvá vált, hogy a gazdanövénykör ismerete a különböző fajokhoz tartozó izolátumok egymást átfedő kísérleti gazdaköre és a fajok izolátumainak patológiai variabilitása miatt sokszor nem elégséges a taxonómiai differenciáláshoz és az identifikáláshoz (HAMILTON et al., 1981). A fajok vagy törzsek differenciáláshoz az ICTV felkérésére HAMILTON et al. (1981) olyan irányelveket (guidelines) fogalmaztak meg, amelyben a gazdakörnek is jelentőséget tulajdonítanak. Az irányelvek szerint egy adott rokonsági körhöz tartozó vírusizolátum a már ismert vírusokkal végzett összehasonlítás alapján az alábbiak szerint differenciálható:

- nincs szerológiai keresztreakció ismert vírussal → **új vírus**
- több ismert vírus antiszérumával szerológiai keresztreakció van
- SDI > 3 -jelentősek a gazdaköri és szimptomatológiai különbségek → **új vírus**
 -a gazdakör és a tünetek ismert vírushoz nagyon hasonlóak → **új vírustörzs**
- SDI 1-3 -közös gazda nincs vagy nagyok a gazdaköri különbségek → **új vírus**
 -a gazdakör ismert vírushoz nagyon hasonló → **új vírustörzs**
- SDI < 1 -nagyon hasonló vagy kis eltérésű gazdakör → **új vírustörzs**

A paprikát fertőző tobamovírusok megkülönböztetését az eltérő kísérleti gazdakörök alapján a **3.** táblázat szemlélteti. A paprikapatogén tobamovírusok izolátumai a paprika fajok és fajták ismert rezisztencia génekkel rendelkező genotípusain az eltérő patogenitás szerint különböző patotípusokhoz sorolhatók (BOUKEMA, 1977; 1980; 1984; GREEN és KIM, 1991). A „paprika patotípusok” szerinti osztályozás szorosan kapcsolódik a *Capsicum* nemzetségben felfedezett L tobamovírus rezisztencia gén alléjeinek differenciálásához, ezért az erre vonatkozó ismereteket a 2.2.2 „Tobamovírus fogékonyság és ellenállóság a *Capsicum* nemzetségben” c. alfejezetben tárgyaljuk.

¹ A kísérleti gazdanövénykör (experimental host range) HULL (2002) értelmezése szerint a lokálisan vagy szisztémikusan fertőzhető (fogékony) és a nem fertőzhető (nem fogékony) növények, azaz a lokális és szisztémikus gazdák és nem-gazdák köre.

² BOSWELL és GIBBS (1983) erről az alábbiakat írja: „Egy vírus gazdanövényköre és az általa okozott tünetek a fogékony gazdákon a vírusok jellemzői közül a legváltozatosabb tulajdonságok.... Így, ha két vírusizolátum azonos gazdanövénykörrel rendelkezik és minden fogékony gazdán azonos tüneteket okoz, nagyon valószínű, hogy azonos vírusok és minél több fajt tesztelünk, ez a következtetés annál biztosabb.”

2. táblázat

A paprikapatogén tobamovírusok differenciálása az eltérő kísérleti gazdanövénykör alapján

Növényfaj	A növény viselkedése a gazda-vírus kapcsolatban			
	SG ¹	LG	NG	NI
<i>N. benthamiana</i> <i>N. clevelandii</i>	TMV, ToMV, TMGMV, PaMMV, PMMoV, BePMV, ObPV, RMV, ORSV, SHMV			
<i>Datura stramonium</i>		TMV, ToMV, ObPV TMGMV, PaMMV, PMMoV, BePMV, RMV, ORSV, SHMV	ORSV(?)	
<i>C. annuum</i> (L ⁺ L ⁺ genotípusok)	TMV, ToMV, TMGMV, PaMMV, PMMoV, BePMV, ObPV, RMV	ORSV, SHMV		
<i>N. tabacum</i> cv. Samsun	TMV, ToMV, TMGMV, ObPV, RMV	PaMMV, PMMoV, BePMV, ORSV, SHMV		
<i>N. sylvestris</i>	TMV	ToMV, TMGMV, PaMMV, PMMoV, BePMV, ObPV, RMV, ORSV, SHMV	ORSV?	
<i>N. glutinosa</i>	ObPV	TMV, ToMV, TMGMV, PaMMV, PMMoV, BePMV, RMV, ORSV, SHMV		
<i>Lycopersicon esculentum</i> (Tm ⁺ /Tm ⁺ genotípus)	TMV, ToMV, ObPV, RMV, PaMMV-J	PaMMV-P11, PMMoV	TMGMV, BePMV, ORSV, SHMV	
<i>Eryngium planum</i>	TMGMV, BePMV		TMV, ToMV, PMMoV	ObPV, RMV, SHMV, ORSV
<i>Solanum giganteum</i>	ToMV	TMV, PMMoV, PaMMV, ObPV		ORSV, SHMV RMV BePMV
<i>Brassica rapa</i> <i>Cyphomandra betacea</i>	RMV		TMV, ToMV, PMMoV, TMGMV,	ObPV PaMMV, BePMV SHMV ORSV
<i>Phaseolus vulgaris</i>	SHMV	TMV, TMGMV	BePMV, ObPV, ORSV, PMMoV, PaMMV, ToMV	

¹ SG = a vírus szisztemikusan fogékony gazdanövénye; LG = a vírus lokálisan fogékony gazdanövénye; NG = nem-gazda növény; NI = a fogékonyság nem ismert. A növények különböző tobamovírusokkal szembeni fogékonyságára és/vagy ellenállóságára vonatkozó adatok BOSWEEL és GIBBS (1983), CSILLÉRY et al. (1983), TÓBIÁS et al. (1982), WETTER et al. (1984, 1987), BRUNT et al. (1996), EDWARDSON és CHRISTIE (1997) valamint HAMADA et al. (2004) munkáiból származnak.

A növényeken okozott szimptomák

A vírussal fertőzött növényeken kialakuló makroszkópikus tünetek a növényfaj (-fajta) és vírusfaj (-törzs) kombinációktól függően nagyon változatosak (BOS, 1978). Egyes gazdavírus kapcsolatokban a fertőzés szemmel látható tünetekben nem nyilvánul meg (a fertőzés látens), míg szélsőséges esetekben a fertőzés a növény gyors pusztulását okozza (CANTO et al., 2004). A tünetek kialakulását a környezeti tényezők (pl. a fény és hőmérsékleti viszonyok, a növény víz -és tápanyagellátása) jelentősen befolyásolják (HULL, 2002). Azonos körülmények között, a gazdanövény azonos genotípusán okozott lokális és szisztémikus tünetek adott vírusizolátumra jellemzőek (SARKAR, 1986). A különböző paprikapatogén tobamovírusok több száz gazdanövényre kiterjedő szimptomatológiai jellemzése meghaladja az értekezés kereteit, ezért erre vonatkozóan hivatkozunk BRUNT et al. (1996) valamint EDWARDSON és CHRISTIE (1997) munkáira. Részletesebben foglalkozunk azonban a paprikán okozott makroszkópikus tünetekkel a „2.2.2 Tobamovírus fogékonyság és ellenállóság a paprika (*Capsicum*) nemzetségben c. alfejezet „A paprika (*Capsicum*) - tobamovírus kapcsolatok jellemzése” bekezdésében.

A gazda és nem-gazda növények, valamint a vírusok által a fertőzhető növényeken okozott tünetek ismerete mással nem pótolható lehetőséget biztosít a természetben gyakori komplex tobamovírus fertőzések kimutatására, a vírustörzsek, patotípusok és mutáns vírusok differenciálására, a vírusizolátumok tisztaságának ellenőrzésére valamint a vírusok szeparálására. A patológiai módszerekkel történő vírudifferenciálás és vírusszeparálás elveit, módszereit és lehetőségeit HORVÁTH (1976; 1993) foglalta össze.

IVANOVSKIJ (1903) óta ismert, hogy a TMV fertőzése a dohányon szabad szemmel nem látható elváltozásokat, mikroszkópikus tüneteket okoz a fertőzött sejtekben. Fénymikroszkóppal a fertőzött sejtek citoplazmában erősen fénytörő, kristályos, hexagonális zárványokat (inclusions) figyeltek meg a TMV, a ToMV, a TMGMV, és a PMMoV esetében, míg lekerített szélű, ovális kristályos zárványtestek jellemzőek az RMV-re, az ORSV-re és SHMV-re. (EDWARDSON és CHRISTIE, 1997). Ultravékony metszetek elektronmikroszkópos vizsgálata azt igazolta, hogy ezek a kristályos inklúziók virion aggregátumok, amelyekben a virionok strukturáltan, egymásra épülő rétegekben helyezkednek el. Különleges, cirkulárisan rendezett virionokból álló ovális zárványtesteket figyeltünk meg az RMV hazai izolátumával fertőzött dohány sejtjeiben (SALAMON, 1979), amelyeket később ERNWEIN és WETTER (1987) is leírtak. Az ObPV-t citopatológiai módszerekkel eddig nem vizsgálták.

A kristályos zárványokon kívül a tobamovírusokkal fertőzött sejtekben fénymikroszkóppal látható, gyengébben fénytörő, amorf zárványtestek (X-bodies) is előfordulnak, amelyekről feltételezik, hogy a vírusreplikáció helyei (HULL, 2002). Tobamovírusok virionjait a sejtmagban, a kloroplasztiszban és a mitokondriumokban is kimutatták (EDWARDSON és CHRISTIE, 1997)

Differenciálás a vírusok közötti interferenciák alapján

A különböző növényvírusok között, egyidejű vagy egymást követő fertőzés esetén egymást erősítő vagy gyengítő kölcsönhatások (interferencia) léphetnek fel (HULL, 2002). Az egymást gyengítő kölcsönhatások specifikus esete a keresztvédettség (super-infection immunity, acquired immunity, pathogen-induced immunity, cross protection), amelyet McKINNEY (1929) fedezett fel a TMV törzsei között dohányon. A különböző módszerekkel és lokális vírus kapcsolatokban is kimutatott (KUNKEL, 1934) “cross-protection” interferencia jelenséget, azaz egy vírussal már fertőzött növény specifikus szerzett ellenállóságát ugyanazon vírus másik törzsével szemben sokáig a vírusidentifikálásban is felhasználható diagnosztikai bélyegnek tartották. Miután több vírus esetében igazolódott,

hogy a keresztvédetség nem csak vírustörzsek, hanem rokon fajok, pl. a TMV és ToMV között is tapasztalható, más esetben pedig vírustörzsek között sem lép fel (FULTON, 1982), a keresztvédetségi teszt jelentősége a vírusidentifikálásban kétségessé vált. A jelenség azonban kiinduló pontja lett a gyengített vírustörzsekkel végzett és a gyakorlatban is alkalmazott növény-immunizálásnak a paradicsomon és a paprikán valamint a vírusicéntől származtatott transzgenikus rezisztencia kialakításának és kutatásának (FRASER, 1998; MILLER és HEMENWAY, 1998). A molekuláris kutatások oksági összefüggést tártak fel a keresztvédetség jelenség és a géncsendesítés (gene-silencing) mechanizmus között (RATCLIFF et al., 1999).

Differenciálás a terjedési mód és a fennmaradás szerint

Minden paprikapatogén tobamovírus különböző forrásokból (beteg növény szövetnedve, öntözővíz, szennyezett eszközök, talaj) egészséges növényekre sérüléseken keresztül könnyen átvihető (EDWARDSON és CHRISTIE, 1997). A horizontális terjedést segítő specifikus rovarvektoraik nem ismertek, de a mechanikai sérüléseket okozó állatok (pl. rágó szájszervű rovarok, madarak) és az ember jelentős szerepet töltenek be a terjedésben (BROADBENT, 1976). Erősen kötődnek a talajkolloidokhoz (BLANCO-SANCHES et al., 1986). Kimutathatók a felszíni álló- és folyóvizekből (JURETIC et al., 1986), felhőkből és a ködből (CASTELLO et al., 1995). CASTELLO et al. (1999) ToMV-specifikus szekvenciákat kimutattak glaciális jégből. Újabb kutatások szerint a PMMoV fertőzőképesen fennmarad a paprikát tartalmazó ételekben és koncentrációdik az emberi székletben (ZHANG et al., 2006).

A tobamovírusok vertikálisan (generációról-generációra) terjednek a fertőzött növények vegetatív szaporító képleteivel (gumó, hagyma, hagymagumó, rhizómák, dugványok stb.). Maggal történő átvitelük növényfaj(genotípus)-vírusfaj(izolátum) kombináció szerint változó. A TMV, a ToMV és a PMMoV esetében a paprikán több szerző magátvitelt mutatott ki (SZIRMAI, 1941; DEMSKI, 1952; MCKINNEY, 1952), míg ezt mások nem tapasztalták (MOLNÁR ÉS TÓBIÁS, 1979). Patológiai és immunológiai vizsgálatok igazolták, hogy a fertőzött paprika vetőmagjának felületén tobamovírusok fertőzőképes virionjai találhatóak (RAST és STIJGER, 1987; BECZNER et al., 1993; TAKEUCHI et al., 1999). Ez esetben a vetőmag passzív vírushordozó és a csíranövény mikrosérüléseken át fertőződhet. Valódi magátvitelt, azaz tobamovírusok bejutását a fertőzött paprika magjának embriójába, majd replikációját a csíranövényben kísérletekkel eddig nem igazolták. Tobamovírusokkal fertőzött paprika pollenjének szennyeződését infektív vírussal az irodalomban először mutattuk ki (SALAMON és KASZTA, 2000)

Differenciálás az ökostátusz (ecological niche) alapján

A növényvírusok „ökológiai” csoportokba sorolásának gondolatát HARRISON (1981) vetette fel, aki kultúrnövényekhez alkalmazkodott („culpad” = cultivated plant adapted) és vadon élő növényekhez alkalmazkodott („wilpad” = wild plant adapted) „ökológiai” csoportokat különböztetett meg. HORVÁTH (1984d) szerint több vírus, pl. a CMV, mindkét kategóriába sorolható, ezért egy harmadik ökocsoport felállítását javasolja „cul-wilpad” néven. A csak kultúrnövényekről ismert PMMoV, PaMMV és BePMV ezek szerint „culpad”, míg a TMV, a ToMV és a TMGMV „cul-wilpad” vírusoknak tekinthetők. Az ObPV „culpad” vagy „wilpad” vírusként történő megítélésére az 5. Megvitatás c. fejezetében térünk ki.

GIBBS (1983), BOS (1999b) és HULL (2002) szerint a vírusökológiának azokat a tényezőket kell vizsgálnia, amelyek adott környezetben a vírus viselkedését és a víruspopuláció fennmaradását (túlélését) meghatározzák. Az ICTV által elfogadott fajdefiníció szerint a vírusfajok saját ökológiai „niche”-t (ökológiai helyet) foglalnak el. A

tobamovírus fajokat megkülönböztető saját ökostátusz¹ részletesebb jellemzését az újabb fajleírások sem tartalmazzák (ZAITLIN, 2000²; GIBBS, 2003).

2.2 *Capsicum* - Tobamovirus gazda-parazita kapcsolatok

2.2.1 A *Capsicum* (paprika) nemzetség – taxonómia és modernkori domesztikáció

A burgonyafélék (*Solanaceae*) családjához tartozó paprika (*Capsicum*) nemzetség fajtái lágyszárú, egyéves, a trópusokon évekig tenyésző növények. Többségük géncentruma Közép- és Dél-Amerika, de a *Capsicum annuum* primitív változatait (var. *aviculare*) vadon az USA déli államaiban is megtalálták (ESHBAUGH, 1993; BOSLAND, 1996). ESHBAUGH (1993) 25 *Capsicum* fajt ismer el (3. táblázat). A nemzetség az utóbbi években Braziliában felfedezett három új fajjal bővült (*C. pereirae*, *C. friburgense*, *C. hunzikerianum*, BARBOZA et al., 2005), azonban a fajok száma részben a taxonómiai revideálások részben az új felfedezések következtében napról-napra változik (CSILLÉRY, 2006).

Régészeti leletek, botanikai gyűjtések és etnobotanikai kutatások igazolták, hogy a dél-amerikai civilizációk Amerika felfedezését évezredekkel megelőzően öt *Capsicum* fajt (*C. annuum*, *C. baccatum*, *C. chinense*, *C. frutescens* és *C. pubescens*) domesztikáltak (cf. ANDREWS, 1984; ESHBAUGH, 1993; BOSLAND, 1996; PICKERSGILL, 1988, 1997). Fajkeresztezők, morfológiai, citogenetikai és molekuláris genetikai összehasonlító vizsgálatok alapján kétséges a *C. annuum* és a *C. frutescens* különböző fajokhoz történő osztályozása (ESHBAUGH, 1993). A kultúrába vont fajok közül világszerte főként a *C. annuum* változatait termesztik, amelyek variabilitása - különösen a bogyók kvantitatív és kvalitatív tulajdonságait tekintve - óriási (BOSLAND, 1996).

A friss és konzervált paprikabogyó táplálkozási értékének felismerésével, a paprika „világfűszerként” történő hasznosításával, de különösen a skorbut ellen hatásos aszkorbinsav (C-vitamin) szegedi paradicsomalakú paprika bogyójából történő tisztítása után (1932, Szent-Györgyi Albert, Nobel díj, 1937) a paprikák domesztikálásának új korszaka kezdődött. A tervezett nemesítéssel felgyorsított modernkori domesztikálás, amelyben magyar növénynemesítők és genetikusok³ szerepe kiemelkedő, indukálta a paprikanövény sokirányú kutatását. A világ különböző pontjain speciális igényeket kielégítő fajtatípusok alakultak ki és a világ számos pontján létesültek a kutatást és a nemesítést egyaránt segítő *Capsicum* géngyűjtemények. A 70-es évektől rendszeresek a nemzetközi paprika konferenciák (Eucarpia Capsicum Meetings, National Pepper Conference). A gyors információcserét szolgálta a Capsicum Newsletter⁴ címen indított folyóirat. BOSLAND (1995) közzétette a paprika szakirodalmának bibliográfiáját, és a paprikáról számos monográfia készült (ANDREWS, 1984; DeWITT és BOSLAND, 1996, BOSLAND és VOTOVA, 1999). Utóbbi művek sorában előkelő helye van a magyar szerzők által írt „The Paprika” c. monográfiának (SOMOS, 1984).

¹ Ökostátusz = „az a térhez is köthető biológiai funkció, amit adott faj a biocönózisban betölt”. Biocönózis = életközösség, az ökoszisztéma biotópjában élő egyedek, illetve populációk tartósan fennmaradó, szervezett társulása a kölcsönhatásokkal együtt.

² ZAITLIN (2000) a legjobban tanulmányozott tobamovírusról, a TMV-ről „Ecology and control” cím alatt az alábbiakat írja: A vírus mindenütt ismert, ahol dohányt termesztenek és gazdasági szempontból a dohány egyik legfontosabb vírusának tartják. A rovarok szerepe nem jelentős a terjedésben A vírussal szemben a növényváltás és növényegészségügyi intézkedések adnak védelmet; ellenálló fajták a mesterséges szárítású és a burley típusú dohányok között egyaránt találhatóak (a szerző fordítása).

³ Obermayer Ernő, Kormos Imre, Angeli-Lambert, Somos András, Szalva Péter, Andrásfalvy András, Zatykó Lajos, Csilléry Gábor, Kapeller Károly, Márkus Ferenc, id. és ifj. Kovács János, Sági Zsolt, Moór Józsefné, Gyúrós János, Ledóné Darázsai Hajnalka, Huszka Tibor, Somogyi György, Somogyi Norbert, Venczel Gizella

⁴ A 23 évfolyamot megért folyóirat 2004-ben megszűnt.

3. táblázat

Capsicum nemzetség fajai és géncentrumaik (ESHBAUGH, 1993) nyomán módosításokkal¹

CAPSICUM	Új-világi elterjedés
<i>annuum</i> L.*	Kolumbiától Északra az USA déli részéig
<i>baccatum</i> L.*	Argentína, Bolívia, Brazília, Paraguay, Peru
<i>buforum</i> Hunz.	Brazília
<i>campylopodium</i> Sendt.	Dél-Brazília
<i>cardenasii</i> Heiser et Smith	Bolívia
<i>chacoense</i> Hunz.*	Argentína, Bolívia, Paraguay
<i>chinense</i> Jacq.*	Latin –és Dél-Amerika
<i>coccineum</i> (Rusby) Hunz.	Bolívia, Peru
<i>cornutum</i> (Hiern) Hunz.	Dél-Brazília
<i>dimorphum</i> (Miers) O.K.	Kolumbia
<i>dusenii</i> Bitter	Dél-Kelet Brazília
<i>eximium</i> Hunz.*	Argentína, Bolívia
<i>glapagoensis</i> Hunz.	Ecuador
<i>geminifolium</i> (Dammer) Hunz.	Kolumbia, Ecuador
<i>hookerianum</i> (Miers) O.K.	Ecuador
<i>lanceolatum</i> (Greenm.) Morton et Standley	Mexikó, Guatemala
<i>leptopodum</i> (Dunal) O.K.	Brazília
<i>minutiflorum</i> (Rusby) Hunz.	Argentína, Bolívia, Paraguay
<i>mirabile</i> Mart ex. Sendt	Dél-Brazília
<i>parvifolium</i> Sendt.	Kolumbia, Észa-Kelet Brazília, Venezuela
<i>praetermissum</i> Heiser et Smith*	Dél-Brazília
<i>pubescens</i> Ruiz et Pav.	Latin- és Dél-Amerika
<i>scolnikianum</i> Hunz.*	Peru
<i>schottianum</i> Sendt.	Argentína, Dél-Brazília, Dél-Kelet Paraguay
<i>tovarii</i> Eshbaugh, Smith et Nickrent	Peru
<i>villosum</i> Sendt.	Dél-Brazília

¹ Megjegyzések: ESHBAUGH javaslata alapján a *C. anomalum*, *C. breviflorum* és *C. ciliatum* fajok a táblázatban nem szerepelnek, a *C. flexuosum* Sendt. Hunziker szerint a *C. schottianum* változata. A *C. frutescens* L. taxonómiai státusza eldöntendő. Egyesek szerint elkülönülő faj, míg mások a *C. chinense* fajhoz sorolják. A *C. eximium* var. *tomentosum* Eshbaugh & Smith olyan mértékben elkülönül, hogy faji státuszt kaphat. A táblázatban kövér betűkkel a termesztett fajokat emeltük ki. *-gal jelöltük azokat a fajokat, amelyek tobamovírus fogékonyságáról és/vagy rezisztenciájáról irodalmi adatokat találtunk.

Közzétették a paprikáról ismert gének teljes listáját (DASKALOV és POULOS, 1994). A Solgenes program keretében készül a paprika géntérképe (PAUL et al., 1994; LEFEBRE et al., 1997; MUELLER et al. 2005). A paprika gének szekvencia adatai a Sol Genetics Network (SGN) weblapján (<http://sgn.cornell.edu>) találhatóak. A vírusrezisztencia génekre vonatkozó ismereteket KANG et al. (2005) foglalták össze.

Az intenzív paprikanemesítésnek és kutatásnak köszönhetően felgyorsult modernkori domesztikáció a sikerek mellett világszerte új problémák forrásává is vált. A termesztést és a nemesítést is egyre súlyosabban érinti a génbázisok szűkülése és a paprika patoszisztémák gyors megváltozása (VELICH, 1982).

2.2.2 Tobamovírus fogékonyság és ellenállóság a paprika (*Capsicum*) nemzetségben

A vírusfogékonyság -és ellenállóság értelmezése a növény-vírus kapcsolatok típusai szerint

A növények kórokozókval és a fertőző betegségekkel szembeni fogékonysága és ellenállósága (rezisztenciája) a növénykórtanban mindig is definiálási, értelmezési és megítélési viták kereszttüzében állt (GOODMAN et al., 1991)¹. A fogékonysággal (susceptibility) és ellenállósággal (resistance) kapcsolatos fogalmak és értelmezések részben az ismeretek bővülése, részben az újraértelmezések miatt is időről-időre változnak. Az inkompatilis növény-kórokozó kapcsolaton alapuló növényi ellenállóságot pl. a szakirodalom korábban gyakran mint „immunitást” említette, amit ma egyre szélesebb körben vált fel az „extrém ellenállóság” vagy a „nem-gazda rezisztencia” (non-host resistance) kifejezés. Különböző növény-baktérium, növény-gomba és újabban növény-vírus kapcsolatokban a kórokozókval szembeni ellenállóság újabb formájáról számoltak be magyar kutatók, amelyet általános védekezési rendszernek (general defense system = gds) neveztek el (SZARKA et al., 2002). A nem rassz-specifikus „gds” értelmezése a növény-vírus kapcsolatokban még nem kellően tisztázott. HULL (2002) pl. ugyanezt a fogalmat a géncsendesítéssel (gene silencing, cf. DAWSON, 1996) kapcsolatban említi. Fentiek miatt a „gds”-t, mint rezisztencia típust, ebben a munkában nem elemezzük.

A fogékonyság és az ellenállóság terminológiáját és értelmezését illetően elsősorban a növényvirológiai szakirodalomra támaszkodtunk azzal a megszorítással, hogy a fogalmakat csak a száras (gyökérrel és leveles szárral rendelkező) növények és a vírusok kapcsolataira vonatkoztatjuk (WELSH, 1961; COOPER és JONES, 1983; FRASER, 1986; KEGLER és KLEINHEMPEL, 1987; HORVÁTH, 1993; BOS, 1999b; HARRISON, 2002; HULL, 2002; 4. táblázat; 3. ábra). MATTHEWS (1991) szerint a fogékonyság és a rezisztencia a különböző növény-vírus kombinációkban a gazdanövény válaszreakcióiban és a vírusreplikációban (együttesen a vírus patogenezisben) követhető nyomon (4. táblázat).

A növények és a vírusok közötti kapcsolatokat a fertőzési folyamat eredménye szerint HORVÁTH (1984d) kompatibilis és inkompatibilis kapcsolatra osztja, és rámutat a lokális gazda-vírus kapcsolatok átmeneti jellegére. A paprika-tobamovírus kapcsolatokban

¹ Az eltérő álláspontokról GOODMAN, KIRÁLY és WOODS (1991) amerikai, magyar és angol növénypatológusok magyar nyelvű könyvükben az alábbiakat írják (10. fejezet. Kórélletani összehasonlító analízis – rezisztencia): „A növénykórtani irodalom tanúsága szerint a szakemberek véleménye számos kérdésben eltér. Ilyen kérdések pl. a toxinok, a receptorhelyek .stb. A betegségrezisztencia kérdésében azonban még ezeknél is jelentősebbek a nézetkülönbségek ... Kérjük az olvasókat, hogy úgy tekintsék ezeket a véleménykülönbségeket, mint annak bizonyítékát és következményét, hogy az információk olykor nem eléggé pontosak, illetve hogy a növénykórtani kutatók véleményeltérését hűen mutattuk be”.

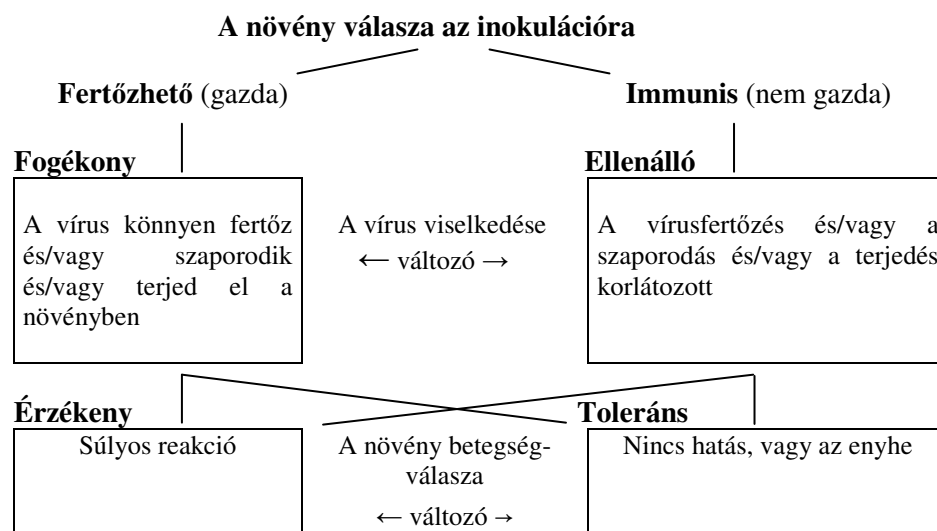
4. táblázat

A növények válaszáinak típusai a vírusinokulációra (MATTHEWS, 1991; cit. HULL, 2002 nyomán, módosítva)

Nem fertőzhető (immunis, nem gazda)
A vírus nem szaporodik sem a protoplasztokban, sem az intakt növény sejtjeiben, még az első inokulált sejtben sem. A fertőző vírus kicsomagolódhat, de vírusgenom utódok nem képződnek.
Fertőzhető (gazda)
<i>Rezisztens (extrém hiperszenzitivitás).</i> A vírusszaporodás az első fertőzött sejtekre korlátozódik a vírus általt kódolt mozgásért felelős fehérje hatástalansága miatt <i>szubliminális fertőzést</i> okozva. A növények szabadföldi rezisztenciát mutatnak.
<i>Rezisztens (hiperszenzitivitás)</i> A fertőzés a gazda válaszreakciója miatt az elsőként fertőzött sejt körüli sejtek zónájára korlátozódik, amit általában látható nekrotikus lokális léziók kialakulása kísér. A növények szabadföldi rezisztenciát mutatnak.
<i>Fogékony (a vírus szisztemizálódik és szaporodik)</i> <i>Érzékeny (sensitive)</i> A növények súlyosabban vagy enyhébben megbetegednek <i>Toleráns (tolerant)</i> A növényen nincs megnyilvánuló hatás vagy az jelentéktelen, a fertőzés látens

3. ábra

A növények vírusinokulációval és vírusfertőzéssel szembeni válaszreakcióját leíró fogalmak illusztrálása COOPER és JONES (1983) nyomán módosítva



a lokális kapcsolatokat HORVÁTH (1984a) az inkompatibilis kapcsolatok között említi. BARACSI (1999) a lokális gazda-vírus kapcsolatokat szintén inkompatibilis kapcsolatként értelmezi. Tekintettel arra, hogy a lokális gazda-vírus kapcsolatokban a növény a vírussal fertőzhető, azaz gazda (HULL, 2002), ezeket a kapcsolatokat az értekezésben, mint a növény és a vírus közötti korlátozott, „lokális kompatibilitást”, míg a szisztemikus növény-vírus kapcsolatokat, mint „teljes kompatibilitást” értelmezzük.

A paprika (Capsicum) - tobamovírus kapcsolatok jellemzése

Teljes kompatibilis kapcsolatok

A szisztemikus tobamovírus fertőzések a termesztett paprikákon általában az adott patodém (fajta vagy genotípus) és a fertőző vírus közötti teljes genetikai kompatibilitás következményei.

A TMV, a ToMV és a TMGMV infekciókra a levelek világoszöld-sötétzöld mozaik foltossága, a bogyók deformálódása és elszíneződése valamint a növény növekedésének gátlása a legjellemzőbb betegségi tünetek (CONTI és MARTE, 1983; BLACK et al., 1991, GREEN és KIM, 1994; EDWARDSON és CHRISTIE, 1997; PERNEZNY et al., 2003). A PMMoV, a PaMMV és a BePMV a levélzeten csak enyebb foltosodást, a bogyókon azonban súlyos szimptomákat idéznek elő (WETTER et al., 1984; FELDMANN és OREMIANER, 1972). A paprika levélzetén kialakuló legjellemzőbb tünetek alapján a fenti tobamovírusok fertőzésére visszavezethető betegséget a „paprika zöld mozaik betegségének” neveztük el (SALAMON, 1985). A betegség által okozott termésveszteség a fertőzött töveken 30-60 %-os, de jelentős a minőségi romlásból eredő veszteség is (TÓBIÁS et al., 1978). Az üzemi gazdasági kár a növényállomány fertőzött egyedeinek számától és a betegségi tünetek manifesztációjától függ. Utóbbit nagymértékben befolyásolja a növények kora és kondíciója a fertőzés idején (SOLYMOSSY, 1958; FELDMAN et al., 1969).

A zöld mozaik szindróma nem minden tobamovírus fertőzésére jellemző. A TMV és a ToMV egyes törzsei a paprika levelein élénksárga mozaik foltosságot („aukuba mozaik”) idéznek elő (PALUDAN, 1980; WETTER, 1984). A „sárga törzsek” a közönséges törzsek mutánsai, amelyek RAST és MAAT (1988) szerint izolálhatók a zöld mozaikfoltosságot mutató leveleken időnként megfigyelhető sárga foltokból. Ezekhez a mutáns TMV és ToMV törzsekhez hasonlóan élénksárga mozaik tünetet idéz elő a paprikán az ObPV is (ToMV-Ob, CSILLÉRY és RUSKÓ, 1980; CSILLÉRY, 1982). Zöld mozaik betegséget okozó ObPV variáns azonban nem ismert.

Szisztemikus tünetmentes (látens) spontán tobamovírus fertőzésről a paprikán STOIMENOVA (1995) számolt be Bulgáriában a Holland Bruinsma Wonder fajtán. Az izolált vírus (P101 izolátum) a PaMMV törzsének bizonyult (STOIMENOVA és YORDANOVA, 2003; RUÍZ DEL PINO et al., 2003). SINGH és THAKUR (1977) szerint a *C. annuum* cv. Perennial a TMV-vel szemben erős toleranciát mutat, amelyet CSILLÉRY (1982) is igazolt. KAZINCZI et al. (2003) 14 paprika nemesítési tétel között két olyan genotípust találtak, amelyek fertőződtek a TMV-vel, de sem lokális, sem szisztemikus tüneteket nem mutattak.

Olasz és Japán kutatók a fogékony paprika fajtákon látens fertőzést okozó gyengített mutáns tobamovírusokat szelektáltak (TANZI et al., 1986; YMAZAKI et al., 1986). ICHIKI et al. (2005) és YOON et al., (2006) a PMMoV súlyos tüneteket okozó izolátumából molekuláris módszerrel (irányított mutációval) a paprikán tüneteket nem okozó mutánsokat állítottak elő.

Természetes tobamovírus fertőzést a *C. annuum* fajon kívül más paprika fajról az utóbbi évekig nem írtak le (a *C. frutescens*-re vonatkozó korai adatok – a taxonómiai revíziókból következtethetően – feltehetően a *C. annuum*-ra vonatkoztak). ADKINS et al. (2001) szerint a PMMoV a *C. chinense*, *C. frutescens* és a *C. annuum* díszpaprikaként termesztett változatain lépett fel Floridában. Tobamovírusok spontán fertőzését a paprika géncentrumokban vadon élő *Capsicum* fajok populációin ismereteink szerint eddig nem tanulmányozták.

Mesterséges fertőzési kísérletekkel a *C. annuum*-on kívül teljes kompatibilitást (szisztemikus tobamovírus fogékonyságot) állapítottak meg az alábbi paprika fajokon különböző tobamovírus-paprika kombinációkban¹: *C. cardenasii*, *C. chachoense*, *C. eximium*, *C. frutescens*, *C. baccatum*, *C. praetermissum* és *C. pubescens* (RAST, 1982; HORVÁTH, 1983; 1984c; 1986a, b; BRUNT et al., 1996; GREEN és KIM, 1994; EDWARDSON és CHRISTIE, 1997).

Lokális („korlátozott”) kompatibilis kapcsolatok

A lokális kompatibilis növény-vírus kapcsolatokban a spontán fertőzések a növények általános megbetegedésének hiányában rendszerint elkerülik a figyelmet. Kivételek az olyan fertőzések, amelyekre jellemző ugyan a vírus szöveti vagy szervi lokalizálódása, de a tünetek súlyosak és a fertőzések gazdasági károkat is okoznak / pl. csak a gumóra korlátozódó TNV fertőzés esetén ismert súlyos elhalásos tünetek a burgonyagumón, HOOKER, 1986 /. A fentiekből következően a legtöbb lokális gazda-vírus kapcsolat a kísérleti gazdanövénykörök tanulmányozása és mesterséges fertőzések nyomán vált ismertté. A különböző növény-vírus kombinációkban eddig megismert sok száz lokális gazda-vírus kapcsolatra tekintettel (BRUNT et al. 1996) feltételezhető, hogy a természetben a lokalizált fertőzések sokkal gyakoribbak lehetnek, mint amelyekről tudomásunk van. A *Capsicum* nemzetségben a tobamovírusokkal szembeni, a nemesítésben is hasznosított ellenállóság a növények genetikai meghatározottságú, víruslokalizációt eredményező védekezési mechanizmusaihoz kapcsolódik, és a jelenlegi ismeretek szerint két rezisztencia génre vezethető vissza.

Az *L* rezisztencia gén felfedezése (az L^1 és L^2 allélek)

A paprika és a tobamovírusok közötti lokális kompatibilitást víruspatológiai vizsgálattal fedezte fel a 30-as 40-es évek vezető amerikai virológusa, FRANCIS O. HOLMES. HOLMES (1934) mesterséges fertőzési kísérlettel kimutatta, hogy a *C. frutescens* cv. Tabasco paprikafajta inokulált levelein a TMV nekrotikus lokális léziók kialakulását követően gyors levélhullást okoz és a vírus a növényben nem szisztemizálódik. Szisztemikusan fogékony fajtaival végzett keresztezés után az utódgenerációk fogékonyságát és ellenállóságát tanulmányozva megállapította, hogy a Tabasco fajta TMV-t lokalizáló tulajdonsága domináns mendeli bélyeg. A vírusfertőzést lokalizáló reakciót meghatározó gént „L” betűvel jelölte, míg a fogékonyságért felelős recesszív allélt „l” betűvel szimbolizálta. Felismerte, hogy ez a reakció analóg a *N. glutinosa*-TMV kapcsolatban tapasztalt reakcióval, amely a *N. glutinosa* esetében is egyetlen domináns génnel (N gén, recesszív allélpárja n) öröklődő tulajdonságnak bizonyult (HOLMES, 1938). Az L-gén felfedezése mérföldkőnek tekinthető nem csak a paprika és a tobamovírusok közötti gazda-parazita kapcsolatok

¹ A felsorolásban nem tünettük fel azokat a fajokat (pl. *C. testiculatum*, *C. minimum*), amelyek tobamovírus fogékonyságára hivatkozást találtunk, de ESHBAUGH (1993) fajlistáján nem szerepelnek. Ezek a fajnevek a botanikai fajok szinoním nevei. A szinoním néven említett paprikák utólagos taxonómiai azonosítása fajtanév vagy az eredeti vetőmag források hiányában gyakran nem lehetséges vagy ha a vetőmag hozzáférhető, az azonosítás kitermesztést és botanikai növényhatározást igényelne.

kutatásában, hanem a vírusrezisztencia nemesítésben is, mivel ismereteink szerint az L gén volt az első leírt növényi vírusrezisztencia gén.

HOLMES (1937) később a *C. annuum* cvs. Long Red Cayenne és Sunnybrook Cheese fajták TMV-vel inokulált egyedein szintén lokális nekrozist és levélhullást tapasztalt, azonban ezek a növények gyakran mutattak szár és csúcshalást¹. Keresztezésekkel és patológiai-genetikai utódelemzésekkel megállapította, hogy a Tabasco fajtától eltérő, nem teljes (imperpekt) rezisztencia is domináns bélyeg. Az újabb rezisztencia gént „I³”-vel jelölte. A két rezisztens genotípus (L és I¹) keresztezésével és az utódnemzedékek vizsgálatával kimutatta, hogy a reakció-fenotípus alapján megkülönböztethető rezisztens válaszreakciók ugyanazon gén alléljei által meghatározott tulajdonságok. A TMV rezisztencia allélek dominancia viszonya így L>I¹>I irányúnak bizonyult. A TMV rezisztencia allélek Holmes jelöléseivel kerültek be LIPPERT et al. (1965) paprika génlistájába és ezeken az allél szimbólumokon csak az L lokusz újabb alléljeinek felfedezésével a 80-as években változtattak. BOUKEMA (1980) javaslatára az I, az I¹ és az L alléljelzéseket L⁺, L¹ és L² szimbólumokra cserélték (DASKALOV és POULOS, 1994).

Az L3 allél

Az L¹ és az L² allélek által meghatározott rezisztenciát áttörő „TMV-P8” törzs felfedezése után (RAST, 1977) ezzel a törzssel szemben is ellenálló (hiperszenzitív) tételeket találtak a *C. chinense* fajban. BOUKEMA (1980) genetikai elemzéssel kimutatta, hogy az új „TMV” törzssel szembeni rezisztencia az L gén újabb alléljéhez kapcsolódik, amelyet L³ jelzéssel jelölt. Az L³ allél dominánsnak bizonyult az L⁺, L¹ és az L² allélekkel szemben, de heterozigóta növényekben nem biztosított abszolút ellenállóságot.

BOUKEMA vizsgálataitól függetlenül CSILLÉRY (1982) a *C. chinense* PI 159236 paprika vonal TMV ellenállóságára a fertőzött növényeken kialakuló szokatlanul kisméretű léziók miatt figyelt fel. Igazolta, hogy a kis léziókkal reagáló növények ellenállóak az L¹ allél által biztosított ellenállóságot áttörő ToMV-Ob izolátummal szemben. BOUKEMA eredményeinek ismeretében tisztázódott, hogy a magyar nemesítő az L³ allélt még annak leírása előtt vitte át a *C. annuum* fajba. CSILLÉRY és RUSKÓ (1980b) szoros genetikai kapcsoltságot mutattak ki az L³ allél és az antocianin képződést felelős gén allélje (al⁺) között.

Az L³ allél felfedezésével nyilvánvalóvá vált, hogy a paprikapatogén tobamovírusok az L lokusz különböző alléljeivel rendelkező paprika genotípusokon mutatott eltérő patogenitás alapján különböző patotípusokhoz sorolhatók. BOUKEMA (1980) a nem rezisztencia törő patotípust a P₀, a csak az L¹ allélt áttörő törzseket a P₁, míg az L² allélt is áttörő törzseket a P_{1,2} patotípushoz sorolta.

Az L4 allél

Az L³ alléllal rendelkező paprikafajtákat megbetegítő tobamovírusokat a 80-as években izolálták Olaszországban és Hollandiában (BOUKEMA, 1982). A paprika levelén enyhe, de a termésen súlyos tüneteket okozó P_{1,2,3} patotípusú „TMV törzsek” a P_{1,2} patotípusú törzsekhez hasonlóan új tobamovírus faj (PMMoV, WETTER et al. (1984) izolátumainak bizonyultak. Az L³ allél felfedezése után derült ki az is, hogy a MCKINNEY (1952) által már az 50-es években izolált rezisztencia-törő „TMV” Samsun látens törzs (TMV-SL, szintén a

¹ A mai ismeretek szerint nyilvánvalóan a *C. annuum* fajhoz tartozó fajtákat HOLMES az 1930-as évek amerikai (sokáig megtevesztő) nómenklatúrájának megfelelően a *C. frutescens* fajtáiként említi. HOLMES munkája ugyanakkor példa arra, hogy a fajtanév vagy a genotípus megjelölése utólag is lehetővé teszi annak megállapítását, hogy a vírusrezisztencia vizsgálatok melyik paprika fajra vonatkoztak.

PMMoV P_{1,2,3} patotípusú variánsa (GREENLEAF, 1986). A P_{1,2,3} patotípusú PMMoV izolátumokkal szemben csak a *C. chachoense* néhány vonala reagált lokális léziókkal és bizonyult ellenállóknak (BOUKEMA, 1982; 1984). A genetikai vizsgálatok azt igazolták, hogy a *C. chachoense*-n talált különleges rezisztencia az L lokusz újabb alléljéhez kapcsolható, amelyet BOUKEMA (loc. cit) L⁴ szimbólummal jelölt. Az L⁴ allél dominánsnak bizonyult az L³ alléllal szemben. CSILLÉRY et al. (1995) kimutatták, hogy a TMV és a ToMV-Ob izolátumok által az L³ és L⁴ genotípusú paprikákon okozott léziók között nagy morfológiai különbség van. Megfigyeléseik szerint az L³ allélra a gyorsan kialakuló és pontszerű léziók jellemzők, míg az L⁴ alléllal rendelkező paprikák a fertőzésre lassabban kialakuló és nagyobb méretű léziókkal reagálnak.

Az L⁴ allél beépítése a *C. annuum* fajtákba világszerte gyors ütemben folyik. Magyarországon az első ilyen, köztermesztésbe nem került hibrid a hegyes csipős fajtacsoportba tartozó Himes F1 fajta volt. Köztermesztésben van azonban az L⁴ allélt tartalmazó, első cecei típusú hibrid, a Century F1 fajta, amelynek nemesítésében a szerző is részt vállalt. Az L⁴ allél által biztosított rezisztenciát áttörő tobamovírus az allél felfedezése óta eltelt több mint húsz évben a világ egyetlen pontján sem bukkant fel. Hollandiában ugyanakkor megfigyelték, hogy az L⁴ alléllal rendelkező hajtított paprikán P_{1,2} patotípusú tobamovírus okozott súlyos szisztemikus megbetegedést (VERHOEVEN et al., 1998). A különböző rezisztencia allélekhez kapcsolódó eltérő rezisztencia szintek jelölésére a fajtaleírásokban a Tm0 (L¹), Tm1 (L²), Tm2 (L³) és Tm3 (L⁴) jelölések találhatók, amelyek használatát az UPOV (International Union for the Protection of New Varieties of Plants) elismeri (ANONYMOUS, 1994).

Az L^{1c} és L^{1a} allélek

Az L gén alléljei által biztosított, hiperszenzitív reakción és víruslokalizáláson alapuló tobamovírus ellenállóság hőmérséklet érzékeny, 28-30 C⁰-on nem érvényesül (DAUBEZE et al., 1990; ZATYKÓ, 1980; CSILLÉRY és RUSKÓ, 1995). DAUBEZE et al. (1990) a CM 334 paprika vonalban az L¹ allélhez hasonló szintű TMV rezisztenciát (Tm0) biztosító, de magasabb hőmérsékleten is hatékony új L allélt fedeztek fel, amelyet L^{1c}-vel jelöltek.

Az utóbbi években Japán kutatók új tobamovírus rezisztencia géneket írtak le a Japánban termesztett paprikafajtákon. SAWADA et al. (2004) az L lokusz olyan alléljének azonosításáról számoltak be, amely az L¹ allélnél magasabb szintű tobamovírus ellenállóságot biztosít, mert lokalizálja a Tm0 rezisztenciát áttörő, P₁ patotípusú PaMMV-J izolátumot (HAMADA et al., 2003), és emellett a víruslokalizáció a P₀ patotípusú tobamovírusokkal szemben nem hőmérséklet érzékeny. A szerzők által L^{1a}-val jelölt új L allélre jellemző ellenállóság ugyanakkor gén-dózis és hőmérséklet érzékenynek bizonyult a PaMMV-J (P₁ patotípus) fertőzésére.

A HK rezisztencia gén

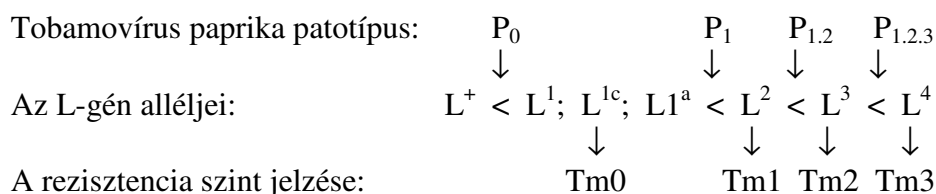
SAWADA et al. (2005) tobamovírust lokalizáló, de az L génnel nem allélikus gént írtak a Japánban termesztett „Nanbu-Ohnaga” paprikafajtán. Az új, Hk szimbólummal jelölt rezisztencia gén specifikusan lokalizálja a P₁ patotípusú PaMMV-J izolátumot 30 C⁰-on, de nem lokalizálja a vírust 24 C⁰-on és nem biztosít ellenállóságot a TMV (P₀), TMV-Ob (P₁) és a PMMoV-J (P_{1,2}) izolátumokkal szemben sem az alacsony, sem a magas hőmérsékleti tartományban.

Inkompatibilis kapcsolat

A paprikáról izolált tobamovírusokkal nem fertőzhető (= nem-gazda) patodém a *Capsicum* nemzetségben az utóbbi évekig nem volt ismert. Ilyen genotípusok lehetnek azok a paprika tételek, amelyekről KAZINCZI et al. (2003) számoltak be. Fenti szerzők három nemesítési anyagról (32. Bigyisz type, VI-57 ii 57/83 és V-12=19/98) igazolták, hogy mechanikai inokulációt követően a TMV-U1 izolátumával nem fertőződtek. Mivel ezekről a növényekről a vírust sem biotesztel, sem DAS-ELISA módszerrel nem sikerült kimutatni, mindhárom genotípust a TMV-vel szemben extrém rezisztenciával rendelkező genotípusnak tartják. Egy másik kísérletben 13 nemesítési tétel között hasonló extrém rezisztens genotípust az ObPV-vel szemben nem találtak. Az ObPV-vel végzett vizsgálat azonban nem terjedt ki a különleges TMV ellenállósággal rendelkező három genotípusra. HORVÁTH et al. (2004) később extrém rezisztens nemesítési tételeket találtak az ObPV-vel szemben is. Az extrém tobamovírus ellenállósággal rendelkező nemesítési anyagok pedigréjét, amiből következtetni lehetne az extrém rezisztencia eredetére és öröklődésére, eddig nem közölték.

A *Capsicum-Tobamovirus* kapcsolatok és a gén a génnel szemben elmélet

Flor (1971) klasszikus „gén a génnel szemben” elmélete szerint a növény-kórokozó kapcsolatokban a fogékonyság és az ellenállóság mind a növény, mind a kórokozó oldaláról genetikailag meghatározott kölcsönkapcsolat következménye. A növények az evolúció során különböző, összetett védekezési rendszereket fejlesztettek ki a specifikus kórokozók felismerésére és kizárására (KEEN, 1990). Az egyik ilyen védekezési rendszer a hiperszenzitív reakció, amelyben a növényi rezisztencia gének (R gének) termékei és a kórokozó avirulencia gének (Avr) termékei ismerik fel egymást (DARDICK et al. 1999). A rezisztencia elvesztését mind a növényi R gének, mind a kórokozó Avr génjeinek megváltozása előidézheti. A víruslokalizálással járó hiperszenzitív reakciót meghatározó *Capsicum* L gén különböző alléljeit eltérő avirulencia faktorokkal rendelkező tobamovírusok fertőzése aktiválja, melynek alapján a paprikapatogén tobamovírusok izolátumai különböző patotípusokhoz sorolhatók. (Boukema, 1982; 1984; RAST, 1988). A gén a génnel szemben elmélet érvényesülését a paprika patoszisztémákban a dominánsan öröklődő L allélek és a tobamovírus patotípusok között az alábbiakkal szemléltethetjük (SALAMON és SÁGI, 2004):

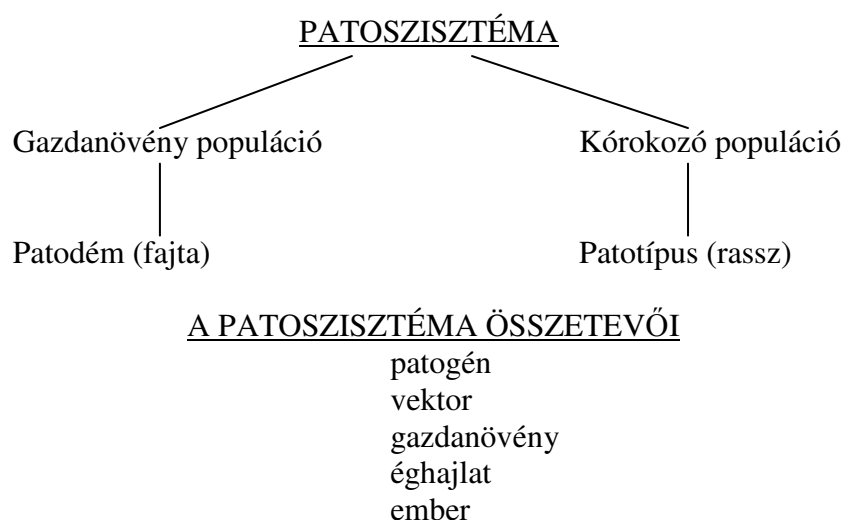


2.3 A *Capsicum-Tobamovirus* patoszisztémák kialakulása és változásai

A természetes növény-vírus patoszisztémák a földtörténeti evolúció alatt kialakult egyensúlyi rendszerek, amelyekben járványok, ha előfordul(t)nak, új egyensúlyi állapotok során keresztül maguktól „lecseng(t)nek”. Ezekről a triangulárisan (gazda-kórokozó-környezet) vázolható ökológiai rendszerekről csak keveset tudunk, amin várhatóan nagy változást hoz majd az a növényvírus biodiverzitás és ökológia program, amelyet az Egyesült Államokban Oklahoma alföldi (préri) növénytársulásaira terveztek (WREN et al., 2006).

4. ábra

A növény-kórokozó patoszisztémák elemei és összetevői ROBINSON (1976) szerint



A domesztikációval és a termesztés globalizációjával a paprika a természetes ökoszisztémákból az ember által sok irányból meghatározott és befolyásolt ökoszisztémába került, a tágabb értelemben vett agro-ökoszisztémák részévé vált. Az agro-ökoszisztémák alrendszerét képviselő kultúrnövény patoszisztémák (ROBINSON (1976, 4. ábra) inherens tulajdonsága a labilitás és a gyors változás (ANDRÁSFALVY, 1983). A paprika esetében a múlt század közepétől sokszorosan felgyorsult változások a növények oldaláról a nemesítésen és a termesztés gyakorlatán keresztül nagyrészt azonnal felmérhetők, de csak utólag követhetők nyomon a kórokozó populációk faji és fajon belüli (az ember számára legtöbbször kedvezőtlen irányú) megváltozásában.

Változások a termesztett paprika populációkban (patodémek, fajták¹)

A *Capsicum* fajok primitív alakkörei általában kis bogyót képeznek és erősen csípősek, ami összefügg azzal, hogy a magvakat a géncentrumokban a madarak terjesztik, amelyek nem érzékenyek a csípősséget okozó kapszaicinre (BOSLAND, 1996). A domesztikáció a legnagyobb hatással a paprika hasznosítási szempontból legfontosabb tulajdonságaira, a bogyó alakjára és méretére volt, de jelentős változásokat okozott a beltartalmi és agronómiai tulajdonságokban is (pl. a csípősségben és a koraiságban). A géncentrumokban végzett virológiai kutatások hiányában csak a mesterséges fertőzések eredményeire hagyatkozhatunk a nem domesztikált paprikák tobamovírus fogékonyságát illetően. Ezek a kísérletek - jóllehet eddig a *Capsicum* nemzetség fajainak csak kis részére terjedtek ki (4. táblázat) - azt igazolták, hogy a tobamovírusokkal szembeni legmagasabb szintű ellenállóság a paprika primitív alakköreiben található.

A rezisztencia-nemesítés elkezdése előtt (1950-60-as évek) szelektált kultúrfajták túlnyomó többsége TMV fogékonynak bizonyult (HOLMES, 1937; SOLYMOSY, 1958;; COOK és ANDERSON, 1959; HORVÁTH, 1969; RAST, 1982; GREEN ÉS KIM, 1994). Ebből arra következtethetünk, hogy a domesztikációval - olyan extrém esetektől eltekintve, mint az 1800-as években szelektált „Tabasco” fajta - ez a recesszív bélyeg, azaz a tobamovírus fogékonyság vált a kultúr-patodémek jellemzőjévé. A tobamovírus fogékonyság azonban csak azután válhatott a termesztést hátrányosan befolyásoló tényezővé, miután a TMV feltehetően gazdaváltással (pl. a dohányról) a paprikára került, majd a beteg paprikák magjaival és vírussal szennyezett eszközök útján emberi közvetítéssel tovább nem terjedt. A termelés koncentrációja és a vírus állandósult jelenléte járványok kialakulásához vezetett, ami természetesen már nem kerülhette el a figyelmet (SZIRMAI, 1941).

A növénynemesítés a fajta és fajkeresztezésekkel, valamint a szelekcióval a paprika olyan genotípusait és ezek olyan (re)kombinációit hozta létre, amelyek a természetben nem találhatók. A *Capsicum*-tobamovírus patoszisztémát a gazdanövény oldaláról érintő legfontosabb változást a különböző vad paprika fajokból vagy primitív alakkörökből származó domináns L rezisztencia gén /és újabban a szintén domináns Hk gén/ különböző alléljeinek egyre több fajtába történő beépítése jelentette világszerte. Csak a hazai paprika szortimentet áttekintve megállapítható, hogy a hatvanas évekig nem rendelkezünk TMV ellenálló fajtával (CSILLÉRY, 1982), míg napjainkban a magyar nemzeti fajtalistára felvett fajták kb. 30 %-a tartalmaz valamilyen tobamovírus rezisztencia allélt (Fehér, 2000). Ezek az allélek vírustörzs (patotípus) specifikus, vertikális rezisztenciát eredményezt(n)ek, és nagy szelekciós nyomást gyakorolt(n)ak a tobamovírusok populációira.

Változások a tobamovírusok fajspektrumában a paprikán

A tobamovírus fajok feltehetően monofiletikus eredetűek és a növényvilág evolúcióját követve specializálódtak különböző növénysoportokhoz (GIBBS, 1980; LARTEY et al., 1996; GIBBS, 1999; LOVISOLO et al. 2003). A paprikáról eddig kimutatott tobamovírusok a specializálódás szerint a „*Solanaceae*” patogén tobamovírusokhoz (1-es alcsoport) tartoznak.

¹ A termesztett paprikák többsége *C. annuum* fajta vagy változat. Más, elsősorban Dél-Amerikában termesztett domesztikált fajok nemesítéséről és populációik patodém összetevőiről az ismeretek nagyon hiányosak, de valószínűleg a *C. annuum*-hoz hasonlóak.

A TMV vad *Nicotiana* fajokhoz adaptálódott (HOLMES, 1950), a ToMV igazoltan előfordul a dél-amerikai géncentrumokban vad *Lycopersicon* fajokon¹ (SOLER et al., 2005), míg a TMGMV az Amerikából származó, fásodó, Európában és Ausztráliában is meghonosodott *Nicotiana glauca*-n terjedt el (BALD és GOODCHILD, 1960; GIBBS, 1999). A TMV, a ToMV és a TMGMV gazdaváltása („átugrása”) a paprikára először különösen fontos paprikatermesztési régiókban, közel azonos időben mehetett végbe a világ különböző pontjain (Bulgária, Magyarország, USA, Távol-Kelet). A PMMoV-nek és a PaMMV-nek a paprikán kívül más természetes gazdanövényei és forrásai nem ismertek. Ezek a vírusok, de különösen a PMMoV, lehetnek azok a paprikához nagy mértékben adaptálódott tobamovírusok, amelyek a géncentrumok vad *Capsicum* populációin is előfordulhatnak és feltehetően ember közvetítette kijutás után terjedtek el világszerte. Ezt valószínűsíti, hogy a PMMoV virulens patotípusaival szemben csak egy paprika faj (*C. chacoense*) néhány vonalán mutattak ki ellenállóságot (BOUKEMA, 1984). Az Argentínából ismert BePMV-t a paprikán kívül eddig csak tojásgyümölcsről izolálták Hollandiában (A1 izolátum, TÓBIÁS et al, 1982), ahová feltehetően szennyezett paprika maggal került. Az ObPV csak Magyarországon fordult elő paprikán és a közel azonos időben felfedezett néhány fertőzést kivéve (CSILLÉRY és RUSKÓ, 1980b) a 70-es évek vége óta újabb felbukkanását nem állapították meg. Az értekezés egyik célja, hogy vizsgálataink eredményei alapján igazoljuk, hogy a) az ObPV endemikusan fordul elő Magyarországon a flórában honos évelő ebszőlőcsucson, amely rezervoár gazdanövénye a vírusnak és b) az ObPV gazdanövény váltása („átugrása” a paprikára) feltehetően összefüggött az ebszőlőcsucssal végzett hazai domesztikálási próbálkozásokkal.

Az ember szerepének megváltozása

A domesztikáció, a növénynevelés és a termesztéstechnológia révén az ember a növényi oldalról létrehozója, fenntartója és tervező alakítója a paprika patoszisztémáknak. A kórokozók és betegségek oldalát tekintve azonban legtöbbször követő-szabályozó szerepre kényszerül. A paprika-tobamovírus patoszisztémákban a „patodémek” kiválasztása (akár tudatosan, akár akaratlanul) döntően meghatározza a kórokozók lehetséges körét, a tobamovírusok esetében pedig maga az ember vált a legfontosabb vírusvektorrá. A globalizált világban a tobamovírusok akár földrészek közötti gyors szóródását a vetőmaggal kísérletek igazolják (pl. BECZNER et al., 1997). Az élelmiszerek (pl. a paprika bogyók, a paprikát tartalmazó termékek) kereskedelme, a szennyezett járművek és eszközök, a kontaminált használati tárgyak kétséget kizáróan fontos szerepet kapnak a tobamovírusok globális terjedésében. Az utóbbi években vált ismertté, hogy az ember nem csak külső kontaminációk révén válik „tobamovírusok hordozóvá”, hanem az elfogyasztott táplálékokkal a szervezetén belül is „szennyeződik”. ZHANG et al., (2006) emberi széklet mintákból különböző növényvírusokra jellemző nukleinsav szakaszokat mutattak ki. Ezekben a mintákban a PMMoV nagy koncentrációban, fertőzőképesen volt jelen. A fentieket figyelembe véve nem lehet túlzó az a következtetés, hogy a paprika-patoszisztémákban a tobamovírusok fellépésének és ezt követő elterjedésének legfőbb okává az emberi tevékenység vált.

¹ A paradicsom (*Lycopersicon*) nemzetség fajait újabban molekuláris genetikai bizonyítékok alapján Linné-hez visszatérve ismét a *Solanum* nemzetséghez sorolják (Spooner et al., 2005).

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1 Anyag

3.1.1 Növények, üvegházak és fitotronok

Vírusokkal fertőzött növények

A vírusokkal spontán fertőzött növényeken a tüneteket feljegyeztük, azokról fotódokumentációt készítettünk. Vírussal fertőzött Ob jelzésű cserepezett paprika növényeket Dr. Csilléry Gábor bocsátott rendelkezésünkre 1979 nyarán. Az „Sd” jelzésű beteg *Solanum dulcamara* növény a Gyógynövény Kutató Intézet (Budakalász) kísérleti klónjairól származott, melyet 1974-től a vizsgálatokig Dr. Beczner László ápolt. Virologiai vizsgálathoz az ország több pontján, vadon élő *S. dulcamara* növényekről gyűjtöttünk levélmintát vagy dugványokat. A kontaminációk megelőzésére a növényeket kifordított nylon zacskóval fogtuk meg és a hajtásokat külön-külön becsomagolva szállítottuk laboratóriumunkba.

Tesztnövények

A tesztnövényként felhasznált növények latin nevét és magjainak származását az ii. „A kísérletekhez használt tesztnövények” pont alatt tüntettük fel. A növényvirológiában széleskörűen alkalmazott tesztnövények magjai (a donor megjelölése nélkül említett növényfajok és fajták) az MTA Növényvédelmi Kutatóintézetéből, nagyrészt Beczner László, Horváth József, Molnár Béláné és Szirmai János kollekcijából származtak. A botanikus kertekből és gyűjteményekből származó növények esetében, ha kétség merült fel a faj vagy a fajta azonosságát illetően, botanikus és növénynemesítő kollégák (Andrásfalvy András, Péntes Antal, Solymosy Péter, Szatala Ödön) segítségét vettük igénybe a meghatározáshoz.

A kísérletekhez saját gyűjtésű paprikákat is felhasználtunk. Saját gyűjtésű paprikák alatt azokat a főként díszpaprika nemesítési alapanyagként kiválasztott növényeket vagy terméseket értjük, amelyeket dísznövény üzletekben és kiskereskedelmi piacokon vásároltunk, vagy magánszemélyektől kaptunk. Ezek a növények (termések) általában heterogén paprika populációkban fordultak elő, eredetük legtöbbször nem volt kideríthető. A saját gyűjtésekből származó paprikákat üvegházban neveltük, jellemeztük és róluk magot fogtunk.

Üvegházak, fitotronok

A kísérleti növényeket üvegházakban (MTA Növényvédelmi Kutatóintézete virológiai laboratóriuma, Budapest, Júlia major; Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont, Gödöllő; Kertészeti és Élelmiszeripari Egyetemen, Budapest; Zöldségtermesztési Kutatóintézet Zrt., Budapesti Állomása), vagy lexán-házban (Pannon Agrártudományi Egyetem, Keszthely) neveltük. Speciális kísérletekhez fitotron (FISONS), vagy klimatizált fényszobát vettünk igénybe.

3.1.2 Vírusizolátumok (*Tobamovirus* génbank)

A kísérletekhez a *Tobamovirus* nemzetség tíz fajának izolátumait helyeztük el génbankban (1. táblázat, SALAMON et al., 1988). A értekezésben jellemzett DYFV izolátumok jelzését és a jelzések magyarázatát a „3. EREDMÉNYEK” fejezet tartalmazza.

5. táblázat

Tobamovírus génbankban fenntartott vírusizolátumok

A vírusfaj neve	A vírusizolátum jelzése	Génbanki donor
<i>Tobacco mosaic virus</i> (TMV)	U1 Sz Gelb	Balázs Ervin Szirmai János J. Richter
<i>Tomato mosaic virus</i> (ToMV)	D/H Mo Vla	Horváth József V. Mokra Y. Vlaszov
<i>Tobacco mild green mosaic virus</i> (TMGMV)	U2 Phys C13	Balázs Ervin Saját izolálás Saját izolálás
<i>Pepper mild mottle virus</i> (PMMoV)	T(W) P8 P14 Nov	Beczner László A. Th. B. Rast, Tóbiás István A. Th. B. Rast, Tóbiás István Saját izolálás
<i>Paprika mild mottle virus</i> (PaMMV)	P11	A. Th. B. Rast, Tóbiás István
Bell pepper mottle virus (BePMV)	FO A1	A. Th. B. Rast, Tóbiás István A. Th. B. Rast, Tóbiás István
<i>Ribgrass mosaic virus</i> (RMV)	HRM Pm/Tcs	J. Juretic Saját izolálás
<i>Odontoglossum ring spot virus</i> (ORSV)	Br J 48	R. Koenig Y. Inouye Saját izolálás
<i>Sunnhemp mosaic virus</i> (SHMV)	Cc	M. Zaitlin
<i>Cucumber green mottle mosaic virus</i> (CGMMV)	Grünstamm (G) Weißstamm (W)	J. Richter J. Richter

3.1.3 Antiszérumok, immundiagnosztikumok

A TMV-U1, a ToMV-D/H és a TMGMV-U2 izolátumokkal szemben előállított poliklonális nyúl antiszérumokat Dr. Burgyán József bocsátotta rendelkezésünkre. Más antiszérumokat a kísérleti munka során állítottunk elő. Az antiszérumokat -18 C⁰-on tároltuk.

A DAS ELISA vizsgálatokhoz felhasznált immundiagnosztikumokat (gamma globulin, torna-peroxidáz enzimmel konjugált gamma-globulin) az általunk rendelkezésre bocsátott antiszérumokból a Humán Rt. Immunológiai Laboratóriuma állította elő Dr. Barna-Vetró Ildikó csoportjában.

3.1.4 Laboratóriumi műszerek és eszközök

Az üvegházi munkákhoz használt eszközök

Gőzzel sterilizált vagy fertőtlenítő oldatban mosott cserepek és műanyag pikírozó ládák; gyári fekete fólia konténerek; gőzzel sterilizált vagy ellenőrzött, kereskedelmi forgalomban kapható kertészeti talajkeverék; hővel sterilizált porcellán dörzsmozsarak törővel; ollók; 2 %-os NaOH oldat, főzött vagy folyékony szappan; eldobható papír kéztörlők; növényvédő szerek (Pirimor, Lannate), kézi permetező gép.

A vírustisztításokhoz használt speciális eszközök

Sterilizált homogenizálók (Waring blender); alacsony fordulatszámú Janeczky (K23, K24) centrifugák; ultracentrifugák (Beckman) szögrotorokkal (Ti50, R30, R35) és kilendülő rotorral (SW27); steril műanyag centrifugacsövek; Beckman grádiens szeparátor pumpa; ICSO Model E UV monitor; Specord UV-VIS spektrofotométer.

A mikroszkópos vizsgálatokhoz használt speciális eszközök

OPTON EM9 S2 és Philips transzmissziós elektronmikroszkópok; vákumgőzölő; ultramikrotóm; Zeiss binokuláris fénymikroszkóp; formvar hárttyával bevont, szénnel gőzölt mikrorostélyok; finomacél csipeszek; steril szike és zsilletpenge.

A szerológiai vizsgálatokhoz használt speciális eszközök

Takátsy-féle mikrotitráló lapok és kacsok; termosztátok; UNISCAN ELISA-reader; binokuláris mikroszkóp; ELISA mikrotitráló lapok, többszörös Finpipetták; vízszintező asztal; gélkivágó sablonok; vákumszivattyú.

A gélelektroforézishez használt speciális eszközök:

Horizontális gél-elektroforézis készülékek (Biorad), elektromos tápegység, festőkádak.

Általános laboratóriumi eszközök

Hűtőszekrények (4 C⁰, -18 C⁰, -70 C⁰); pH mérők, hősterilizáló kemence; elszívófülke; bidesztilláló készülék; mágneses keverők; pipetták (Finpipetta, Gilson pipetták, eldobható steril hegygel); steril üvegpipetták; steril üveg és műanyag eszközök (mérőhengerek, lombikok, fiolák, Eppendorf csövek); laboratóriumi mérlegek; liofilező készülék; folyékony nitrogén tartály, steril laboratóriumi csipeszek, kanalak; üveg és műanyag Petri-csészék, Höppler termosztát.

3.1.5 Vegyszerek, reagensek, diagnosztikumok

Sóoldatok és pufferek elkészítéséhez ismert hazai és külföldi gyártóktól (Reanal, Sigma, Merck, Serva; Boehringer) beszerzett analitikai tisztaságú vegyszereket használtunk. A DAS ELISA vizsgálatokhoz az immunglobulin tisztítását és torna peroxidáz enzimmel történő konjugálását a Humán Rt. Dr. Barna Vetró Ildikó által vezetett immunológiai laboratóriuma végezte. Az ultravékony növényi metszetek fixálásához, dehidálásához és kontrasztosításához szükséges vegyszereket az elektronmikroszkóp laboratóriumok

biztosították. A felhasznált oldatok, pufferek és vegyszerek paramétereit (töménység, pH, hőmérséklet) a 3.2 Módszer alfejezet vonatkozó pontjaiban adjuk meg.

3.2 Módszer

3.2.1 Növénynevelés, -ápolás –és fenntartás

Vírussal fertőzött növények

A különböző vírusokkal fertőzött növényeket egymástól elkülönítetten neveltük a kontaminációk megelőzésére. A vírusfenntartást szolgáló törzsnövényeket (fertőzött paprika, dohány, ebszőlőcsucor egyedek) gyakran évekig megtartottuk rendszeres metszéssel és átcserepezéssel. A metszést 2 %-os NaOH oldattal fertőtlenített ollóval vagy kézi visszacsípéssel végeztük. Átültetések, metszések előtt és után kezünket lúgos-szappanos mosással fertőtlenítettük. A gyűjtött *S. dulcamara* dugványokat egyenként, steril kémcsőbe töltött csapvízben gyökeresítettük, majd cserepezve elkülönítetten neveltük.

Tesztnövények

A tesztnövényeket a vírusokkal folyó kísérletektől elkülönítetten neveltük. A kismagvú tesztnövényekből (pl. dohány, petúnia fajok, fajták) először magvetést végeztünk, a palántákat pikiroztuk, majd 2-3 leveles stádiumban 6-8 cm átmérőjű cserepekbe ültettük. A nagymagvú növényeket (pl. bab, borsó, uborka) végső helyre, cserepekbe vetettük. Tömegesztelések esetén (pl. paprika genotípusok tesztelése) a vetéseket fertőtlenített műanyag pikirozó ládába végeztük és a szikleveles vagy 1-2 lomblevelés növényeket a ládában inokuláltuk. A növényneveléshez esetenként (pl. paprika magfogásokhoz) 3-5 l térfogatú cserepeket vagy fekete fólia zsákokat használtunk. A kísérleti üvegházak ablakait, ajtait tüllhálóval izoláltuk, a vektorok (levéltetvek, liszteskék, tripszek) ellen rendszeresen (általában hetenként) védekeztünk. Az üvegházakat, fényszobákat úgy fűtöttük és szellőztettük, hogy a hőmérséklet 22-26 °C között ingadozzon. Meleg nyári hónapokban az üvegházakat árnyékoltuk és ahol nem állt rendelkezésre klímaberendezés, vízpermetezéssel hűtöttük. Az üvegházi kísérletek többségét a februártól-júliusig és a szeptembertől-decemberig tartó időszakokban végeztük.

3.2.2 Inokulumok készítése és mechanikai inokuláció

A mechanikai vírusátvitelt a karborum/cellit-üvegspatula vagy a levélről/termésről-levelelre történő inokulációs módszerekkel végeztük az alábbiak szerint:

A vírusdonor növényanyagot (magok, gyökerek, levelek, termések) felületileg 2 %-os NaOH oldattal, majd hideg csapvízzel mostuk. Ezt követően a növényrészeket 1 : 5-10 arányú hideg foszfát puffer (0,067 M, pH = 7.0) hozzáadása után steril porcelán dörzsmozsarakban homogenáltuk. Az így nyert inokulumokba mártott steril üvegspatulával fiatal tesztnövények előzőleg karborundummal vagy cellittel leszórt leveleit dörzsöltük be. Az inokulált növényeket a bedörzsölés után csapvízzel permeteztük. Ha az inokulum forrás szárazpreparátum volt, hasonló módon jártunk el a NaOH-os mosást mellőzve. Ha az inokulum tisztított víruspreparátum volt, azzal közvetlenül dörzsöltük be a tesztnövényeket. Ha az inokulum forrás paprika mag volt, a magvakat steril Eppendorf csőben 500-1000 µl steril víz hozzáadása után alaposan rázattuk és a kapott szuszpenzió felőlúsójával végeztük az inokulálást. Néhány esetben a mechanikai inokulációt paprika bogycsészéből steril szikével kivágott bogycsészéből magház felőli oldalával végeztük közvetlenül a tesztnövényekre.

3.2.3 Vírusizolálás, -differenciálás (-szeparálás) -és fenntartás

A vírusizoláláshoz a vizsgált növényekből nyert inokulumokkal vírus akceptor-indikátor teszt növényként és vírusdifferenciálási célokra is alkalmas növényfajok (*C. annuum*, *C. sativus*, *Chenopodium* spp., *D. stramonium*, *Nicotiana* spp., *Ph. vulgaris*) fiatal egyedeit inokuláltuk. Az inokulációt követően vírus vagy vírusok jelenlétét a teszt növényeken kialakuló, a vírusfertőzésekre általában jellemző lokális és/vagy szisztemikus tünetek alapján állapítottuk meg. Az izolált vírusok tisztaságára vagy esetleges komplex természetére az akceptor növényeken tapasztalt illogikus tünetekből vagy a lokális szimptomákkal reagáló növényeken megfigyelt lokális tünetek (klorotikus vagy nekrotikus léziók, foltok, gyűrűk) morfológiai jegyeiből következtettünk.

A komplex fertőzések legkisebb gyanúja esetén a komplex komponenseinek szeparálására a kereszt-inokulációs módszert és/vagy az egyléziós kultúrák módszerét alkalmaztuk. Kereszt-inokulációs vírusszeparálás esetén az akceptor növények inokulált és csúcsi leveleiből külön-külön - függetlenül attól, hogy azok mutatnak-e tüneteket vagy sem - passzálást végeztünk a vírusok széles körére fogékony (virofil) és viszonylag ellenálló (virofób) növényekre. A tüneteket elemezve megállapítottuk, hogy az eredeti inokulum tartalmazott-e patológiai tulajdonságok alapján megkülönböztethető vírusokat. Hasonló módon végzett további passzálásokkal és a vírusdifferenciálási és szeparálási célokra alkalmas növények körének bővítésével a víruskomplex komponenseit a patológiai értelemben vett tisztaságig, a megfelelő szeparátor-növényeken egymástól elválasztottuk.

A vírusdifferenciáláshoz az egyléziós kultúrák módszerét alkalmazva először elemeztük az akceptor-indikátor növények inokulált (bedörzsölt) levelein kialakult léziók morfológiai jegyeit (alak, nagyság, szín, a megjelenés gyorsasága). A különböző lézió-típusokból egy-egy jól elkülönülő léziót steril szikével kivágtunk és külön-külön homogenáltuk. Az így nyert inokulumokkal az eredeti lokál-léziós teszt növény faj (fajta) egészséges egyedeire végeztünk visszafertőzést és vizsgáltuk a kapott léziók morfológiai homogenitását. Az egyléziós passzálást ismételve a már homogén léziókat előidéző vírusvonalat szisztemikusan fogékony gazdanövényen szaporítottuk, majd az eredeti lokál-léziós teszt növényre végzett visszafertőzés után a léziók morfológiai vizsgálatával ellenőriztük a felszaporított vírus tisztaságát.

Minden standard tobamovírus izolátum (5. táblázat) tisztaságát (mentességét idegen tobamovírustól vagy más vírusoktól) differenciáló teszt növényeken végzett előzetes tesztelesekkel, a szakirodalomból ismert tulajdonságokkal összevetve ellenőriztük. A vírusizolátumokat szisztemikusan fogékony propagatív gazdanövényeken (*N. tabacum* cv. Samsun, *N. clevelandii*, *C. annuum*), liofilezett levelekben és tisztított preparátumokban tartottuk fenn.

3.2.4 A vírusizolátumok tulajdonságainak vizsgálata

3.2.4.1 A gazdanövénykör tanulmányozása és szimptomatológiai jellemzés

A gazdanövénykör vizsgálatához a tiszta vírusizolátumokat szisztemikusan fogékony gazdanövényeken (propagatív gazdák) szaporítottuk. A vizsgált növényeket (legalább 2-5 egyed fajonként) szikleveles korban vagy 3-6 leveles korban a propagatív gazdák tüneteket mutató csúcsi leveleiből nyert inokulumokkal dörzsöltük be. A lokális és szisztemikus tüneteket 3-6 hétig tanulmányoztuk. A látens fertőzések megállapításához az inokulált, de tüneteket nem mutató növények csúcsi és bedörzsölt leveleiről külön-külön visszaizolálást végeztünk az adott tobamovírus izolátummal szemben érzékeny, lokális léziókkal reagáló teszt növényekre.

3.2.4.2 Citopatológia

Fénymikroszkópos vizsgálathoz vírussal fertőzött és egészséges tesztnövények leveleinek fonáki részéről finom csipesszel epidermisz nyúzatokat készítettünk, amelyeket tárgylemezen, fiziológiás oldat cseppjére helyeztünk és fedőlemezzel zártunk. A tobamovírusokra jellemző sejtzárványokat binokuláris fénymikroszkóppal 400-600x-os nagyítás mellett vizsgáltuk.

Elektronmikroszkópos citológiai vizsgálathoz dohány tesztnövények szisztemikusan fertőzött leveleinek tüneteket mutató mezőiből kb. 3x3 mm-es darabkákat steril szikével kivágtunk. A szövetdarabokat 5 % glutáraldehidet tartalmazó kakodilát pufferben (0.5 M, pH = 7.0) 2 órán át fixáltuk, majd mosást követően 1 %-os OsO₄-al utófixáltunk. Etanolos dehidráció után a fixált növényi mintákat Epon gyantába ágyaztuk. A beágyazott levéldarabokról ultramikrotómmal készítettünk ultravékony metszeteket, amelyeket 2 %-os uranil acetáttal és ólom-citráttal kontrasztoltunk. A sejtekben megfigyelhető citológiai elváltozásokat OPTON EM9S2 transzmissziós elektronmikroszkóppal tanulmányoztuk.

3.2.4.3 Keresztvédettség megállapítása

A tobamovírus izolátumok közötti interakciót keresztvédettségi (cross protection) tesztekkel tanulmányoztuk. Ehhez *N. sylvestris* növények fél-leveleit (a levéllemez főerétől jobbra vagy balra eső levélfelet) a TMV-U1 izolátummal, illetve *N. glutinosa* növények fél-leveleit hasonló módon a DYFV-XM izolátummal inokuláltuk. A fenti szisztemikus gazdavírus kapcsolatokban a megjelölt izolátumok nekrotikus lokális tüneteket nem okoznak. A kontroll levélfeleket pufferrel dörzsöltük be. Az első (premunizáló) inokulációt követő 8. napon az inokulált leveleket a teljes levélfelületen (a kontroll levélfelekkel kezdve) olyan tobamovírus inokulációval dörzsöltük be (második vagy challenge inokuláció), amely az adott gazdavírus kapcsolatban lokális nekrotikus léziókat okoz. A keresztvédettségre a premunizált (előfertőzött) és a kontroll levélfeleken a második inokulációt követően kialakuló nekrotikus léziók számából következtettünk.

3.2.4.4 Fizikai tulajdonságok megállapítása

A fizikai tulajdonságok (hőinaktiválási pont, HIP; higíthatóság, HIG és in vitro eltarthatóság, EIV) megállapításához tiszta tobamovírus izolátummal fertőzött propagatív gazdanövények szisztemikus tüneteket mutató leveleit puffer hozzáadása nélkül homogenáltuk és túllhálón át préselve szűrtük. A szövetnedvet NOORDAM (1973) módszereit követve kezeltük. A fertőzőképességet a különböző kezelések után lokális léziókkal reagáló tesztnövényekre (*N. glutinosa*, *N. tabacum* cv. Xanthi-nc) végzett inokulációkkal ellenőriztük.

3.2.4.5 A virionok elektronmikroszkópos vizsgálata

A virionok elektronmikroszkópos vizsgálatához növényrészekből vagy tisztított vírusszuspenzióból készítettünk csepp-preparátumokat. A növényi részből (levelek, paprika bogyók) kb. 3x3 mm-es szövetdarabkát steril szikével vágtunk ki, melyet tárgylemezen néhány csepp 2 %-os foszforvolframsav oldatban (pH= 6.7) üvegbottal enyhén elmaceráltunk. Az így nyert szuszpenzióból 20 µl-t formvar hártáival fedett és szénrel gőzölt mikrorostélyra cseppentettünk, majd 15-20 másodperc múlva a cseppet szűrőpapír élével leszívtuk. A mikrorostélyt szárítottuk. Uranil acetátos kontrasztolás esetén a gridre növényi szövetnedvet vagy tisztított víruspreparátum egy cseppjét vittük, a gridet 10-20 másodperc múlva 2-3 csepp

desztillált vízzel mostuk, majd a virionokat 1 %-os uranil acetáttal kontrasztoltuk. A vizsgálatokat különböző nagyítások mellett (20000 - 60000 x) végeztük.

3.2.4.6 Vírustisztítás

A tobamovírusokat propagatív gazdanövények szisztemikusan fertőzött leveleiből, vagy spontán fertőzött gazdanövények leveleiből részlegesen GOODING és HEBERT (1967) módszerét követve tisztítottuk. A részlegesen tisztított preparátumokat a felhasználásig -18 C^0 -on fagyasztva tároltuk vagy cukorgradiens centrifugálással tovább tisztítottuk az alábbiak szerint:

Beckman SW27 kilendülő rotor csöveibe 0.05 M borát pefferben ($\text{pH} = 8.0$) elkészített felforralt, majd szobahőmérsékletre lehűtött 25 %-os cukoroldatot töltöttünk. A csöveket alufóliával lezárva, az oldatot -18 C^0 -on lefagyasztottuk. A gradiens oldat elkészítéséhez a lefagyasztott csöveket egy éjszakán át 4 C^0 -ra helyeztük. A lassan kiolvadó cukoroldatban kialakuló vertikális cukorgradiensre a részlegesen tisztított vírusszuspenziókból 1-2 ml-t rétegeztünk, majd a csöveket kilendülő rotorba helyezve a vírusokat 24000/perc fordulatszámra két órán át centrifugáltuk. A centrifugálás után a vírusrészecskék elhelyezkedését a gradiens oldatban függőleges irányú átvilágítás mellett, sötét héttérben tanulmányoztuk. A vírust tartalmazó frakciókat Beckman gradiens pumpához kapcsolt ISCO Model E UV monitorral 245 nm hullámhosszon mért abszorpció alapján szeparáltuk, borát pufferrel legalább 1 : 2 arányban hígítottuk, majd a szuszpenzióból a vírust Ti50 rotorban 45000/perc fordulaton 2-3 óra centrifugálási idővel üleptítettük. Az üledéket 1-2 ml borát pufferben oldottuk vissza és Eppendorf centrifugán alacsony fordulaton (5000/perc) centrifugáltuk. Az opaleszkáló vírusszuspenzió UV spektrumát Specord UV VIS fotométerrel széles hullámhossz tartományban vettük fel. A víruskoncentrációt a 260 nm-en mért extinkció értékéből az $E_{260\text{ nm}} = 3.1$ összefüggés alapján számítottuk. A vírustisztításokat 4 C^0 -on végeztük, a tisztított vírus szuszpenziókat fagyasztva, -18 C^0 -on tároltuk.

3.2.4.7 Antiszérumok előállítása

Antiszérumok előállításához antigénként gradiens centrifugálással tisztított vírusszuspenziókat használtunk, melyek koncentrációját 2-5 mg/ml-re állítottuk be. Az antigénnel Új-zélandi fehér nyulakat immunizáltunk a hátsó combba adott intramuszkuláris oltásokkal. Az első oltáskor 1 ml vírusszuspenzióhoz 1 : 1 arányban Freud komplett, a további oltásokhoz Freud inkomplett adjuvánst adtunk. Az oltásokat 7 naponként, összesen háromszor ismételtük. Az immunizált nyulak fülvénájából az utolsó oltást követően hetenként egy-egy alkalommal 20-40 ml vérmintát vettünk.

A levett vérről az alvadás után a szérumot óvatos leöntéssel elválasztottuk az alvadéktól és 6000/perc fordulaton centrifugáltuk. Az antiszérumokhoz 0.02 % NaN_3 -t adtunk és azokat 5-10 ml-es fiolákban szétosztva fagyasztva -18 C^0 -on tároltuk.

3.2.4.8 Szerológiai vizsgálatok

Titrlások és szerológiai differenciál indexek meghatározása

Az antiszérumok homológ (saját antigénnel szembeni) és heterológ (idegen antigénnel szembeni) titer értékeit VAN SLOGTEREN (1955) módszerét követve mikroprecipitációs teszttel állapítottuk meg. Az antiszérumokból fiziológiás oldatban Takátsy-féle mikrotitráló lapokon, titrló kacsokkal készítettünk hígítási sort. Hígítási lépésként (1:2, 1:4, 1:81/4096) az antiszérumokból 20-20 μl -t cseppentettünk formvar hártáival bevont üveg Petri

csészék aljára, melyekhez foszfát pufferrel 0.05 és 0.1 mg/ml koncentrációra beállított 20-20 μ l antigént (részlegesen tisztított, vagy tisztított tobamovírus szuszpenziót) adagoltunk. Antiszérum kontrollként normál nyúl szérumot (1: 4-8 hígításban), antigén kontrollként egészséges dohány centrifugált szövetnedvét (1: 4-8 hígításban) használtunk. A reagensek összecseppentése után a cseppekre óvatosan paraffin olajat rétegeztünk úgy, hogy az olaj sértetlenül körülfollya és teljesen befedje a cseppeket. A Petri-csészéket ezt követően termosztátban 36 C⁰-on négy órán át inkubáltuk, majd a cseppekben kialakult precipitációt binokuláris mikroszkóp alatt, sötét háttérben, oldalirányú megvilágítás mellett értékeltük. Minden antiszérum-antigén kombinációban megállapítottuk az antiszérumnak azt a véghígítási pontját, melyen még szemmel látható precipitáció alakult ki. Az értékelést a szobahőmérsékleten tartott Petri csészék egy éjszakai inkubációja után megismételtük. Az eredményeket a szerológiai vizsgálatokban gyakorlott laboránsokkal együtt értékeltük. Antiszérum-titerként minden antiszérum-antigén kombinációban a még reakciót adó legnagyobb antiszérum hígítást határoztuk meg.

A vírusizolátumok közötti szerológiai rokonság kifejezésére a homológ és heterológ titer értékekből VAN REGENMORTEL (1975) szerint számítottuk ki a szerológiai differenciál indexeket (SDI). Az azonos nyúltól különböző időpontokban vett szérum minták titrálási eredményeit azonos antigénre nézve átlagoltuk és ilyen esetekben a szerológiai rokonságot az átlagos szerológiai differenciál indexek kiszámításával adtuk meg.

Kettős agar-gél immunodiffúziós vizsgálatok

A vírusok közötti szerológiai rokonság kvalitatív elemzéséhez az OUCHTERLONY (1968) féle kettős agar-gél diffúziós módszerrel spur (sarkantyú) teszteket és intragél abszorpciós teszteket végeztünk. Erre a célra 0.8 %-os agarózt (Reanal) készítettünk NaN₃-at tartalmazó 0.1 M foszfát pufferben (pH = 8.0), melyet 8 cm átmérőjű üveg Petri csészékbe öntöttünk ki (10-12 ml/Petri-csésze) vízszintezett asztalon. A gélesedés után a gélből kör alakú, központi és perifériás elhelyezkedésű reagens tartályokat sablonnal vágunk ki, melyekből a gélt vákumszivattyúval távolítottuk el. A perifériás tartályokba a vizsgált antigénekből 20-20 μ l-t cseppentettünk, majd 1 órás diffúzió után a központi tartályba 20 μ l antiszérumot adagoltunk. Antigénként tobamovírusok részlegesen tisztított szuszpenzióját használtuk 2-3 mg/ml koncentrációban, az antiszérumokat 1:4, 1:8 arányban fiziológiás oldatban hígítottuk. Az antigén és antiszérum tartályok között kialakuló precipitációs íveket és az ívek találkozási pontján a sarkantyú képződést oldalirányú megvilágítás mellett, sötét háttérben, 12-24 órás inkubáció után többször értékeltük.

Intragél abszorpciós tesztek esetén a központi antiszérum tartályba először nagy töménységű (3-5mg/ml) tisztított vírus szuszpenziót, majd ennek a gélbe történő diffundálása után ugyanebbe a tartályba 1:4 vagy 1:8 hígítású antiszérumot cseppentettünk. Az antiszérum adagolása után 1-2 órával a perifériás tartályokba antigént (2-3mg/ml töménységű tisztított vírusszuszenzió) cseppentettünk, majd a Petri csészéket egy éjszakán át inkubáltuk. A precipitációs ívek kialakulását többször értékeltük.

DAS-ELISA vizsgálatok

DAS-ELISA vizsgálatokhoz antigénként különböző tobamovírusok izolátumainak tisztított szuszpenzióit használtuk, melyek koncentrációját vírusonként az UV spektrum felvétele után 0.1 és 1 μ g/ml-re állítottuk be homogenizáló pufferrel. Kontroll antigénként egészséges dohány növények foszfát pufferben homogenált, 5000/perc fordulaton 10 percig centrifugált szövetnedvét használtuk.

A vizsgálatokhoz különböző tobamovírusokkal szemben laboratóriumunkban előállított, mikroprecipitin tesztekkel titrált, aspecifikusan nem reagáló, magas titer értékű antiszérumokat választottunk. Az antiszérumokból a Humán Rt. Immunológiai Laboratóriuma által előállított diagnosztikumokat (gamma globulin, torna-peroxidáz enzimmel konjugált gamma-globulin) előzetes optimalizálási tesztekkel megvizsgáltunk (reakció képesség, az esetleges aspecifikus reakciók) és meghatároztuk a diagnosztikumok optimális hígításait, valamint az optimális inkubációs időket. Minden reakciót azonos körülmények között végeztünk a kettős antitest szendvics (double antibody sandwich, DAS) ELISA technika torna-peroxidáz rendszerre kidolgozott változata szerint (TUSSEN és KURSTAK, 1984). A színreakciók erősségét fotométerrel mértük 492 nm hullámhosszon. A vizsgálatokat Dr. Kölber Mária segítségével a Mezőgazdasági és Földművelési Minisztérium Növényvédelmi Központjának ELISA laboratóriumában végeztük.

3.2.4.9 Virionok elektroforetikus mobilitásának vizsgálata agaróz gélben

A vizsgálatokhoz 0.7 %-os agaróz géllemezt készítettünk 0.1 M foszfát-pufferben (pH = 7.0), amelyet plexi futtató lemezre vízszintező asztalon öntöttünk ki. A gél kiöntésével egy időben a gélbe a mintafelviteli helyek („zsebek”) kialakítására rozsdamentes acélból készült fésű-sablont helyeztünk, amelyet a gélesedés után óvatosan kiemeltünk. A géllemezt hordozó futtató lemezt vízszintezett üveglapra helyezett gélelektroforézis készülék puffertartályok közötti asztalára helyeztük, majd a katód és anód oldali tartályokat futtató pufferrel (0.25 M ureát tartalmazó 0.1 M foszfát-puffer, pH = 7.0) úgy töltöttük fel, hogy az 0.5-1 cm magasan ellepje a géleket.

A vizsgálatokhoz tobamovírusokkal fertőzött és egészséges tesztnövényekből (*C. annuum*, *N. benthamiana*, *N. clevelandii*, *N. tabacum*) készítettünk szövetkivonatot az alábbiak szerint:

A lemért levelekhez steril porcellán dörzsmozsarakban 1 : 5 súly/térfogat arányban hideg homogenizáló puffert (0.5 M ureát tartalmazó 0.1 M foszfát puffer, pH = 7.0) adagoltunk. A homogenálás után nyert szuszpenziót Eppendorf centrifuga csövekbe töltve asztali Eppendorf centrifugán 10 percig 6000/perc fordulaton centrifugáltuk. A centrifugált szövetkivonatokból (minták) 15-15 μ l-t Eppendorf csövekbe pipettáztunk, melyekhez 2-2 μ l 10 % szacharózt és 1 mg/l brófenolkéket tartalmazó foszfát puffert adtunk. Az oldatokat a lezárt csövekben alaposan összekevertük, majd mintánként 12-12 μ l-t a futtató puffer alatt Finpipettával óvatosan a gélben kialakított zsebekbe adagoltunk. A mintákat 40 V feszültség mellett 4 órán át futtattuk. A géleket festő kádakban Coomassie R Brilliant Blue fehérje festéket tartalmazó 5 %-os ecetsav oldatban festettük. A nem kötődő festéket 20 %-os, 5 % metanolt tartalmazó ecetsav oldatban többszöri mosással távolítottuk el. A gélekben festődő csíkokat háttérvilágítás mellett vizuálisan értékeltük.

3.2.4.10 *Capsicum* fajok, -fajták, -hibridek és -vonalak tobamovírus fogékonyságának és/vagy rezisztenciájának megállapítása

Különböző paprika genotípusok tobamovírusokkal szembeni fogékonyságát és/vagy rezisztenciáját mechanikai inokuláció után a lokális és szisztemikus tünetek elemzése alapján állapítottuk meg. A növényeket szikleveles korban a szikleveleken, vagy 2-6 leveles korban az első lombleveleken inokuláltuk. Speciális esetekben ugyanazon növényegyedek különböző leveleit egy időben vagy egymást követően különböző tobamovírus izolátumokkal inokuláltuk.

Amennyiben a növények az adott vírusizolátum fertőzésére szisztemikus betegség tünetekkel reagáltak, a növényeket fogékonynak tekintettük. Amennyiben az

inokulációt követően hiperszenzitív reakciót (HR, nekrotikus lokális léziók, levélhullás) mutattak és csúcsi leveleiken szisztemikus tüneteket 3-4 héttel az inokulációt követően sem alakultak ki, a növényeket rezisztensnek tekintettük. Ha a HR-el reagáló növényeken szisztemikus szár és/vagy csúcsnekrózis jelent meg, ezt külön feljegyeztük. Egyes vírus-gazda kombinációkban (pl. SHMV – *C. annuum*) a növények nem HR-el reagáltak, de szisztemikus tüneteket nem mutattak. Ilyenkor az esetleges látens szisztemikus fertőzöttség kimutatására a tünetmentes csúcsi levelekből visszaizolálási kísérletet végeztünk lokális léziókkal reagáló tesztnövényekre (*N. tabacum* cv. Xanthi-nc, *N. megalosiphon*).

Ha a növényeket meg akartuk kímélni a fertőzésektől, a rezisztencia és/vagy fogékonyág megállapítására excizált levélteszteket végeztünk. Ebben az esetben a növényekről szikleveleket, vagy lomblevelet vettünk, amelyeket egyenként inokuláltunk és nedves szűrőpapírra helyezve lezárt Petri csészékben, vagy tálcákon, átlátszó folpack illetve nylon fóliával fedve, világos helyen, szobahőmérsékleten inkubáltuk. 4-6 napos inkubáció után vizuális vizsgálattal értékeltük az inokulált levelek tünetmentességét (fogékony genotípus), vagy a lokális léziók megjelenését a leveleken (rezisztens genotípus).

4. EREDMÉNYEK

4.1 Ebszőlőcsucorról (*Solanum dulcamara* L.) és paprikáról (*Capsicum annuum* L.) származó tobamovírus izolátumok összehasonlító jellemzése

4.1.1 Tobamovírus előfordulása termesztett ebszőlőcsucoron

Előfordulás és tünetek

1974-ben a Gyógynövény Kutató Intézet (Budakalász) beteg ebszőlőcsucor klón dugványát küldte az MTA Növényvédelmi Kutatóintézete virológiai laboratóriumába. A dugvány (jelölése: Sd) levelein vírusfertőzésre utaló mozaik és enyhe deformáció tüneteket állapítottunk meg.

Vírusizolálás és -differentiálás

Mechanikailag átvihető vírusok fertőzésének igazolásához a beteg ebszőlőcsucor növény leveleiből nyert szövetnedvvel *C. sativus* cv. Delicatess, *N. glutinosa*, *N. tabacum* cvs. Samsun és Xanthi-nc tesztnövényeket inokuláltunk. Az inokulációt követően a *C. sativus* növények tünetmentesek maradtak, míg a dohány tesztnövényeken vírus(ok) fertőzésére jellemző lokális és/vagy szisztemikus betegsége tünetek alakultak ki.

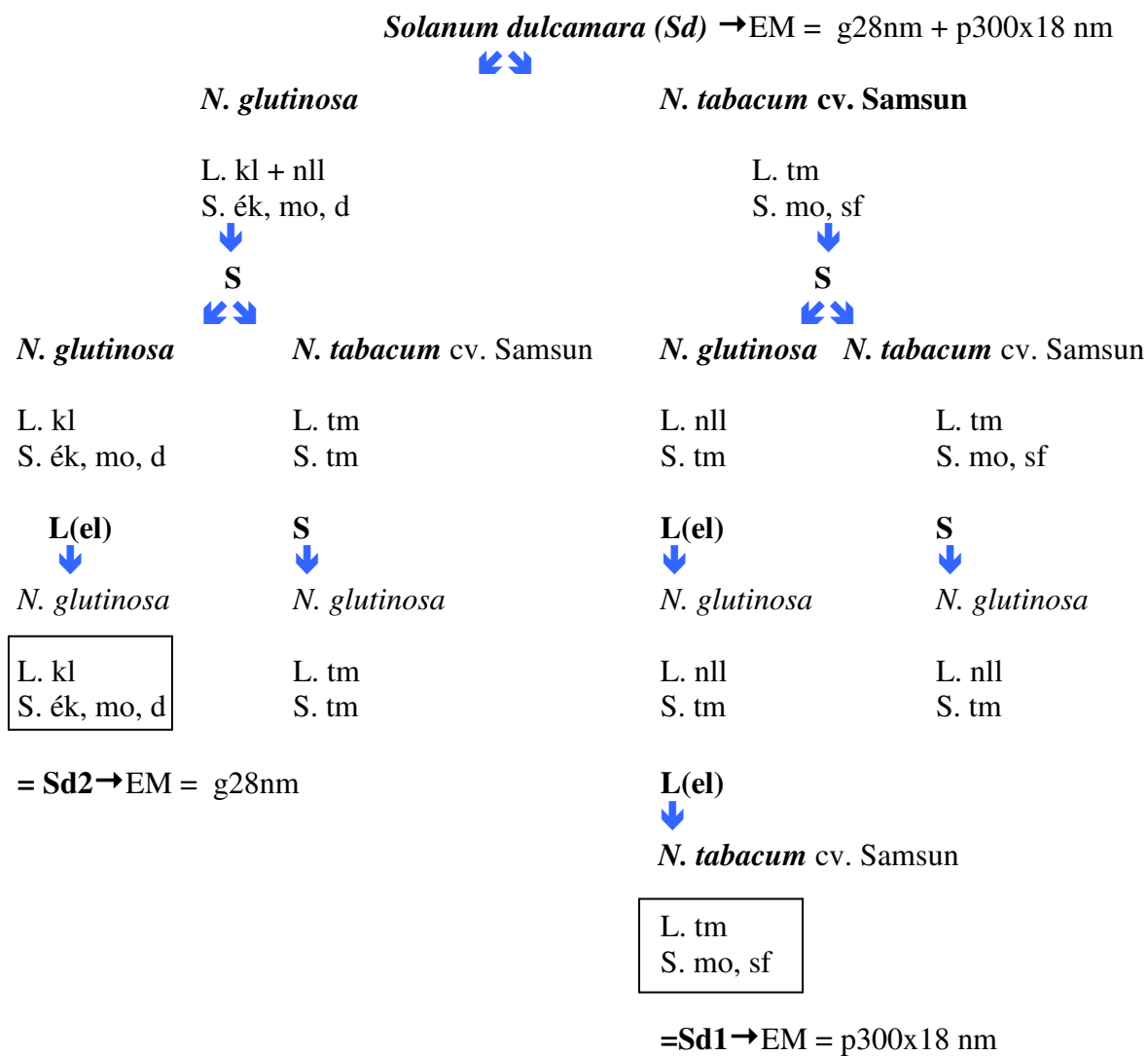
A *N. glutinosa* inokulált levelein gyorsan elhaló, vöröses-lila szegéllyel határolt nekrotikus léziók, valamint klorotikus, lassan elhaló foltok jelentek meg. Ezt követően a *N. glutinosa* csúcsi levelein érkivilágosodást, mozaik foltosságot és deformációkat állapítottunk meg. A *N. tabacum* cv. Samsun tesztnövény élénksárga szisztemikus levélfoltosodás szimptomával reagált. A *N. tabacum* cv. Xanthi-nc növényeken lokális nekrotikus léziók alakultak ki.

Az akceptor-indikátor tesztnövényeken megfigyelt tünetek alapján kizárható volt számos, a *C. sativus*-on szisztemikus tüneteket okozó vírus (pl. AMV és CMV) jelenléte. A *N. glutinosa* inokulált levelein megfigyelt eltérő típusú léziók arra utaltak, hogy a beteg *S. dulcamara* növényt legalább két növényvírus fertőzte. A nekrotikus léziókat előidéző víruskomponensről feltételeztük, hogy a TMV-vel vagy annak egy törzsével azonos, amire a Samsun dohányfajta szisztemikus megbetegedése is utalt. Komplex fertőzésre utalt továbbá a *N. glutinosa* szisztemikus megbetegedése is, mivel ez a növény a TMV-vel és a vele rokon tobamovírusokkal szemben csak lokálisan fogékony, nekrotikus léziókkal reagáló tesztnövényként volt ismert.

A komplex vírusfertőzés igazolásához és a víruskomponensek szeparálásához kereszt-inokulációs kísérleteket és elektronmikroszkópos vizsgálatokat végeztünk. Megállapítottuk, hogy a *N. glutinosa* tesztnövény szisztemikusan fertőzött (csúcsi) leveleiből visszaizolált vírus ugyanezen a tesztnövény fajon csak klorotikus, lassan nekrotizálódó léziókat, majd szisztemikus mozaik tüneteket okozott és nem fertőzte a *N. tabacum* fajtákat. A *N. tabacum* cv. Samsun tesztnövény beteg csúcsi leveleiből visszaizolált vírus ugyanakkor csak nekrotikus léziókat idézett elő a *N. glutinosa* és *N. tabacum* cv. Xanthi-nc tesztnövényeken. A patológiai tulajdonságok alapján megkülönböztethető és a fenti passzálásokkal egymástól szeparált vírusizolátumokat Sd1 és Sd2 szimbólumokkal jelöltük (5. ábra).

S. dulcamara-n végzett visszafertőzés után az Sd1 komponens a növényeken sárga foltosságot, az Sd2 komponens klorotikus levélfoltosságot okozott (6. A, B ábra).

***Solanum dulcamara*-n kimutatott víruskomplex komponenseinek (Sd1 és Sd2) differenciálása és szeparálása¹**

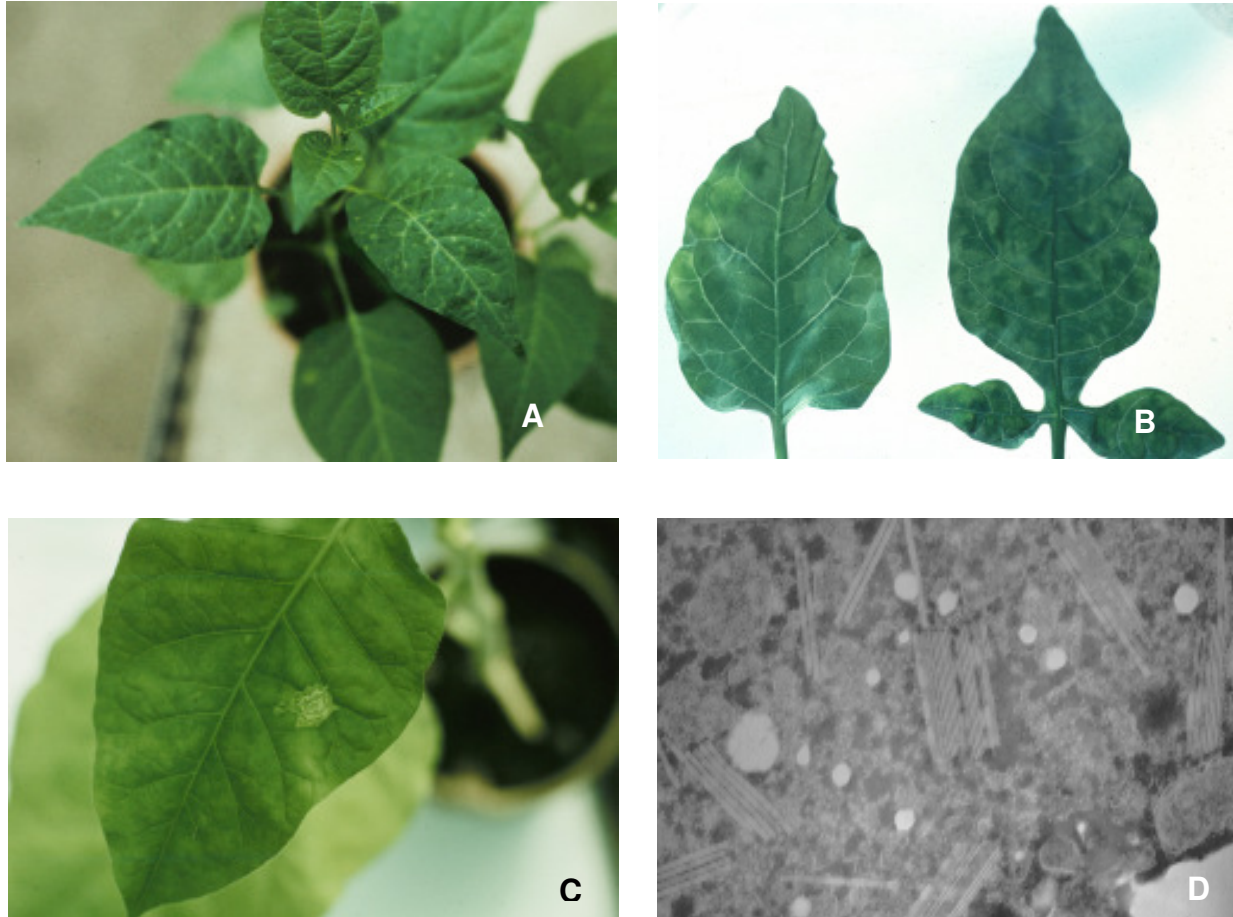


¹**Jelmagyarázat:** ↕↕ = mechanikai átvitel; L. = lokális tünetek; S. = szisztemikus tünetek; kl = klorotikus léziók; nll = nekrotikus lokális léziók; ék = érkvilágosodás; mo = mozaik; d = deformációk; tm = tünetmentes; sf = sárga foltok; **L** = passzálás az inokulált levélről; **S** = passzálás a csúcsi (szisztemikusan fertőzött) levélről; **L(el)** = egyléziós passzálás; a boxok az egymástól szeparált Sd1 és Sd2 izolátumok propagatív gazdanövényeken szaporított tiszta kultúráját jelölik; →EM = elektronmikroszkópos vizsgálat; g28nm = gömb alakú, kb. 28 nm átmérőjű vírus; p300x18 nm = pálcika alakú, kb. 300 x 18 nm méretű vírus.

A gömb alakú Sd2 komponens tanulmányozása azt igazolta, hogy ez a vírus a Magyarországon ismeretlen ebszőlőcsucor foltosság vírus (*Dulcamara mottle virus*, DMV; *Tymovirus* genus, *Tymoviridae* család) új szerotípusával (DMV/H) azonos. A DMV/H izolátum jellemzése nem feladata az értekezésnek. Azonosításával kapcsolatban BECZNER et al. (1980) munkájára hivatkozunk.

A virionok morfológiai vizsgálata megerősítette, hogy az Sd1 víruskomponens a *Tobamovirus* nemzetségbe (korábban Tobamovirus csoport) tartozó vírus izolátuma. A víruscsoporton belüli további differenciáláshoz az Sd1 izolátummal a *C. annuum* cv. Javított cecei (TMV fogékony) és D- Cecei-SH (az L¹ gént tartalmazó TMV rezisztens) paprika fajtákat, a *L. esculentum* cv. Rutgers és a *N. sylvestris* tesztnövényeket inokuláltuk. Megállapítottuk, hogy a különböző paprika fajták és a Rutgers paradicsom fajta az inokulációra szisztemikus sárga mozaik tünetekkel, míg a *N. sylvestris* csak lokális nekrotikus léziókkal reagált. Ennek alapján, GIBBS et al. (1977) munkáját figyelembe véve, az Sd1 izolátumot a tobamovírusok „ToMV csoportjához” soroltuk és „ToMV-Sd”-vel jelöltük.

A ToMV-Sd, a ToMV-D/H valamint a TMV U1 izolátumok szerológiai rokonságát mikroprecipitin titrálási tesztekkel vizsgáltuk. Ezek a vizsgálatok azt bizonyították, hogy a ToMV-Sd izolátum a ToMV-D/H izolátummal, valamint a TMV-U1 izolátummal csak távoli szerológiai rokonságot mutat (BECZNER et al. 1980).

**6. ábra**

Szisztémikus tünetek az Sd1 (A) és az Sd2 izolátummal (B) fertőzött *S. dulcamara* levelein. Az Sd1 izolátum által okozott szisztémikus sárga foltosság a *N. tabacum* cv. Samsun levelén (C). Az Sd1 izolátum virionjai (D).

4.1.2 Tobamovírusok izolálása és differenciálása „Ob” jelzésű paprika mintákból

Előfordulás, tünetek és etiológiai adatok

1978 nyarán Dr. Csilléry Gábor paprikanemesítő (Zöldségtermesztési Kutatóintézet, Budapest) az Óbuda Mezőgazdasági Kertészeti Termelőszövetkezet üvegházaiban (Budakalász) Soroksári R paprika fajta állományában sárga mozaik-foltosságot mutató növényeket figyelt meg. Megállapította, hogy a beteg növényeket olyan tobamovírus fertőzte, amely - a TMV-re nem jellemzően – lokálisan fertőzte a *N. sylvestris* dohány teszt növényeket és nem csak lokálisan, hanem szisztemikusan is megbetegítette az N rezisztencia génnel rendelkező *N. glutinosa* és *N. tabacum* cv. Xanthi-nc teszt növényeket, valamint az L¹ rezisztencia gént tartalmazó paprika fajtákat. A Zöldségtermesztési Kutatóintézettel együttműködésben végzett munkánkat (TÓBIÁS et al., 1978) folytatva 1979 nyarán konzultáltunk Dr. Csilléry Gáborral, aki a fenti információk szóbeli közlésével, eredményei első publikálása előtt (CSILLÉRY és RUSKÓ, 1980) „Ob” jelzéssel Javított cecei (JC) és Soroksári (SO) paprika fajták beteg növényeit bocsátotta rendelkezésünkre összehasonlító vizsgálatokhoz. A cserepezett növények az eredeti gyűjtésből származó paprikákon megfigyelt sárga mozaik tüneteket mutatták (8. A ábra).

Vírusizolálás, -differenciálás és -szeparálás

A beteg JC és SO paprika minták leveleiből nyert inokulumokkal *C. annuum* cv. Javított cecei, *D. stramonium*, *N. glutinosa*, *N. tabacum* cvs. Xanthi-nc és Samsun és *N. sylvestris* akceptor-teszt növényeket inokuláltunk. Az inokulált teszt növényeket a megfigyelt lokális és szisztemikus tünetek alapján az alábbi három csoportba soroltuk (7. ábra):

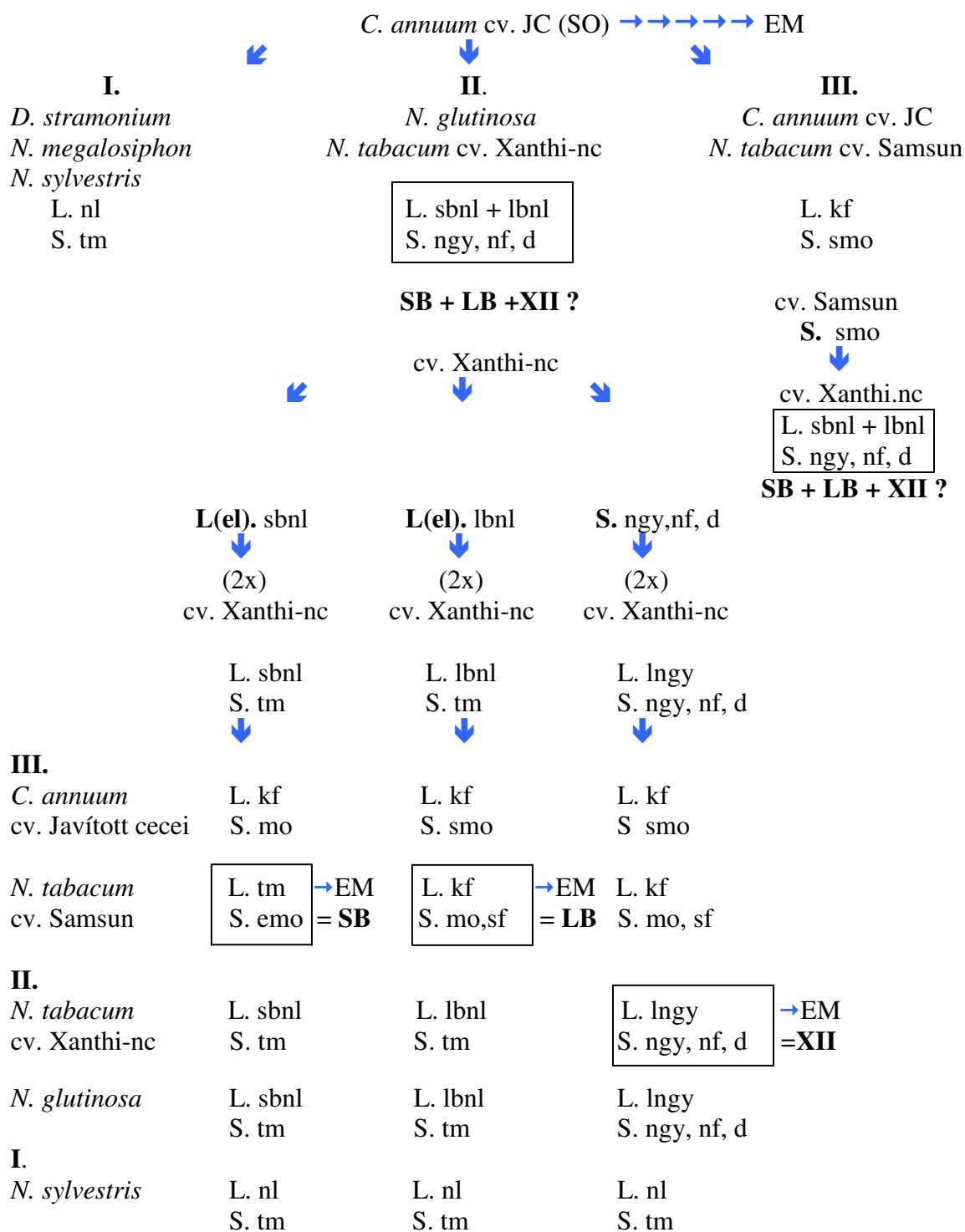
- I. csak lokális nekrotikus léziókkal reagáló teszt növények: *D. stramonium*, *N. megalosiphon* és *N. sylvestris*
- II. lokális nekrotikus léziókkal és gyűrűkkel valamint szisztemikus nekrotikus foltokkal, gyűrűkkel és deformációkkal reagáló növények: *N. glutinosa* és *N. tabacum* cv. Xanthi-nc (8. B, D ábra)
- III. lokális klorotikus foltokkal és szisztemikus sárga mozaik tünetekkel reagáló növények: *C. annuum* cv. Javított cecei (8. C ábra) és *N. tabacum* cv. Samsun (8. E ábra)

A teszt növények reakciói kizárták a paprikán sárga mozaik betegséget előidéző TAV, AMV és CMV jelenlétét, mivel ezek a vírusok szisztemikus megbetegedést okoznak az I. csoportba sorolt, a vizsgált esetekben csak nekrotikus léziókkal reagáló teszt növényeken (SALAMON et al., 1980; SALAMON, 1989). A *N. megalosiphon* és a *N. sylvestris* szisztemikus, mozaik tünetekkel reagáló gazdanövényei a TMV-nek. Ennek alapján a TMV fertőzését is kizártuk. Feltételezve, hogy a JC és SO paprika mintákat csak tobamovírus(ok) fertőzte(k), további vírusdifferenciálásra az I. teszt növény csoport növényei nem voltak alkalmasak, mivel ezeken a növényeken a paprikát fertőző különböző tobamovírusok / ToMV, TMGMV (vizsgálataink idején PTMV) és a különböző „TMV paprika törzsek” (P8, P11 izolátumok, RAST, 1978) / csak nekrotikus lokális léziókat okoznak.

A *N. glutinosa* és a *N. tabacum* cv. Xanthi-nc egyedein (II. teszt növény csoport) megfigyelt tünetek az Ob jelzésű paprika minták komplex vírusos fertőzését jelezték. Erre egyrészt az inokulált leveleken kialakult léziók szembetűnő és nagy morfológiai heterogenitása, másrészt a növények szisztemikus megbetegedése utalt.

A *N. glutinosa*-n és *N. tabacum* cv. Xanthi-nc-n a lokális léziók két típusát figyeltük meg, melyeket SB (= small brown, kisméretű barna) és LB (= large brown, nagyméretű

7. ábra

Víruskomplex kimutatása az Ob jelzésű paprika növényekből és a komponensek szeparálása¹

¹ *Jelmagyarázat*: L.= lokális tünetek; S. = szisztémikus tünetek; **I., II., III.** = teszt növény csoportok; d = deformációk; emo = enyhe mozaik; kf = klorotikus foltok; lbnl = „large brown” nekrotikus léziók; lngy = lézió szerűen elhaló nekrotikus gyűrűk; mo = mozaik; nf = nekrotikus foltok; ngy = nekrotikus gyűrűk; nl = nekrotikus léziók; sbnl = „small brown” nekrotikus léziók; sf = sárga foltok; smo = sárga mozaik; tm = tünetmentes; ↓ = mechanikai átvitel; (2x) = kétszer ismételt; a boxok a szeparált komponensek (**SB, LB, XII**) első propagatív gazdait jelölik, **L(el)** = egy léziós passzáls; **S** = passzáls a beteg csúcsi levelekről; →EM = elektronmikroszkópos vizsgálat.

barna) szimbólumokkal jelöltünk (9. A ábra). Az SB típusú léziók átlagos mérete a *N. tabacum* cv. Xanthi-nc levelein a fertőzés utáni 5. napon 0.7 mm (n = 34), a 10. napon 1.3 mm (n = 46), míg az azonos korú LB típusú lézióké 2,2 mm (n = 14) és 2,8 mm (n = 37) volt. Az SB és LB lézió típust előidéző víruskomponenseket két egyléziós passzálással Xanthi-nc dohány fajtán egymástól tisztán elválasztottuk (9. B ábra). További passzálást követően ezek a komponensek sem a Xanthi-nc dohányfajtán, sem a *N. glutinosa*-n nem okoztak szisztemikus megbetegedést.

Az Ob jelzésű paprikák szövetnedvével inokulált *N. glutinosa* és *N. tabacum* cv. Xanthi-nc egyedei az SB és LB léziók megjelenése után szisztemikusan is megbetegedtek: csúcsi leveleik deformálódtak és rajtuk érközi klorotikus-nekrotikus foltok és gyűrűk, a száron pedig érnekrozis alakult ki (8. B, D ábra). A csúcsi beteg levelekből visszaizolált (szisztemizálódó) vírus, amelyet XII-vel jelöltünk, jelentősen különbözött az SB és LB komponensektől, mert a passzálást követően a Xanthi-nc dohány inokulált levelein nem határozott SB, vagy LB típusú léziókat, hanem lassabban kialakuló, kezdetben elmosódó szélű, gyűrűszerűen elhaló lokális foltokat okozott (9. D ábra), majd következetes szisztemikus megbetegedést idézett elő.

A *C. annuum* cv. Javított cecei tesztnövényeken (III. tesztnövény csoport) az Ob paprika mintákon is megfigyelt sárga mozaik foltosság alakult ki (8. C ábra), ami igazolta, hogy valóban a betegséget okozó vírus(oka)t izoláltuk. A *N. tabacum* cv. Samsun növények csúcsi levelein olyan szigetszerű sárga gyűrűs-mozaik foltosságot figyeltünk meg (8. E ábra), amely hasonlított a laboratóriumunkban tanulmányozott Sd1 tobamovírus izolátum által ezen a dohány fajtán előidézett szimptomákra.

Fenti eredmények alapján arra következtettünk, hogy az Ob jelzésű paprika növényeket legalább három, patológiai tulajdonságaik alapján megkülönböztethető vírus együttesen fertőzte. Mivel az SB és LB komponensektől szeparált XII komponens tisztaságáról vagy esetleges komplex természetéről egyléziós passzálás nélkül nem voltunk meggyőződve, a szeparált vírus komponensekkel külön-külön visszafertőzést végeztünk az eredeti tesztnövény szortimentre és megvizsgáltuk az eredeti paprikanövények szövetnedvével inokulált Samsun dohányfajtaról visszaizolálható vírust.

Az eredmények (7. ábra) azt igazolták, hogy az SB és az LB vírusvonalak több komponensre már nem bontható, tiszta komponensei az eredeti víruskomplexnek. Az XII izolátum tiszta kultúrájának előállításához a vírussal inokulált *N. megalosiphon* több léziójából végeztünk passzálást *N. tabacum* cv. Xanthi-nc növényekre. Az egyléziós passzálások után a Xanthi-nc dohányokon az eredeti XII izolátumra jellemző tüneteket figyeltük meg, azaz egymástól megkülönböztethető vírus-komponenseket az XII izolátumból egyléziós passzálások után nem tudtunk kimutatni. A Ob jelzésű paprika szövetnedvével inokulált Samsun dohányfajta egyedeinek szisztemikusan fertőződött leveleiben a fentiek szerint szeparált mindhárom víruskomponenst (SB, LB és XII) kimutattuk (7. ábra).

Az Ob jelzésű JC és SO paprika növényekből, valamint az SB, LB és XII víruskomponensek propagatív gazdanövényeiből készített preparátumokban elektronmikroszkóppal csak a tobamovírusokra jellemző kb. 300 x 18 nm méretű, pálcika alakú virionokat figyeltünk meg (8. F ábra). A patológiai és az elektronmikroszkópos vizsgálatok együttes eredményei meggyőzően igazolták, hogy az „Ob” jelzésű JC és SO paprika növényeket patológiai differenciáló módszerekkel három komponensre (SB, LB és XII) bontható tobamovírus-komplex fertőzte.

Az SB, LB és XII izolátumok rezisztencia-törő tulajdonságának megállapítására a három izolátummal külön-külön az L¹ rezisztencia gént tartalmazó D-Cecei-SH paprika fajtát inokuláltuk. Megállapítottuk, hogy az SB izolátum a növényeken csak lokális léziókat okozott, míg az LB és XII izolátumok klorotikus lokális foltokat és szisztemikus sárga mozaik tüneteket idéztek elő.

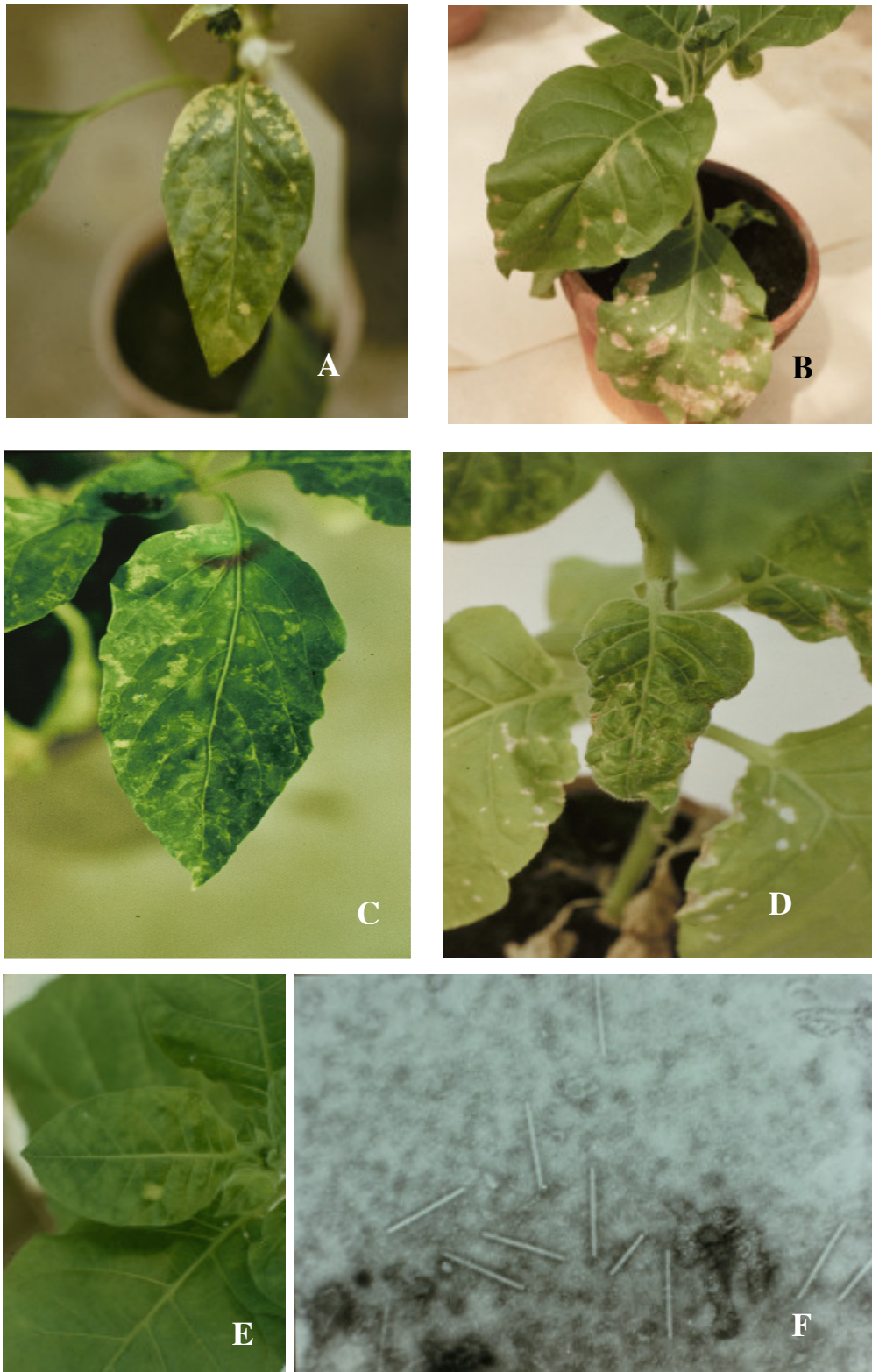
Vírusmutáns izolálása az XII komponensből

A kísérletek alatt a laboratóriumunkban fenntartott XII izolátum különös viselkedésére figyeltünk fel. Azt tapasztaltuk, hogy az XII izolátummal fertőzött *N. tabacum* cv. Xanthi-nc növényeken a szisztemikus tünetek a növények korának előrehaladtával levélemeletenként változnak. A kezdeti súlyos szimptómák (érközi nekrotikus gyűrűk és foltok) a csúcsi levelek irányában fokozatosan enyhültek és a virágzat alatti néhány levélemeleten már legtöbbször nektrózisoktól mentes sárga mozaik foltosság alakult ki. Ezekről a mozaikos csúcsi levelekről *N. glutinosa*, *N. tabacum* cv. Xanthi-nc és *N. megalosiphon* tesztnövényekre végzett visszaizolálás után azt tapasztaltuk, hogy amíg az inokulum nagy víruskoncentrációra utaló 100-200 lokális léziót okozott a *N. megalosiphon* bedörzsölt levelein, a parallel inokulált *N. glutinosa* és *N. tabacum* cv. Xanthi-nc levelein csak néhány elszórt, az XII izolátumra jellemző, léziószerű foltta alakuló lokális gyűrűt idézett elő. Utóbbi lokális foltok kis számát összevetve a *N. megalosiphon*-on megfigyelt nagy léziószámmal feltételeztük, hogy az XII izolátummal fertőzött Xanthi-nc és *N. glutinosa* dohányok csúcsi leveleiben olyan vírus szaporodott fel, amely a) nem indukál lokális nektrózt és b) a szisztemizálódás után is nektrózisoktól mentes sárga mozaik tünetet idéz elő az N-gént tartalmazó dohányokon. Feltételeztük, hogy ilyen mutáns vírus szoríthatja vissza a szülő vírus felszaporodását (XII) az idős növények csúcsi leveleiben és/vagy kölcsönhatásba lépve a szülő vírussal a visszaizoláláskor jelentősen csökkentette az utóbbira jellemző lokális gyűrűk és foltok számát a *N. tabacum* cv. Xanthi-nc tesztnövényen.

A vírusmutáció-hipotézis igazolásához az XII vírusvonallal inokulált Xanthi-nc dohány bedörzsölt levelének tünetmentes szektorából szövetdarabot vágunk ki és az ebből nyert szövetnedvvel átviteli kísérletet végeztünk *N. megalosiphon*, *N. glutinosa* és *N. tabacum* cv. Xanthi-nc dohányokra. A *N. megalosiphon* az inokulációra nagyszámú lokális lézióval reagált (9. D ábra), míg a *N. glutinosa* és a *N. tabacum* cv. Xanthi-nc növényeken lokális tünetek kialakulása nélkül (9. C ábra) szisztemikus mozaik és élénksárga foltosság alakult ki. A kísérletet a *N. glutinosa* inokulált leveleiről is elvégeztük, a fentiekhez hasonló eredménnyel. További fertőzésekkel megállapítottuk, hogy az XII izolátum és az abból szeparált XM (= „xanthi mosaic”) vírusvonal a *C. annuum* cv. Javított cecei, *N. sylvestris* és *N. tabacum* cv. Samsun növényeken azonos tüneteket okozott. Elektronmikroszkópos vizsgálattal az XM izolátummal fertőzött Xanthi-nc dohányban csak tobamovírusokra jellemző virionokat figyeltünk meg. Fenti eredmények alapján arra következtettünk, hogy az XII komponensből olyan vírusmutánst különítettünk el, amely lokális nekrotikus tünetek indukálása nélkül szisztemikus sárga mozaik betegséget okoz az N gént tartalmazó dohány genotípusokon. Az XM vírusvonalat *N. megalosiphon*-ról egyléziós passzálás után Xanthi-nc dohányon szaporítottuk és a továbbiakban, mint az XII izolátum patológiai variánsát tanulmányoztuk.

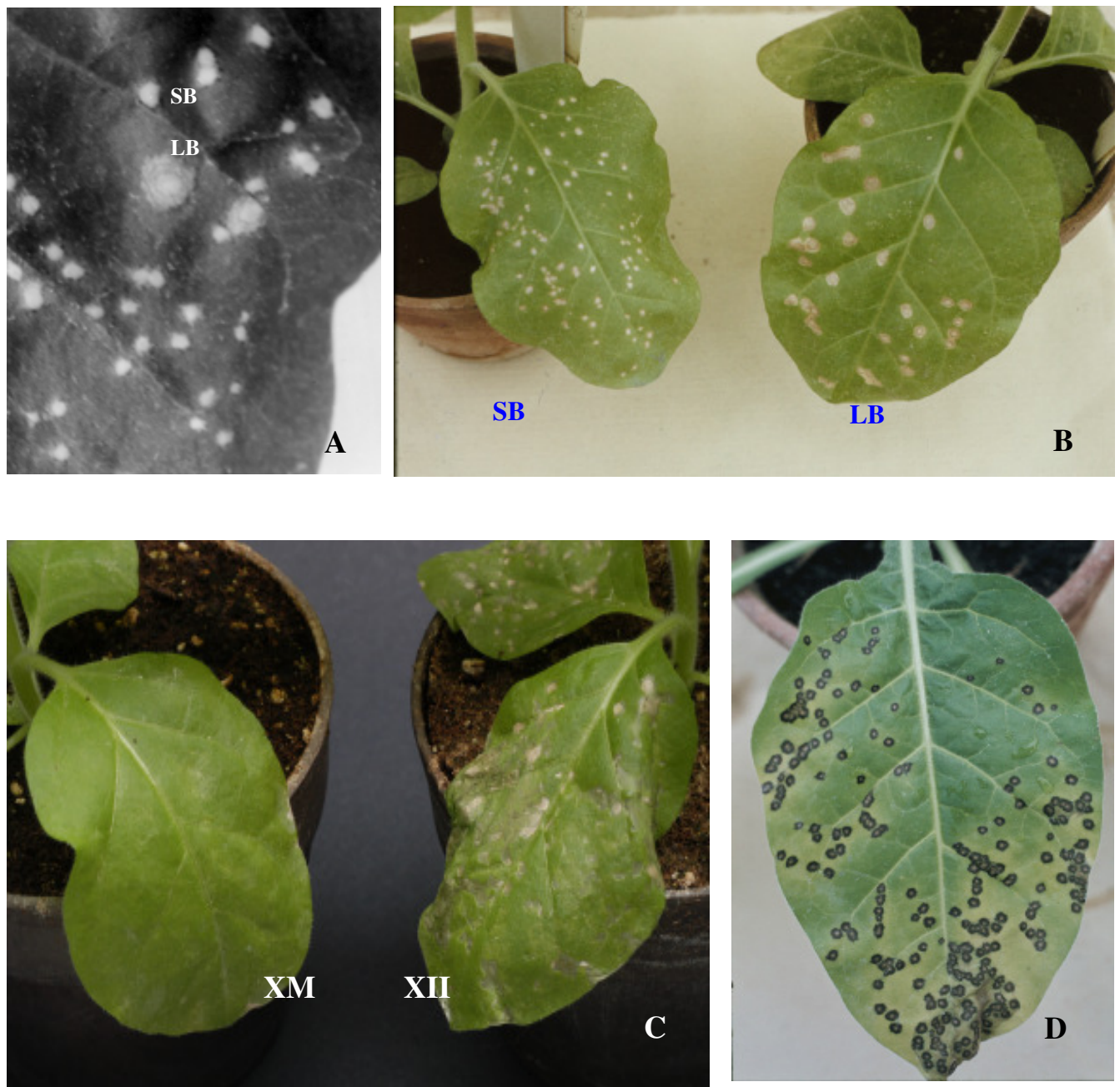
Az LB, az XII, az XM és az Sd1 vírusizolátumok patológiai és szerológiai hasonlósága

Az LB és XII izolátumok, valamint az XII izolátumból szeparált XM vírusvonal a *C. annuum* és *N. tabacum* cv. Samsun tesztnövényeken nem csak egymáshoz, hanem a laboratóriumunkban már tanulmányozott Sd1 izolátumhoz is feltűnően hasonló tüneteket okozott. Szerológiai rokonságuk megállapításához az Sd1, LB és XII izolátumokat az Sd1 izolátum antiszérumát használva szerológiai mikroprecipitin titrálási teszttel összehasonlítottuk. Az antiszérum mindhárom izolátummal azonos titer értékig (1 : 1024) reagált, ami a három izolátum nagyon közeli szerológiai rokonságát bizonyította. Mivel az SB izolátum a tesztnövényeken az LB és XII izolátumoktól jelentősen eltérő tüneteket okozott, feltételeztük, hogy ez a komponens más tobamovírus faj izolátuma.



8. ábra

Sárga foltosság az Ob jelzésű paprika (cv. Javított cecei) növényen (A). Lokális és szisztemikus betegségi tünetek az Ob jelzésű paprika növény szövetnedvével inokulált *N. tabacum* cv. Xanthi-nc (B, D), *C. annuum* cv. Javított cecei (C) és *N. tabacum* cv. Samsun (E) teszt növényeken. Tobamovírus virionok az Ob jelzésű paprika növény extraktumában (F).



9. ábra

LB és SB típusú lokális léziók a az Ob jelzésű paprika növény szövetnedvével inokulált *N. tabacum* cv. *Xanthi*-nc bedörzsölt levelén (A) és a két léziótípus a vírusszeparálás után (B). Az XM és az XII izolátumok által okozott lokális tünetek a *N. tabacum* cv. *Xanthi*-nc teszt növény levelein (C). Nekrotikus lokális léziók az XM izolátummal inokulált *N. megalosiphon* levelén (D).

4.1.3 Tobamovírus előfordulása vadon élő ebszőlőcsucson

Előfordulás és tünetek

1977 nyarán Tiszacsécsén a Tisza-ártér vegyes-füzes növénytársulásában olyan *S. dulcamara* növényeket figyeltünk meg, melyek levelei enyhe klorotikus foltosságot mutattak. Egy beteg növényről (Tcs77) virológiai vizsgálathoz levélmintát gyűjtöttünk.

1983 nyarán szintén Tiszacsécsén, a Tisza-ártéri nyárfa erdősítés (2-3 ha) aljnövényzetében figyeltünk meg beteg ebszőlőcsucor töveket. A területet bejárva azt tapasztaltuk, hogy az erdősítés szélén és az irtásokban, a naposabb helyeken élő növények levelei gyakran vírusfertőzésre utaló sárga mozaik foltosságot mutatnak. Az erdő belsejében árnyékos helyen talált példányok levelei tünetmentesek voltak vagy azokon csak enyhe kloróztist figyeltünk meg. A vizsgálatokhoz 10 növényről gyűjtöttünk leveles hajtásokat (Tcs83/1-10) és egy beteg növényt (Tcs83/11) gyökeresen begyűjtve átcserepeztünk. Egy árnyékos helyen talált, néhány levélen enyhe kloróztist mutató növényről vírustisztításhoz 20 g levélmintát gyűjtöttünk.

1988 kora tavaszán, a *S. dulcamara* rügyattanásakor, az említett nyarasban véletlenszerű (random) gyűjtést végeztünk. A gyűjtött 11 dugványt (Tcs88/1-11) gyökerezettük és üvegházban tovább neveltük.

1985 nyarán Dombrád közelében tanulmányoztuk a Tisza árterén a *S. dulcamara* spontán vírusos megbetegedéseit. A vizsgálatokhoz enyhe mozaik és levéldeformáció tüneteket mutató növényt (Db85) gyűjtöttünk.

1988 tavaszán Dombrádon, a rügyfakadás után, a Tisza-ártér erdős-ligetes részén kb. 300 x 300 m (~ 10 ha) területet bejárva hat egymástól távoli ebszőlő csucorról szedtünk fás dugványokat (Db88/1-6). Ugyanitt 2002 nyarán végeztünk szimptomatológiai megfigyeléseket, és olyan, napos helyen talált növényt gyűjtöttünk (Db02), amelynek levelein sárga mozaik foltosság alakult ki.

1977 és 2004 között különböző növénytársulásokból gyűjtöttünk további *S. dulcamara* növényeket Magyarország alábbi helységeinek lakott területein vagy azok közelében: Berkesz, Szentmártonkáta, Gödöllő, Monor, Budapest, Budakeszi, Budakalász, Tordas, Sukoró-Velence, Balatonudvari, Keszthely, Hévíz.

A gyűjtések alatt megfigyeltük a *S. dulcamara*-n megtelepedett vagy a növényen táplálkozó, vírusvektorként szóba jöhető állatokat. Általános tapasztalatunk a különböző levéltetvek (*Myzus* és *Aphis* fajok) kolonizációja, több földibolha faj és nyár végén a burgonyabogarak táplálkozása, esetenként kabóca fajok és atkák megtelepedése, valamint lepkék hernyóinak táplálkozása az ebszőlőcsucson. Az ebszőlőcsucor virágait nagy számban látogatták a nektárt gyűjtő méhek és poszméhek. 1983-ban Tiszacsécsé közelében kis méretű házas csigák tömeges táplálkozását tapasztaltuk a növényfaj egyedein. Megfigyeltük, hogy a *S. dulcamara* terméseit ősszel madarak fogyasztják. Az állatfajokat néhány kivételtől eltekintve (pl. *Myzus persicae* Sulz.) nem határoztuk meg.

Vírusizolálás- és differenciálás

A gyűjtött ebszőlőcsucor növények leveleiből nyert inokulumokkal a *Chenopodium quinoa*, *N. glutinosa* és *N. megalosiphon* tesztnövény szortimenet (esetenként más fajokat is) inokuláltuk. Eredményes vírusátvitel után a tüneteket értékeltük és az izolált vírusokat (CMV, PVM, HMV, DuMV, AMV) gazdanövénykörük, virionjaik morfológiai tulajdonságai és szerológiai vizsgálatok alapján identifikáltuk. Tekintettel arra, hogy a növények többségén tobamovírus(ok) fertőzését nem állapítottuk meg, az értekezés céljának megfelelően a továbbiakban csak azon növényminták vizsgálatával foglalkozunk,

amelyekről tobamovírust (is) izoláltunk. Más vírusokra vonatkozóan korábbi munkáinkra hivatkozunk (SALAMON, 1989; 2004; 2006a).

A Tcs/77 jelű *S. dulcamara* leveléből olyan vírust izoláltunk, amely a *N. glutinosa* és a *D. stramonium* teszt növényeken nekrotikus lokális léziókat (10. A ábra), a *Ch. quinoa*-n klorotikus elhaló lokális léziókat idézett elő. Szisztemikus tüneteket a teszt növényeken nem figyeltünk meg. A *N. glutinosa* egy léziójáról *N. tabacum* cv. Samsun dohányt inokuláltunk. Megállapítottuk, hogy ezen a dohányfajtán a Tcs/77 izolátum a laboratóriumunkban tanulmányozott Sd1 izolátumra jellemző szisztemikus sárga mozaik foltosságot idézett elő. A Tcs/77 izolátumot, amely első alkalommal igazolta tobamovírus jelenlétét a *S. dulcamara* vad populációin, az üvegházban fellépett dohány peronoszpóra járvány miatt elveszítettük.

A később (1983) megismételt gyűjtésből származó Tcs83/1-11 növényminták (10. B ábra) leveleinek szövetnedvével egy-egy *N. tabacum* cv. Xanthi-nc teszt növényt inokuláltunk. A teszt növényeken minden esetben nagyszámú, tobamovírus(ok) fertőzésére utaló nekrotikus lokális lézió alakult ki, de szisztemikus megbetegedést nem tapasztaltunk. A léziók alakja, színe és méretei az izolátumok jelentős variabilitására nem utaltak. A léziókból kiindulva *N. tabacum* cv. Samsun és *C. annuum* cv. D-Cecei-SH növényeket inokuláltunk. Megállapítottuk, hogy a Samsun dohányfajtán minden izolátum szisztemikus érkivilágosodást, szigetszerű sárga foltosodást és ritábban sárga gyűrűsfoltosságot idézett elő. A D-Cecei paprikafajtán (genotípus L¹L¹) 5 izolátum szisztemikus csúcsnekrózist és teljes elhalást, 6 izolátum sárga mozaik és gyűrűsfoltosság tüneteket okozott. A vírustisztításhoz gyűjtött ebszőlőcsucor növény a biotesztek alapján fertőzöttnek bizonyult és leveleiből nagy mennyiségű tobamovírust tisztítottunk. A cukorgrádiens centrifugálás után mért extinkciós értékből számított vírusrészlet mennyiség 6 mg volt a 20 g levélből, ami nagy (30 mg/100g) víruskihozatalnak felel meg.

Az 1988 tavaszán Tiszacsécsén gyűjtött, még levéltelen dugványnövények fertőzöttségét a kihajtás után *N. glutinosa* és *N. megalosiphon* teszt növényeken vizsgáltuk. Hat mintából (Tcs88/2-4 és 7-9) izoláltunk olyan vírust, amely mindkét teszt növényen a tobamovírusokra jellemző nekrotikus lokális léziókat okozott. Szisztemikus megbetegedést a teszt növényeken nem figyeltünk meg. Hét dugványról a fenti virofil teszt növényeken vírust nem tudtunk kimutatni.

A Dombrádon 1985-ben napos helyen gyűjtött, sárga levélfoltosságot mutató *S. dulcamara* növényről (10. C ábra) végzett vírusizolálási kísérlet eredményes volt. A Db85 növényről izolált vírus nekrotikus lokális léziókat okozott a *N. megalosiphon*, a *N. tabacum* cv. Xanthi-nc és a *N. sylvestris* akceptor teszt növényeken és szisztemikus sárga mozaik foltosságot idézett elő a D-Cecei paprikafajta, valamint a Samsun dohányfajta egyedein. Elektronmikroszkópos vizsgálattal az eredeti növényből a tobamovírusokra jellemző méretű és alakú virionokat mutattunk ki.

A Db88/1-6 dugványnövények leveleinek szövetnedvével *Ch. quinoa*, *N. glutinosa* és *N. megalosiphon* teszt növényeket inokuláltunk. A hat minta közül ötből mechanikailag átvihető vírust izoláltunk. Négy izolátum (Db88/1, 4-6) a *N. megalosiphon* és *Ch. quinoa* levelein a PVM-re jellemző tüneteket idézett elő. Ezen izolátumok és a PVM azonosságát DAS-ELISA vizsgálatok igazolták (SALAMON, 2006d). A Db88/2 mintáról származó inokulum a *N. megalosiphon* bedörzsölt levelein a PVM-re jellemző klorotikus és nekrotikus gyűrűkön kívül kis számú, de határozott, a tobamovírusokra jellemző nekrotikus léziót is előidézett, ami PVM + tobamovírus komplex jelenlétét mutatta.

A 2002-ben Dombrádon gyűjtött Db02 jelzésű ebszőlőcsucor leveleinek szövetnedvével *N. tabacum* cv. Xanthi-nc, *N. tabacum* cv. Samsun, *N. glutinosa*, *N. megalosiphon* és *C. annuum* cv. Greygo teszt növényeket inokuláltunk. Megállapítottuk, hogy a növényt olyan mechanikailag átvihető vírus fertőzte, amely a teszt növényeken az Ob jelzésű paprika mintákból elkülönített LB víruskomponenssel azonos vagy ahhoz nagyon hasonló szimptomákat idézett elő (6. táblázat). Az üvegházban fenntartott ebszőlőcsucor

növényről 2004 tavaszán újabb izolálási kísérletet végeztünk *N. tabacum* cv. Xanthi-nc teszt növényekre. Ekkor megállapítottuk, hogy 12 inokulált Xanthi-nc dohány növény közül három növényen a lokális léziókon kívül szisztémikus nekrotikus levélfoltosság (10. C ábra), valamint súlyos szár és csúcselhalás alakult ki. A szisztémikusan fertőződött levelekről Xanthi-nc dohányokra végeztünk visszaizolálást. A visszaizolált vírus az inokulált leveleken nagyszámú nekrotikus léziót, elszórta nekrotikus gyűrűket, majd a csúcsi leveleken enyhébb nekrotikus foltosságot és sárga mozaik foltosságot okozott. Három elkülönülő lokális lézióból és három lokális gyűrűből, valamint a csúcsi mozaikos-nekrotikus levelekről kiindulóan újabb Xanthi-nc, valamint *N. glutinosa* dohány növényeket inokuláltunk. Ezekkel a passzálásokkal csak lokális léziót okozó, nem szisztémizáló, illetve csak nekrotikus gyűrűket okozó és szisztémizáló vírus „vonalat” nem sikerült elkülönítenünk. Az üvegházban átteleltetett, szisztémikusan fertőződött *N. glutinosa* és *N. tabacum* cv. Xanthi-nc növényeken 2005 tavaszán brilliáns sárga, ritkán elhaló foltokkal tarkított mozaik tünetek alakultak ki.

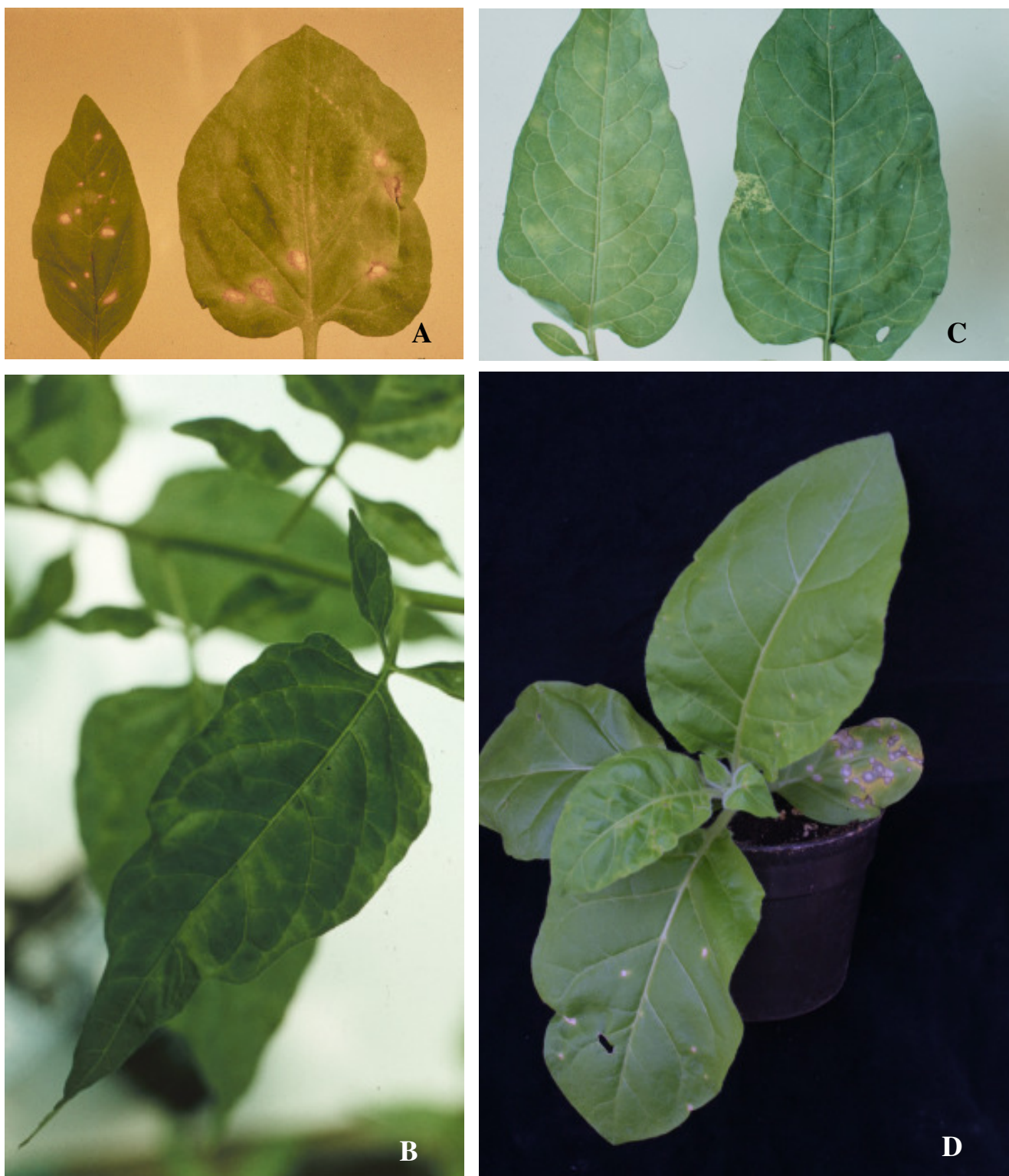
2005 tavaszán az eredeti Db02 növényről két ismételt átvitelt végeztünk a korábbiakhoz hasonló eredménnyel (6. táblázat). A Xanthi-nc dohány növényeken a lokális léziók kialakulása után ritkán ekkor is szisztémikus megbetegedést tapasztaltunk. A szisztémizáló vírus a *N. megalosiphon* teszt növényen csak nekrotikus léziókat okozott.

6. táblázat

Vírusizolálási kísérletek eredményei a Db02 jelzésű *S. dulcamara* növényről¹

Izolálási kísérlet	Inokulált teszt növények és a megfigyelt tünetek	Az első passzálással inokulált teszt növények és a megfigyelt tünetek
1. 2002	<i>N. glutinosa</i> (2) – nll/tm <i>N. tabacum</i> cv. Xanthi-nc (2) – nll/tm <i>N. megalosiphon</i> (2) – nll/tm	
2. 2004	<i>N. glutinosa</i> (2) – nll/tm <i>N. tabacum</i> cv. Xanthi-nc (12) – nll/tm (9) – nll/nf (3) → <i>N. tabacum</i> cv. Samsun (14) – kf/smo <i>N. megalosiphon</i> (2) – nll/tm	<i>N. tabacum</i> cv. Xanth-nc (1)-nll+ngy/nf ↓ ↓ ↓
3. 2005	<i>N. tabacum</i> cv. Xanthi-nc (3) – nll/tm	
4. 2005	<i>N. tabacum</i> cv. Xanthi-nc (6) – nll/tm (5) – nll/nf (1) → <i>N. glutinosa</i> (3) – nll/tm <i>N. megalosiphon</i> (1) – nll/tm <i>C. annuum</i> cv. Greygo (4) – kf/nf, smo	<i>N. tabacum</i> cv. Xanthi-nc (6)-nll/tm (5) –nll/nf (1) ↓

¹ Jelmagyarázat: () = az inokulált növények száma; / = lokális/szisztémikus tünetek; kf = klorotikus foltok, nf = nekrotikus foltok; ngy = nekrotikus gyűrűk; nll = nekrotikus lokális léziók; tm = tünetmentes; smo = sárga mozaik; → = mechanikai vírusátvitel a kövér betűtípussal jelölt tüneteket mutató levelekről.



10. ábra

Nekrotikus lokális léziók spontán fertőzött ebszőlőcsucor (Tcs77) szövetnedvével inokulált *D. stramonium* (balra) és *N. glutinosa* (jobbra) levelén (A). Enyhe klorotikus foltosság a Tisza-ártéren (Tiszacsécse, 1983) gyűjtött ebszőlőcsucor levelén (B). Klorotikus foltosság és sárga foltosság a Db85 jelzésű ebszőlőcsucor levelén (C). Lokális léziók (l) és szisztemikus tünetek (s) a Db02 izolátummal inokulált *N. tabacum* cv. Xanthi-nc teszt növényen (D).

4.1.4 Tobamovírus izolátumok jellemzése

4.1.4.1 Gazdanövénykör és szimptomatológia

A *S. dulcamara*-ról származó Sd1 izolátum, valamint az Ob jelzésű paprikáról elkülönített LB és XII izolátumok, továbbá az XII izolátumból szeparált XM vírusvonal kísérleti gazdanövényköre jelentősen nem különbözött. Ezek az izolátumok az N-gént tartalmazó *Nicotiana* fajok (fajták) kivételével a legtöbb növényfaj és fajta inokulált egyedein azonos vagy nagyon hasonló tüneteket idéztek elő (7. táblázat), ugyanakkor jelentősen különböztek a *Tobamovirus* nemzetséghez tartozó 9 vírusfaj (TMV, ToMV, TMGMV, PaMMV, PMMoV, BePMV, RMV, ORSV, SHMV) tipikus izolátumaitól. A patológiai vírusdifferenciálás szempontjából fontos tulajdonságokban az azonosságokat és a különbségeket az alábbiak jellemzik:

- a) Az Sd1, LB, XII és XM izolátumok szisztemikusan fertőzték az *S. dulcamara*-t, melynek inokulált egyedein klorotikus lokális foltokat és szisztemikus klorotikus levélfoltosságot okoztak. A fertőzött ebszőlőcsucor növények egymást követő levélemeletein gyakran jellegzetes tüneti fluktuációt (recovery-recurrent) tapasztaltunk: a tüneteket mutató levelek után tünetmentes levelek képződtek, majd ismét beteg levelek jelentek meg. A fertőzött növények levelein a tavaszi-nyári hónapokban olyan sárga foltosság és gyűrűsfoltosság alakult ki, amelyeket a természetes viszonyok között fertőződött ebszőlőcsucoron is megfigyeltünk a napos termőhelyeken fejlődő növényeken. Szisztemikus fertőzést a fenti izolátumokon kívül az ebszőlőcsucoron más tobamovírusok nem okoztak.
- b) A dohány (*Nicotiana*) fajok és fajták a különböző tobamovírusokkal szemben eltérő fogékonyságot mutattak és eltérően reagáltak. Minden tobamovírussal szemben szisztemikusan fogékonynak bizonyult a *N. benthamiana*, melynek egyedei a TMV-U1, a ToMV-D/H és TMGMV-U2 izolátumok fertőzését követően gyors letális hervadással elpusztultak. A többi izolátum ezen a dohányfajon enyhébb, vagy súlyosabb mozaik foltosságot, csúcsgyűrűsítést és deformációt és esetenként (RMV-HR, Sd1 izolátumok) lassú elhalást okozott. Minden tobamovírus izolátummal szemben szisztemikus fogékonyságot mutatott a *N. clevelandii* dohányfaj is, azonban gyors hervadást ezen a növényen nem figyeltünk meg.

A tobamovírus rezisztencia génnel nem rendelkező *N. tabacum* cv. Samsun dohány fajtán szisztemikus fertőzést okoztak a TMV, a ToMV, a TMGMV és az RMV izolátumai, valamint az Sd1, LB, XII és XM izolátumok, de csak lokális látens fertőzést állapítottunk meg a PMMoV, a PaMMV, a BePMV, az SHMV és az ORSV izolátumai esetében. Az RMV-HRM izolátum különbözött a többi tobamovírusról abban, hogy a Samsun dohány inokulált levelein nekrotikus gyűrűsfoltosságot idézett elő és ezen a növényen csak ez az izolátum okozott a mozaikos csúcsi leveleken is elhalt foltokat és gyűrűket. Az Sd1, LB, XII és XM izolátumok lokális sárga klorotikus foltokat és szisztemikus sárga-zöld mozaik foltosságot idéztek elő, gyakran kifehéredő szigetekkel és sárga gyűrűkkel (11. C ábra). Fényszegény hónapokban a sárga szigetek ritkán és elszórtan jelentek meg, míg a nyári évszakban vagy fitotronban, hosszú nappalos megvilágítás mellett a csúcsi levelek felületének nagy részére kiterjedő, krémsárga mozaik foltosság alakult ki. Ezek a tünetek lényegesen különböztek a TMV, a ToMV és a TMGMV tipikus izolátumai által okozott szimptomáktól.

Az N' tobamovírus rezisztencia gént hordozó *N. sylvestris* reakciói alapján a vizsgált tobamovírusok két patológiai csoportot képeztek. Szisztemikus megbetegedést

ezen a növényen csak a TMV-U1 izolátum idézett elő, míg a többi izolátum lassabban (SHMV, ORSV), vagy gyorsabban kifejlődő nekrotikus léziókat okozott. A *N. sylvestris*-en kialakuló léziók alakja és méretei szerint az izolátumokat nem differenciáltuk, de feltűnő különbséget pl. a ToMV-D/H, az Sd1 és az RMV-HR izolátumok között nem tapasztaltunk. A *N. megalosiphon* a *N. sylvestris* dohányfajhoz hasonlóan viselkedett azzal a különbséggel, hogy a TMV fertőzésére súlyosabb szisztemikus tünetekkel reagált.

Az N tobamovírus rezisztencia génnel rendelkező *N. tabacum* cv. *Xanthi*-nc fogékonyságát és reakcióit az Sd1, LB, XII és XM izolátumokkal szemben a 4.1.1 és 4.1.2. fejezetekben ismertettük. Az összehasonlító vizsgálatok folyamán figyeltük meg, hogy ezen a dohányfajtán az Sd1 és az LB izolátumok által okozott nekrotikus léziók között különbség van. Az Sd1 izolátum által előidézett lokális léziók kisebb méretűek, határozottabb szélűek voltak, míg az LB izolátumra jellemző léziók 4-6 órával később jelentek meg, átmérőjük 1-2 mm-el meghaladta az Sd1 léziók méretét.

Az XII izolátum a *Xanthi*-nc dohány inokulált levelein jellemzően nem határozott, nekrotikus szegéllyel elhatárolódó lokális léziókat, hanem az LB lézióknál 10-12 órával később megjelenő, határozatlan szegélyű elhaló foltokat és koncentrikus, nekrotizálódó gyűrűket okozott. Léziószerű foltokat akkor figyeltünk meg, ha a vírussal már idősebb növény alsó leveleit inokuláltuk, míg ugyanazén növények fiatalabb (felső) inokulált levelein nekrotikus gyűrűk jelentek meg. A lokális tüneteken kívül az XII izolátum minden más tobamovírustól eltérően szisztemikus megbetegedést okozott a *Xanthi*-nc dohányfajtán. Az XII izolátum és az ebből szeparált XM vírusvonal abban különbözött, hogy utóbbi a *Xanthi*-nc dohányfajtán lokális tüneteket nem okozott, és a csúcsi leveleken a rezisztencia génnel nem rendelkező *N. tabacum* cv. Samsun dohány fajtán előidézett szimptomákkal azonos, nekrozisoktól mentes sárga foltosság tünetet idézett elő. A *N. glutinosa* (az N-gén forrása) minden tobamovírus izolátum fertőzésére általában a *Xanthi*-nc dohány fajtához hasonlóan reagált. Megfigyeltük azonban, hogy az XII izolátummal inokulált *N. glutinosa* gyakran teljes csúcsnekrozisban elpusztult. Fitotronban végzett kísérletek azt igazolták, hogy 28-30 C⁰-on az XII izolátum a *N. glutinosa*-n sárga lokális foltokat és élénksárga, elhalásoktól mentes mozaik foltosságot, 18-20 C⁰-on nekrotikus lokális foltokat és szisztemikus nekrozist idéz elő.

- c) Az Sd1, LB, XII és XM izolátumok szisztemikusan fertőzték az L rezisztencia géneket nem tartalmazó, valamint az L¹ rezisztencia gént tartalmazó paprika (*C. annuum*) fajtákat, azonban csak lokális léziókat okoztak az L², az L³ vagy az L⁴ allélekkel rendelkező teszter *Capsicum* fajokon és fajtákon. Tobamovírus rezisztencia gént nem tartalmazó paprika fajtákon szisztemikus sárga mozaik tüneteket idéztek elő. A sárgulás fényszegény időszakban enyhébb, napfényes hónapokban és fényszobában nevelt növényeken súlyosabb volt. A különböző genotípusú paprikák fogékonysága és ellenállósága alapján ezek az izolátumok a PaMMV-P11 izolátummal mutattak azonos patogenitást, de a P11 izolátum a fogékony paprikákon csak enyhe zöld mozaik foltosságot okozott.
- d) Az Sd1, LB, XII és XM izolátumok szisztemikusan fertőzték a tobamovírus rezisztencia géneket nem tartalmazó *Lycopersicon esculentum* cvs. Rutgers, Primset, K262 növényeket, amelyeken enyhe levéldeformációt, sárga mozaik foltosságot és ritkán gyűrűsfoltosságot okoztak. A fenti paradicsom fajtákon a TMV és a ToMV izolátumai szisztemikus mozaik foltosságot és levéllekeskenyedést, míg a TMGMV, PaMMV és az RMV izolátumai lokális látens fertőzést idéztek elő. A BePMV, PMMoV, SHMV és az ORSV izolátumaival szemben a TMV fogékony paradicsom

fajták extrém ellenállóságot mutattak. Mind a négy izolátum esetében csak lokális fertőzést (nem következetesen megjelenő lokális léziók) tapasztaltunk a Tm2 és Tm2² tobamovírus rezisztencia gént tartalmazó *L. esculentum* vonalakon.

- e) Minden tobamovírus izolátummal szemben csak lokálisan fogékony gazdanövénynek bizonyult a *D. stramonium*, amelynek inokulált levelein a különböző vírusok - az ORSV és SHMV - kivételével jól látható nekrotikus lokális léziókat okoztak. Az SHMV és az ORSV a *D. stramonium*-on kézi lupéval látható mikroléziókat idéztek elő.
- f) A különböző *Chenopodium* fajokon az Sd1, LB, XII és XM izolátumok elhaló klorotikus lokális léziókat idéztek elő és szisztémikus fertőzést általában nem okoztak. Az Sd1 és az RMV-HRM izolátumokkal inokulált *Ch. amaranticolor* növényeken ritkán szisztémikus, szigetszerű klorotikus foltokat és levéldeformációt figyeltünk meg. A *Chenopodium* fajokon következetes szisztémikus megbetegedést csak a *Ch. murale*-TMV gazda-vírus kapcsolatban állapítottunk meg.
- g) *C. sativus* cv. Delicatess a CGMMV-vel szemben, a *Ph. vulgaris* cv. Red Kidney az SHMV-vel szemben mutatott specifikus lokális és szisztémikus fogékonyságot. A TMV és az Sd1 izolátumok az uborka inokulált szikleleveléről visszaizolálhatók voltak, más tobamovírusok nem. A bab sziklevelein határozott nekrotikus léziókat okozott a TMV-U1 izolátum és mikroléziókat idézett elő a TMGMV-U2 izolátum.
- h) Különböző tobamovírusok differenciálására az irodalomban javasolt növényfajok közül különböző növény-vírus kombinációkban tanulmányoztuk az alábbi növények fogékonyságát és reakcióit: APIACEAE: *E. planum*; BRASSICACEAE: *B. rapa* var. *rapa*; PLANTAGINACEAE: *P. major*; SOLANACEAE: *C. betacea*, *S. giganteum*, *S. glaucophyllum* és *S. melongena* cv. *Kecskeméti lila*.

Megállapítottuk, hogy az *E. planum*-ot szisztémikusan fertőzték a TMGMV-U2, -C13 és -Phys izolátumok, valamint az Sd1 és XII izolátumok, de nem fertőzték a TMV-U1 és a ToMV-D/H izolátumok. A *B. rapa* var. *rapa*-n és a *C. betacea*-n az RMV szisztémikus fertőzést és mozaik betegséget okozott, míg ezeket a növényeket más tobamovírus izolátumok nem fertőzték. Az RMV-vel szemben szisztémikusan fogékony *Plantago major*-t az Sd1, LB és XII izolátumok szisztémikusan, látensan fertőzték. Ezen a növényen a TMV, a ToMV és a TMGMV izolátumai nekrotikus lokális léziókat idéztek elő. Megállapítottuk, hogy az Sd1 és XM izolátumok a ToMV-hez hasonlóan szisztémikus mozaik betegséget okoztak a *S. giganteum* növényeken és szisztémikus látens fertőzést okoztak a tojásgyümölcsön (*S. melongena* cv. *Kecskeméti lila*). A *S. glaucophyllum* minden tobamovírral szemben extrém ellenállóságot mutatott.

A gazdanövényköri összehasonlító vizsgálatok eredményei azt igazolták, hogy a *Solanum dulcamara*-ról származó Sd1 tobamovírus izolátum, valamint az Ob jelzésű paprika növényekről izolált LB és XII izolátumok, továbbá az XII izolátumból elkülönített XM vírusizolátum gazdanövényköre azonos és lényegesen eltér a paprikapatogén tobamovírus fajok autentikus izolátumainak gazdanövénykörétől. Az Sd1, LB, XII és XM izolátumokra a szisztémikusan fogékony gazdanövényeken (pl. *N. tabacum* cv. Samsun, *C. annuum* cv. Javított cecei, *S. giganteum*) általában jellemző és nagyon specifikus szimptomatológiai bélyeg a sárga, szigetszerű, gyakran koncentrikus mintázatú gyűrűsfoltosság, amelyek számát és kiterjedését jelentősen befolyásolták a hőmérsékleti –és fényviszonyok.

7. táblázat

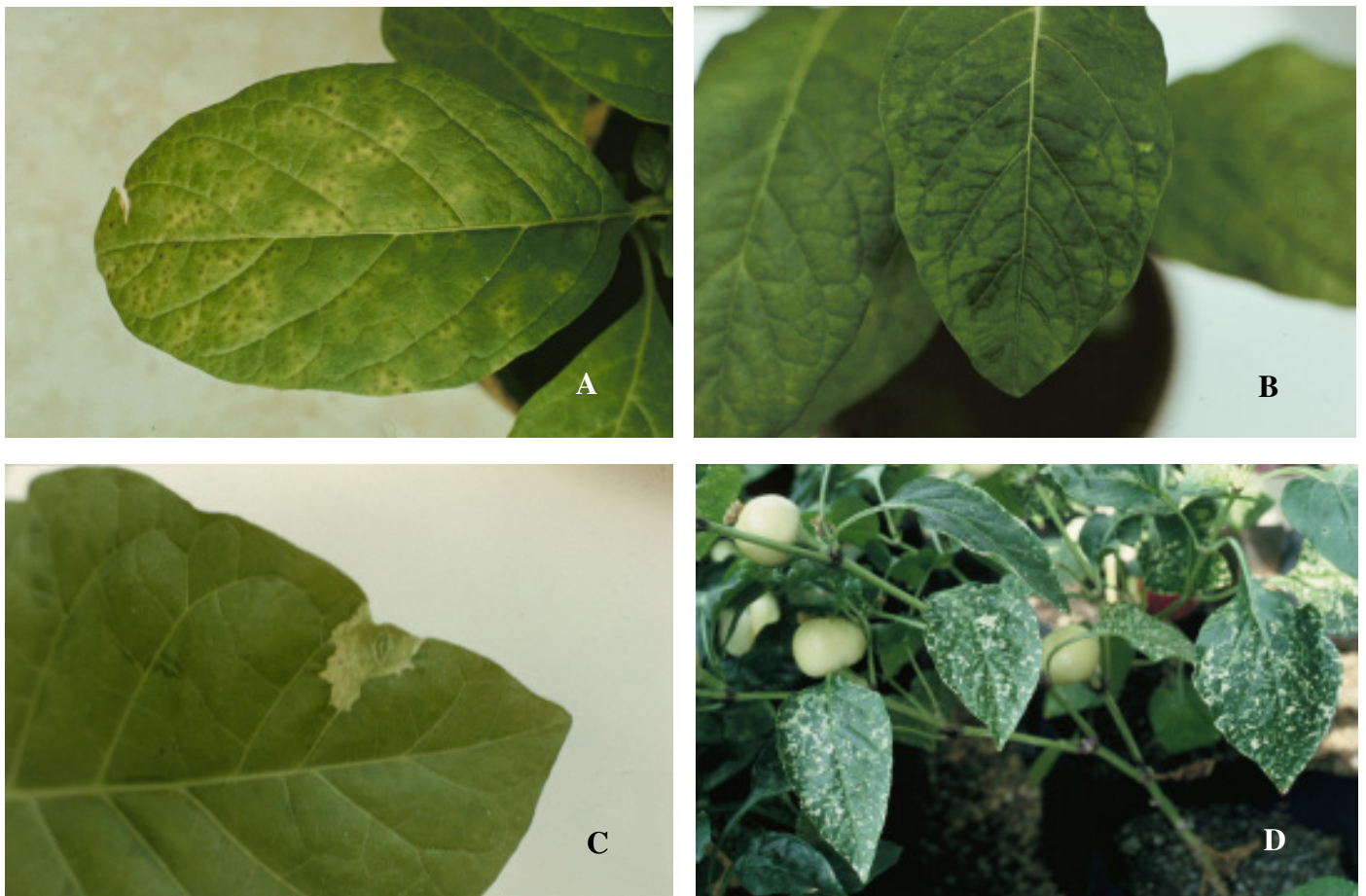
Az Sd1 tobamovírus izolátummal inokulált növényfajok és fajták fogékonysága és reakciói¹

Növénycsalád, -faj és -fajta	L	S
<i>APIACEAE</i>		
* <i>Eryngium planum</i>	+	emo
<i>CHENOPODIACEAE</i>		
* <i>Ch. amaranticolor</i>	nl	-(d)
<i>Ch. murale</i>	nl	-
<i>Ch. quinoa</i>	nl	-(d)
<i>CUCURBITACEAE</i>		
<i>C. sativus cv. Delicatess</i>	(+)	-
<i>LEGUMINOSAE</i>		
* <i>Ph. vulgaris cv. Red Kidney</i>	-	-
<i>PLANTAGINACEAE</i>		
* <i>P. major</i>	knf	-
<i>SOLANACEAE</i>		
* <i>C. annum</i>		
cv. Albaregia (L ⁺ L ⁺)	kf	smo
cv. D-Cecei-SH (L ¹ L ¹)	kf	nf, smo
cv. Ciklon (L3L+)	nl, lh	-
cv. Veltor F1(L4L4)	nl, lh	-
* <i>C. frutescens</i>		
cv. Tabasco (L ² L ²)	nl, lh	-
* <i>C. chinense</i> P. I. 159236	nl	-
* <i>Cyphomandra betacea</i>	-	-
* <i>Datura stramonium</i>	nl	-

(7. táblázat, folytatás)

	L	S
* <i>L. esculentum</i> cv. Rutgers	kf	smo
Tm1/Tm1	+	+
Tm2/Tm2	nl	-
Tm2 ² /Tm2 ²	nl	nl
* <i>N. benthamiana</i>	kf	smo, d
* <i>N. clevelandii</i>	kf	smo
* <i>N. megalosiphon</i>	nl	-
** <i>N. glutinosa</i>	nl	-
* <i>N. sylvestris</i>	nl	-
** <i>N. tabacum</i> cv. Xanthi-nc	nl	-
* <i>N. tabacum</i> cv. Samsun	nl	-
* <i>S. dulcamara</i>	kf	smo
* <i>S. giganteum</i>	kf	smo
* <i>S. glaucophyllum</i>	-	-
<i>S. melongena</i> cv. Kecskeméti lila	+	+
<i>S. tuberosum</i> cv. Kisvárdai rózsa	+	-

¹Jelmagyarázat: * = a növények az LB és XII izolátumokkal szemben hasonlóan reagáltak, **= az Sd1, LB, XII és XM izolátumok közötti különbségeket a szöveges értékelésben elemezzük; L = lokális tünetek; S = szisztémikus tünetek; - = tünetmentes, a visszaizolálás eredménye negatív; + = tünetmentes, a visszaizolálás eredménye pozitív; d = deformációk; kf = klorotikus foltok; nekrotikus foltok; lh = levélhullás; nl = nekrotikus léziók; smo = sárga mozaik; () = nem minden növényen

**11. ábra**

Lokális léziók (A) és szisztemikus mozaik tünet (B) a TMV-U1 izolátummal (A) és az Sd1 izolátummal (B) inokulált *S. giganteum* növényeken. Szisztemikus tünetek az XM izolátummal inokulált *N. tabacum* cv. Xanthi-nc (C) és *C. annuum* cv. Evita (D) növényeken.

4.1.4.2 Keresztvédettség

A *N. sylvestris* TMV-U1 izolátummal inokulált, lokálisan látens fertőzött levélfelein a nekrotikus léziókat előidéző tobamovírusok nem okoztak lokális tüneteket, vagy az általuk okozott léziók száma drasztikusan csökkent a kontrollhoz (pufferrel bedörzsölt levélfelek) képest (8. táblázat). Az XM izolátummal premunizált *N. glutinosa* növényeken is hasonló védettséget tapasztaltunk.

8. táblázat

A lokális léziók száma a TMV-U1 és az XM izolátumokkal premunizált dohány növények levelein különböző tobamovírusokkal végzett challenge inokulációk után¹

<i>N. sylvestris</i>				<i>N. glutinosa</i>				
Chv \ Prv	TMV-U1			Chv \ Prv	XM			
	3*	4	3+4		8	9	10	8+9+10
-	-	-	-	TMV-U1	2/155**	2/138	3/73	7/366 (> 98 %)
ToMV-D/H	0/76	0/147	0/223 (100 %)	ToMV-D/H	10/483	1/348	14/183	25/1014 (>97 %)
TMGMV-U2	0/105	0/214	0/319 (100 %)	TMGMV-U2	4/217	0/259	1/115	6/591 (>98 %)
RMV-HR	0/91	0/165	0/255 (100%)	RMV-HR	2/327	1/261	7/179	10/767 (>98 %)
PMMoV-P8	0/62	1/75	1/137 (>98 %)	PMMoV-T	0/30	0/33	0/23	0/89 (100%)
DYFV-XM	0/57	0/84	0/141 (100 %)	DYFV-Sd	0/218	0/206	2/61	2/485 (>98 %)

¹ *Jelmagyarázat:* Prv = protecting (védő) vírus; Chv = challenge (kihívó) vírus; * = levélemeletek; ** = a számláló a védő vírussal inokulált levélfelel, a nevező a kontroll levélfelel kialakult összes léziók számát tünteti fel; a bold számok zárójelben a védettség fokát fejezik ki a léziószám csökkenés %-ában.

4.1.4.3 Citopatológia

Az Sd1 és az XM izolátumokkal fertőzött, szisztemikus betegség tüneteket mutató *N. tabacum* cv. Samsun levelek epidermisz sejtjeiben és a trichómák citoplazmájában erősen fénytörő, kristályos hexagonális zárványokat és gyengén fénytörő szabálytalan zárványokat figyeltünk meg. Utóbbiak gyakran a sejtmag közelében helyezkedtek el. Kerek zárványtestek (rounded inclusion bodies) a sejtekben nem alakultak ki.

Az Sd1 izolátummal fertőzött dohány levelek mezofill sejtjeinek citoplazmájában elektronmikroszkóppal tobamovírus virionok aggregálódását figyeltük meg a citoplazmában

4.1.4.4 Átvihetőség vetőmaggal és a vetőmag szennyeződésének vizsgálata

Az Sd1 izolátummal inokulált, szisztémikusan fertőzött *S. dulcamara* 100 magonca közül egy növényen sárga mozaik tünet kialakulását figyeltük meg. A beteg növény szövetnedvével inokulált *N. megalosiphon* az Sd1 izolátumra jellemző lokális léziókkal reagált. A tünetmentes növényekből bioteszttel vírust nem tudtunk kimutatni.

Az XM izolátummal fertőzött paprikák magjainak áztatása után a felülúszóval inokulált *N. megalosiphon* tesztnövényeken nagyszámú lokális lézió kialakulását figyeltük meg. Az NaOH vagy Na₃PO₄ oldattal végzett kezelések után biotesztekkel a magfelületről nem tudtunk infektív vírust kimutatni. A lúgos oldatokkal nem kezelt magok csíráztatása után a csíranövények biotesztje pozitív eredményt adott, míg a kezelt magokról csírázó növények vírust nem tartalmaztak. A részletes eredményekre vonatkozóan SALAMON és KASZTA (2000) munkájára hivatkozunk.

4.1.4.5 A pollen szennyeződésének vizsgálata

Az XM izolátummal fertőzött paprika növényekről gyűjtött pollent a vírussal szemben lokális léziókkal reagáló *N. megalosiphon* tesztnövényre szórva, steril vízzel átítatott vattával végzett bedörzsölés után a tesztnövényeken nagyszámú nekrotikus lézió kialakulását tapasztaltuk. (SALAMON és KASZTA, 2000).

4.1.4.6 Fizikai tulajdonságok

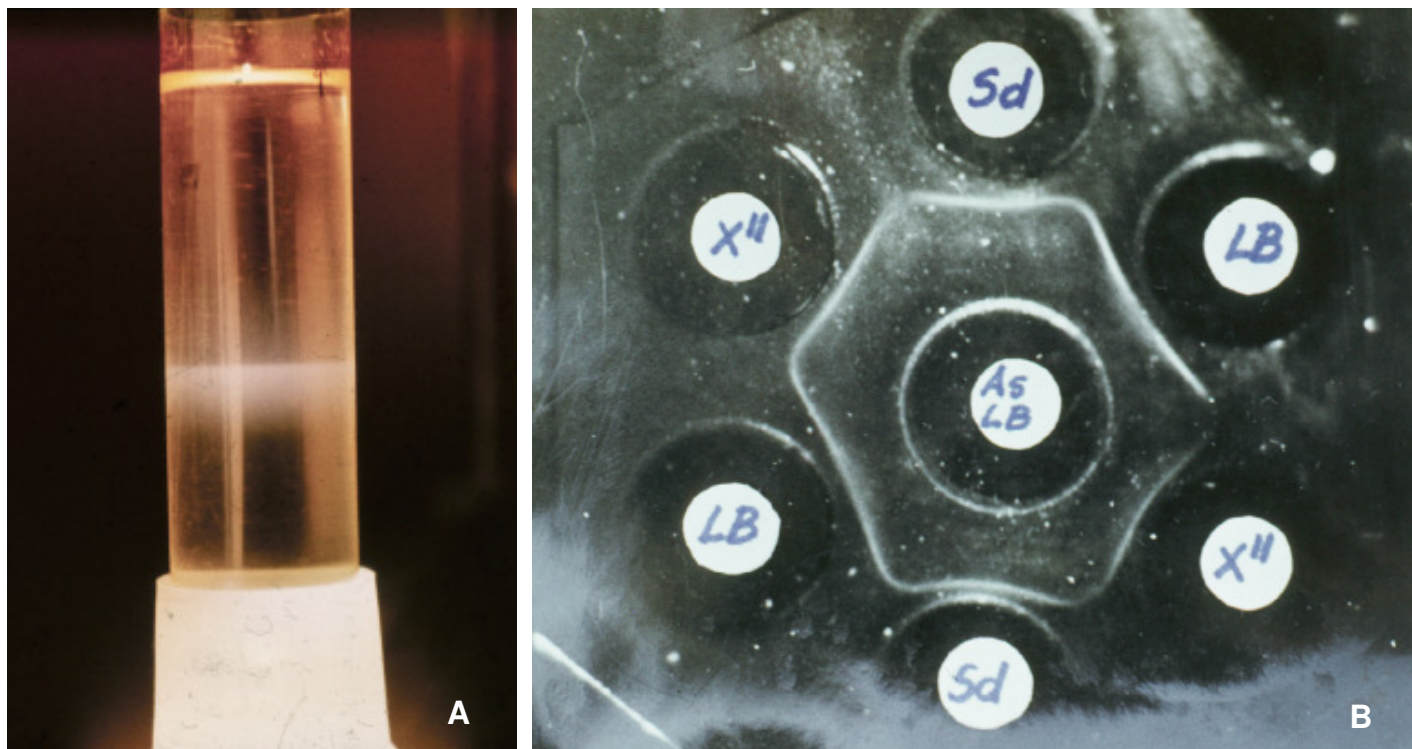
Az Sd1 izolátum dohány szövetnedvben megállapított hőinaktiválási pontja 86-88 C⁰, higíthatósága 10⁻⁵ - 10⁻⁶ között volt.

4.1.4.7 A virionok alakja és méretei

Elektronmikroszkópos vizsgálattal megállapítottuk, hogy az Sd1 izolátum virionjai a tobamovírusokra jellemző merev pálcika alakúak, és gyakran oldalaikkal („side by side”) egymáshoz tapadva aggregálódnak. A virionok hossza 300-310 nm, szélessége 18-20 nm között változott. Hasonló tobamovírus virionokat figyeltünk meg az LB, XII és XM izolátumokkal inokulált fertőzött növényekben is. A virionok normál hosszát nem állapítottuk meg.

4.1.4.8 Vírustisztítás, a virionok ülepedése és UV spektruma

Az Sd1, LB, XII és XM izolátumok virionjai a propagatív gazdanövényekből nagy mennyiségben tisztíthatók voltak. A részlegesen tisztított virionok cukorgrádiensben egy széles zónában ülepedtek (12. A ábra). Az ülepedés sebességében nem tértek el más tobamovírus izolátumoktól (TMV-U1, ToMV-D/H). A tisztított virionok UV spektrum görbéje a tobamovírusokra jellemző értékeket mutatta.

**12. ábra**

Az Sd1 izolátum virionjainak ülepedése (opaleszkáló zóna) cukorgrádiensben (A). Agar-gél immundiffúziós spur teszt (B) az Sd, LB és XII izolátumok tisztított virionjaival (AsLB = az LB izolátum ellen készített antiszérum).

4.1.4.9 Szerológia rokonság

Szerológiai rokonság az SDI indexek alapján

Összehasonlító vizsgálatokban az általunk előállított antiszérumok (RMV-HR, RMV-Tcs, SB, LB és XII) mikroprecipitin teszttel meghatározott homológ titer értékei 1/128 és 1/2048 között változtak és egészséges növények szövetnedvével 1 : 2 arányú hígításban nem reagáltak (9. táblázat). A kereszt-titrálások minden vizsgált tobamovírus izolátum között szerológiai rokonságot mutattak. Az antiszérumok homológ és heterológ titer értékeiből számított szerológiai differenciál indexek alapján megállapítható, hogy az Sd1, LB és XII izolátumok között a szerológiai rokonság nagyon szoros (SDI = 0.0 - 0.5). Hasonlóan szoros rokonságot mutattunk ki az SB és TMGMV-U2 (SDI = 0.33 - 1.0) izolátumok, valamint az RMV-HRM és az RMV-Tcs (SDI = 0.33 -1.33) izolátumok között is. A vizsgálatok távoli szerológiai rokonságot igazoltak Sd1, LB és XII izolátumok valamint a TMV, a ToMV, a TMGMV és az RMV izolátumai között mindkét irányban (SDI = 3.0 – 7.0). Az SB izolátummal szemben tapasztalt kisebb SDI értékek (1.66 – 2.0) az SB antiszérumok alacsony titerével magyarázhatók.

DAS-ELISA vizsgálatok

DAS-ELISA tesztekben az Sd1 és LB izolátumok antiszérumai erős reakciót csak az LB és a PaMMV-P11 izolátumok antigénjével adtak, közel azonos értékig. Az LB és P11 antigének közötti szerológiai különbségre utalt azonban, hogy az LB antigén nem reagált, míg a P11 antigén reagált az ORSV izolátum antiszérumával. A vizsgálatokban PMMoV antiszérumot nem használtunk, de feltűnő volt, hogy amíg a PMMoV antigének nem reagáltak az Sd1 és LB antiszérumokkal, viszonylag erős reakciót adtak az ORSV és a TMGMV antiszérumaival.

Kettős agar gél-diffúziós spur tesztek és intragél abszorpciós tesztek

Spur tesztekkel és intragél abszorpciós tesztekkel az Sd1, LB, XII és XM izolátumok szerológiai azonosságát az LB izolátum ellen készített antiszérummal vizsgáltuk. Megállapítottuk, hogy az antiszérummal agaróz gélben mind a négy vírus tisztított preparátuma erős precipitációt adott. Az antigénekkal szemben képződött precipitációs ívek egy csúcsban találkoztak, sarkantyút nem képeztek (12. B ábra). Szerológiai különbséget a négy izolátum között intragél abszorpciós tesztekkel sem tudtunk kimutatni.

9. táblázat

Tobamovírusok antiszérumainak homológ és heterológ reciprok titer értékei¹

Antiszérum	Vírusizolátum								
	TMV -U1	ToMV -DH	TMGMV -U2	SB	RMV -HR	RMV -Tcs	Sd1	LB	XII
TMV-U1 (1)*	512	32	16	16	16	16	8	8	8
TMV-U1 (2)	128	16	8	8	8	8	4	4	4
ToMV-D/H	128	1024	64	64	128	128	32	32	32
TMGMV-U2	64	128	1024	512	32	32	128	128	128
SB (1)	16	4	256	256	64	64	256	128	128
SB (2)	32	32	128	256	64	32	32	64	64
SB (3)	32	64	128	128	32	32	32	32	32
RMV-HR (1)	64	32	32	64	256	128	32	64	32
RMV-HR (2)	32	16	32	32	1024	256	16	32	16
RMV-HR (3)	64	16	16	8	512	128	8	16	16
RMV-Tcs (1)	32	32	16	16	128	128	4	8	4
RMV-Tcs (2)	64	32	16	16	128	256	4	8	4
RMV-Tcs (3)	64	16	16	8	512	512	8	8	8
Sd1 (1)	16	8	64	32	32	16	512	512	512
Sd1 (2)	8	8	32	32	8	8	2048	1024	2048
LB (1)	64	16	256	256	64	32	1024	1024	1024
LB (2)	64	8	128	64	32	32	512	1024	1024
LB (3)	32	8	128	64	64	32	1024	1024	1024
LB (4)	8	4	32	32	16	8	512	512	512

¹ Jelmagyarázat: *= azonos nyúttól különböző időpontokban vett vérminták sorszámára; a vastagon szedett számok a közel rokon vírusizolátumok reciprok titer értékeit emelik ki.

10. táblázat

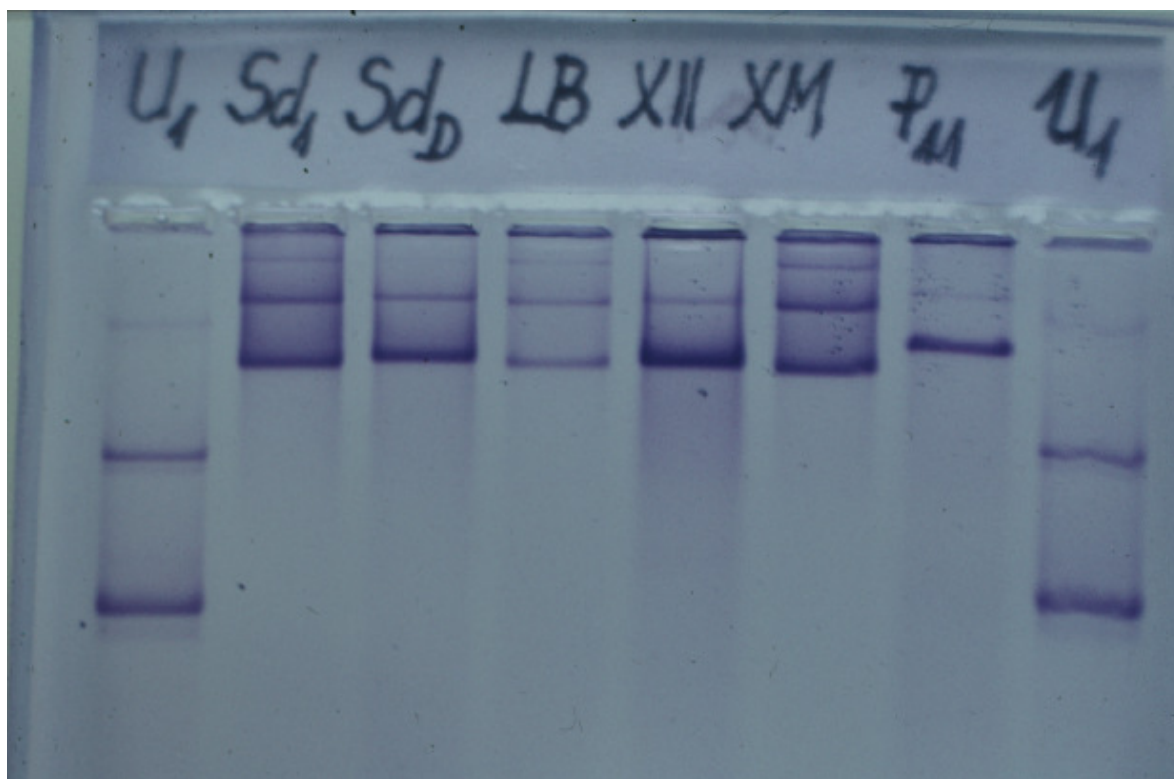
Tobamovírusok antiszérumainak homológ és heterológ titer értékeiből számított szerológiai differenciál indexek¹

Antiszérum	Vírusizolátum								
	TMV -U1	ToMV -D/H	TMGMV -U2	SB	RMV -HR	RMV -Tcs	Sd1	LB	XII
TMV-U1	0,00	3,5	4,5	4,5	4,5	4,5	5,5	5,5	5,5
ToMV-D/H	3,00	0,0	4,0	4,0	3,0	3,0	5,0	5,0	5,0
TMGMV-U2	4,0	3,0	0,0	1,0	5,0	5,0	3,0	3,0	3,0
SB	3,0	3,33	0,33	0,0	2,0	2,33	1,66	1,66	2,0
RMV-HR	3,0	4,33	4,0	4,0	0,0	1,33	4,33	4,0	4,33
RMV-Tcs	2,33	3,33	4,0	4,33	0,33	0,0	5,66	5,66	5,66
Sd1	6,50	7,00	4,5	3,5	6,5	6,0	0,0	0,5	0,0
LB	4,75	6,25	3,0	5,0	4,5	5,25	0,5	0,0	0,0

¹Jelmagyarázat: a vastagon szedett számok közel rokon vírusok között megállapított SDI indexeket emelik ki.

4.1.4.10 A virionok elektroforetikus mobilitása agaróz gélben

A különböző tobavírusokkal fertőzött tesztnövények centrifugált szövetnedvének agaróz-gél elektroforézise után a gélben a startponttól különböző távolságra vándorló, fehérje festékekkel jól festődő diszkrét csíkok jelentek meg (**13. ábra**). A TMV és a ToMV esetében a festődő csíkok megfeleltek azoknak a csíkoknak, melyek ASSELIN és GRENIER (1985) szerint a tobamovírus-virion monomerekre és dimerekre jellemzők. Az Sd₁, LB, XII és XM izolátumok, valamint az Sd_D (*Solanum dulcamara*, Dombrád86) izolátum virionjainak mobilitása azonos volt és jelentősen eltért a TMV és ToMV virionok mobilitásától. Az Sd₁ és LB izolátumokkal a DAS ELISA eredmények szerint közeli szerológiai rokonságot mutató P11 izolátum elektroforetikus mobilitása különbözött az Sd₁, LB, XII és XM izolátumoktól.



13. ábra

Tobamovírus virionok elektroforetikus mobilitásának összehasonlítása agaróz-gél elektroforézissel. Az Sd_D minta a Dombrádon 1988-ban gyűjtött ebszőlőcsucsról származik.

4.2 Tobamovírus-fogékonyság és -rezisztencia *Capsicum* fajokon

4.2.1 Az Evita paprika fajta TMV ellenállóságának kialakítása és vizsgálata

A konzervipari hasznosítású paprikák között sajátos helyet foglalnak el a savanyításra alkalmas, fehérhúsú, alma alakú paprikák. Ebben a fajtatípusban az 1980-as évekig egyetlen tájfajta, az erősen csípős szentesi Almapaprika volt köztermesztésben. Részben az édes alma alakú paprika iránti piaci igény, részben az Almapaprika fajta TMV fogékonysága indokolta a fajtatípus TMV ellenálló, csípősségmentes, nagy termőképességű, korai érésű változatának nemesítését, melyet az MTA Növényvédelmi Kutatóintézetében kezdtünk el 1981-ben.

Almapaprika x Florida VR2 hibrid előállítás és az első hibridnemzedékek szelekciója

A TMV ellenállóság alma alakú fajtakörbe történő beépítéséhez rezisztenciát biztosító szülőként az amerikai nemesítésű, sötétzöld, blocky (hasáb) bogoyótípusú Florida VR-2 fajtát választottuk. Ez a fajta az L^1 rezisztencia génen kívül egyetlen recesszív génnel öröklődő PVY ellenállósággal is rendelkezik (COOK et al., 1978).

A keresztezések előtt a szentesi Almapaprika (SZA) 10 egyedét a TMV-U1 izolátummal inokuláltuk. Megállapítottuk, hogy a TMV-vel szemben minden inokulált növényegyed szisztemikusan fogékony volt, azaz L^+L^+ genotípussal jellemezhető. A keresztezéshez olyan anyanövényt választottunk, amely az üvegházi nevelés alatt a fajta fenológiai bélyegeit mutatta. A Florida VR2 (FLVR2) populáció esetében először a PVY rezisztenciát ellenőriztük. A FLVR2 és az SZA szülők 10-10 egyedét négy leveles korban a paprikáról származó PVY-C/4 és a PVY-FSO4 izolátumok (SALAMON et al., 1980; SALAMON és SZÜRKE, 1982) keverékével inokuláltuk. Megállapítottuk, hogy az SZA növények az inokulációt követően megbetegedtek és a PVY fertőzésére jellemző szisztemikus érkivilágosodás és érszalagosodás tünetekkel reagáltak, míg a FLVR2 fajta egyedei tünetmentesek maradtak. Utóbbi növények látens megbetegedését *N. tabacum* cv. Xanthi-nc tesztnövényekre végzett visszaizolálási kísérlettel nem tudtuk igazolni. A PVY rezisztens FLVR2 növények TMV ellenállóságát excizált levélteszt módszerrel vizsgáltuk. Megállapítottuk, hogy azok a TMV-U1 izolátum fertőzésére egységesen nekrotikus lokális léziókkal reagáltak, míg az XII tobamovírus izolátum (P_1 patotípus) a leveleiken klorotikus foltokat okozott. Ennek alapján arra következtetünk, hogy a FLVR2 fajta valóban az L^1 gént tartalmazta. A Florida VR2 pollenével beporzott SZA anyanövény kasztrált virága termékenyült és a fajtára jellemző bogoyót kötött.

Az SZA x FLVR2 hibrid F1 nemzedékének egyedei között morfológiai variabilitást nem tapasztaltunk, azok hibrid fenotípusos jellegeket mutattak (halványzöld, lecsüngő bogoyóállású, enyhén blocky típusú bogoyók. A TMV fertőzésre minden F1 növény HR-rel reagált, azaz a FLVR2 szülőtől származó rezisztencia domináns jellegnek bizonyult. A szegregáló F2 nemzedék egyedeinek PVY és TMV ellenállóságát (R) vagy fogékonyságát (F) a szülőnövényekhez hasonló módszerrel tanulmányoztuk. A virológiai vizsgálatok a TMV rezisztencia 3 : 1 (R : F) arányú, a PVY rezisztencia 1 : 3 (R : F) arányú hasadását mutatták az F2 populációban, igazolva a TMV ellenállóság monogénes domináns öröklődését és a PVY rezisztencia monogénes recesszív jellegét. Az F2 populációból az SZA fenotípushoz közelítő (alma alakú, sárgás-fehér bogoyószínű) TMV + PVY rezisztens töveket választottunk ki, melyek öntermékenyítésből származó maganyagát, mint nemesítési alapanyagokat a Vetőmag Vállalat Kutató Intézetének (VVKI, Szentes) adtuk át további nemesítéshez. A maganyagból kiindulva, többszörös visszakeresztezéssel és egyedszelekcióval a VVKI nemesítői (Dr. Barta Anna és Ledóné Dr. Darázsi Hajnalka) fejlesztették ki a csípősség mentes Evita alma alakú paprikafajtát, amely homozigóta formában tartalmazza az L^1 tobamovírus rezisztencia allélt.

A PVY ellenállóságot a nemesítés folyamán az erre a tulajdonságra történő szelekció elmaradása miatt elveszítettük.

A tobamovirus rezisztencia megőrzésének vizsgálata az Evita fajta vetőmag tételein

A paprika nagyrészt önbeporzó növény, de a virágokat látogató rovarok (méhek, poszméhek, hangyák stb.) közvetítésével előfordul az idegen beporzás (Tanksley, 1984). Ha a pollen forrása olyan paprika genotípus, amely nem tartalmaz tobamovirus rezisztencia gént és a fajtafenntartás során több generáción keresztül elmaradnak a virológiai tesztek, a fajtapopuláció rezisztencia tulajdonságai a heterozigóta (L^+L^1) rezisztens és a fogékony (L^+L^+) genotípusú növények megjelenésével és felszaporodásával romlanak.

Mint a nemesítésben részt vállaló, de a fajta fenntartásában már nem közreműködő virológus, a fentiek miatt indokoltnak tartottam, hogy időről-időre ellenőrizzem az Evita fajta TMV ellenállóságát a forgalomba kerülő vetőmag tételek virológiai vizsgálatával. Az Evita fajta tobamovirus ellenállóságát először 1997-ben vizsgáltam, amikor megállapítottam, hogy a forgalmazott vetőmagról nevelt növények 100 %-a TMV rezisztens volt (ekkor a fémzárszámot és az inokulált növények számát nem jegyeztem fel). Ezt követően a hazai paprika fajtasortiment vírusellenállóságáról beszámoló közleményben GÁBORJÁNYI et al.(1998) az Evita fajtát, mint tobamovirus rezisztencia gént nem tartalmazó fajtát jelölték meg.

Fentiek miatt 2000-ben, majd 2005 tavaszán végeztem ismételt virológiai vizsgálatokat szintén kereskedelmi vetőmag tételeken. A rezisztencia-tesztek eredményei (12. táblázat) mindkét esetben azt igazolták, hogy az Evita fajta populációi megőrizték a TMV ellenállóságot és az L^1 rezisztencia gént homozigóta formában tartalmazzák

12. táblázat

Rezisztens növények száma az Evita paprika fajta vetőmagtétéleiben különböző patotípusú tobamovirus izolátumokkal végzett inokuláció után¹

A vetőmag tétel fémzárszáma	Vírusizolátum			
	ToMV-D/H (P ₀) ^a	BePMV-F0 (P ₀)	DYFV-XM (P ₁)	PaMMV-P11 (P ₁)
8-100/52	8/8 ^b	-	0/8	-
20-1514/04C	20/20	2/2	0/5	0/2

¹Megjegyzések: ^a A zárójelben a vírus patotípusát jelöltük; ^b a számlálóban az adott vírusizolátummal szemben ellenálló növények számát, a nevezőben az összes inokulált növény számát tüntettük fel

**14. ábra**

Az Evita paprikafajta nemesítési anyagainak vizsgálata excizált sziklevél módszerrel (A). Nekrotikus lokális léziók az Evita paprikafajta ToMV-D/H izolátummal inokulált növényein (B).

4.2.2 A Greygo paprikafajta tobamovírus-rezisztenciája

Tm0 és Tm1 tobamovírus rezisztencia szintek előfordulása a Greygo paprikafajta növényein

A paradicsom alakú paprikák fajtacsoportjához tartozó Greygo paprikafajtát a Zöldségtermesztési Kutatóintézetben nemesítették kanadai eredetű paprika populációból. 1992-ben kapott állami elismerést, mint a TMV-vel szemben ellenálló, L^1 rezisztencia gént hordozó fajta (Fehér, 2000). A fajtát ismertető dolgozatban Zatykó (1990) utalt arra, hogy a Greygo „TMV-rezisztenciája szélesebb kört fed le, mint az L^1 gén”, azonban ezt a „szélesebb kört” pontosabban nem definiálta. GÁBORJÁNYI et al. (1998) szerint a Greygo fajta az L^1 allélt (Tm0 rezisztenciát) tartalmazza.

1997-ben Mindszenten fóliasátor alatt nevelt a Greygo állományból gyűjtöttünk magot. A magvetésből származó palánták (kb. 30-40 egyed) tobamovírus rezisztenciáját a TMV-U1 és a DYFV-XM izolátumokkal végzett fertőzési kísérlettel teszteltük szikleves korban. Megállapítottuk, hogy a növények 100 %-a ellenálló volt a P_0 patotípusú TMV-U1 izolátummal szemben, és kb. 10 %-a a Tm0 rezisztenciát áttörő DYFV-XM izolátummal (P_1 patotípus) szemben is rezisztensnek bizonyult. Ennek alapján feltételeztük, hogy a Greygo fajta populációja az L^1 allélen kívül más (egy vagy több), a Tm0 rezisztenciánál magasabb szintű ellenállóságot biztosító tobamovírus rezisztencia allél(ek)e(t) is hordoz. Mivel olyan konstans paprikafajtát, amely tervezett nemesítési munka eredményeként több tobamovírus rezisztencia gént is tartalmazna korábban nem ismertünk, indokoltnak tartottuk a Greygo fajta rezisztencia tulajdonságainak részletesebb tanulmányozását.

Két tobamovírus rezisztencia szint (Tm0 és Tm1) megkülönböztetése a Greygo fajta törzsanyagában és kereskedelmi tételében

A ZKI Zrt-ben fenntartott Greygo nemesítői törzsanyag (Greygo I-98) tobamovírus rezisztenciájának vizsgálatához szikleves növények két csoportját külön-külön, különböző patotípusú tobamovírusokkal inokuláltuk. Megállapítottuk, hogy a ToMV-D/H izolátummal (P_0 patotípus) inokulált növénycsoport minden vizsgált egyede hiperszenzitív reakciót mutatott és ellenállónak bizonyult. A populáció másik csoportja a P_1 patotípusú DYFV-XM izolátummal végzett inokulációt követően rezisztens (hiperszenzitív) és fogékony (szisztémikus sárga mozaik tünetekkel reagáló) növényegyedekre hasadt. A Greygo I-98 populációban a PMMoV-P8 ($P_{1,2}$ patotípus) és a PMMoV-P14 ($P_{1,2,3}$ patotípus) izolátumokkal szemben ellenálló növény nem fordult elő (13.táblázat), ami arra utalt, hogy a Greygo fajta nem tartalmazza sem az L^3 sem az L^4 rezisztencia alléleket. A kísérletet a Greygo fajta kereskedelemben forgalmazott vetőmagjáról nevelt növényeken is elvégeztük, hasonló eredménnyel.

Vizsgálataink igazolták, hogy a Greygo fajta nemesítési törzsanyaga a tobamovírus rezisztencia allélekre nézve heterogén populáció. A növénypopulációk egységes viselkedése (rezisztenciája) a P_0 tobamovírus patotípussal szemben és szegregálódása a P_1 patotípussal végzett inokulációra azt bizonyította, hogy a növényegyedek a tobamovírus rezisztencia szempontjából elméletileg az alábbi genotípusokkal jellemezhetők: L^1L^1 = csak a P_0 patotípussal szemben ellenálló (Tm0) növények, valamint L^1L^{2g} , illetve $L^{2g}L^{2g}$ = a P_1 patotípussal szemben is ellenálló (Tm1) növények, feltételezve, hogy a Tm1 rezisztenciát biztosító, L^{2g} -vel jelölt allél az L lokuszon van és domináns az L^+ és az L^1 allélekkel szemben. Mivel a Greygo fajtában talált Tm1 rezisztencia eredetét nem ismerjük, az ezt meghatározó gént L^{2g} jelzéssel különböztettük meg a *C. frutescens* cv. Tabasco-ból ismert L^2 alléltól.

13. táblázat

Rezisztens növényegyedek száma különböző Greygo populációkban különböző patotípusú tobamovirus izolátumokkal végzett inokulációk után¹

Paprika faj, - fajta és - vonal	Vírusizolátum			
	ToMV -D/H	DYFV -XM	PMMoV -P8	PMMoV -P14
A.				
<i>C. annuum</i> cv. Albaregia (L ⁺ L ⁺)	0/15	0/15	0/10	0/10
<i>C. annuum</i> cv. D-Cecei-SH (L ¹ L ¹)	11/11	0/14	0/15	0/15
<i>C. frutescens</i> cv. Tabasco (L ² L ²)	13/13	16/16	0/17	0/14
<i>C. annuum</i> cv. Ciklon (L ⁺ L ³)	13/13	16/16	10/10	0/10
<i>C. annuum</i> cv. Hímes (L ⁺ L ⁴)	13/13	13/13	10/10	12/12
<i>C. annuum</i> cv. Greygo G I-98 (L?)	6/6	7/20	0/12	0/13
B.				
<i>C. annuum</i> cv. Greygo				
G I-98	16/16	7/14	-	-
G DH/I96	14/14	0/15	-	-
G 2000/1 (S1)	20/20	0/20	-	-
G 2000/2 (S1)	23/23	5/19	-	-
G 2000/3 (S1)	16/16	20/20	-	-
C.				
<i>C. annuum</i> cv. Greygo				
S. elit -2-163/607**	15/15*	2/30	-	-
↳		1/15	-	-

¹Jelmagyarázat: **A.**, **B.**, **C.** = független kísérletek eredményei; * rezisztens/összes inokulált növény száma; ** = kereskedelmi forgalomból vásárolt kistasakos kiserelésű vetőmag fémzár száma; ↳ = ismételt fertőzés más patotípusú tobamovirus izolátummal; - = nem vizsgált.

Greygo anyanövények öntermékenyítésből származó utódainak tobamovírus-rezisztenciája

A feltételezett két rezisztencia gén további tanulmányozásához a ToMV-D/H izolátummal inokulált rezisztens Greygo egyedek közül anyanövényeket választottunk ki, (jelölésük G 2001/1-2000/8), melyeket üvegházban neveltünk fel. Az anyatövek a DUS morfológiai bélyegek alapján egységesek voltak és minden fenológiai tulajdonságban a standard Greygo fajta jegyeit mutatták (15. ábra).

A G 2000/1, -2000/2 és -2000/3 anyatövek öntermékenyítésből származó utódait (S1 populációk) két Greygo populáció (Greygo I 98 = a fajta nemesítési törzsanyaga és Greygo DH/I 96 = a Greygo fajtából készült dihaploid vonal) kontroll csoportjaival párhuzamosan, szikleveles korban a ToMV-D/H és a DYFV-XM izolátumokkal inokuláltuk. A G 2000/1 anyanövény S1 utódnemzedékének egyedei rezisztensek voltak a P₀ patotípusú ToMV-D/H izolátummal szemben, ugyanakkor szisztémikus fogékonyságot mutattak a P₁ patotípusú DYFV-XM fertőzésére. A G 2000/3 öntermékenyítésből származó utódai mindkét vírussal szemben egységesen ellenállónak bizonyultak. A G 2000/2 anyató utódai a ToMV-D/H izolátum fertőzésére csak rezisztens reakcióval válaszoltak, azonban a testvérpopuláció a DYFV-XM izolátummal végzett fertőzést követően közel 3 : 1 arányban rezisztens és fogékony egyedekre hasadt (13. táblázat). A kontroll Greygo I 98 törzsanyag palántái mindkét vírus fertőzésére a korábbi tesztekhez hasonlóan viselkedtek, míg a dihaploid növény utódai csak a ToMV-D/H izolátummal szemben mutattak ellenállóságot.

A G 2000/1-2000/3 anyatövek utódainak virológia vizsgálata kétséget kizáróan igazolta, hogy a Greygo fajta populációjában legalább két tobamovírus rezisztencia allél fordul elő. Ezek közül az egyik minden bizonnyal azonos az L-gén L¹ alléljével, melyre nézve a G 2000/1 anyató és a dihaploid növény homozigótának (L¹L¹ genotípus) bizonyult. A másik gén valószínűleg szintén az L lokuszhoz köthető és domináns az L¹ alléllal szemben, ahogyan az a G 2000/2 növény (genotípus L¹L^{2g}) utódvizsgálatából kitűnt. Ehhez a génhez a patológiai vizsgálatok szerint az L² allélre jellemző rezisztencia tulajdonság (Tm1 rezisztencia) kapcsolódik, ezért ezt az allélt a Greygo fajtára utalva L^{2g}-vel jelöltük.

A virológiai vizsgálatok és a kiválasztott anyanövények utódainak tesztelése alapján a Greygo paprika fajta populációja a tobamovírus-rezisztencia szempontjából az alábbi genotípusú növények keverékének tekinthető: L¹L¹ (pl. G 2000/1); L¹L^{2g} (pl. G2000/2) és L^{2g}L^{2g} (pl. G2000/3). Az egyes genotípusok előfordulásának gyakorisága a populációkban (allélfrekvenciák) nagyon változó lehet, attól függően, hogy a vetőmag szaporításra szolgáló anyatövek között milyen gyakorisággal fordulnak elő a két allélt homozigóta, vagy heterozigóta formában tartalmazó egyedek.



B

C

D

15. ábra

Tünetek az XM tobamovirus izolátummal inokulált D-Cecei SH (D) és Greygo (G) paprika populációk növényein (A). A 2000/1 (G1) és 2000/2 (G2) Greygo anyanövények utódpopulációja az XM izolátummal történt inokuláció után (B). Nekrotikus léziók az XM izolátummal inokulált Greygo növény levelei (C). Magfogásra kijelölt Greygo anyatövek (D).

4.2.3 Az L^3 és L^4 allélokra heterozigóta paprika rezisztencia tulajdonságai

Atipikus tobamovírus rezisztencia előfordulása az L^4 rezisztencia allélt tartalmazó paprikák populációiban

A hibrid paprika fajták előállításában követelmény a beltenyésztett (közel izogén) szülővonalak nemesítése, fenntartása és populációik rendszeres virológiai ellenőrzése, ha azok vírus-rezisztencia tulajdonságokkal is rendelkeznek. 2003 őszén az L^4 rezisztencia allélt tartalmazó kísérleti paprika vonalak utóvizsgálata során kis gyakorisággal (0.1 - 0.2 %) olyan növényegyedekre figyeltünk fel, amelyek a szikleveleken a DYFV-XM izolátumával (P_1 patotípus) végzett fertőzésre nem az L^4 allélra jellemző késői és nagyobb méretű, hanem az L^3 allélra jellemző gyorsan kialakuló és pontszerű lokális léziókkal reagáltak. Az atipikus tüneteket mutató rezisztens töveket a populációból kiemeltük és az első lomblevelén inokulálva ismételtén csak L^3 típusú léziókat figyeltünk meg (16 A ábra). A PMMoV-P14 izolátummal ($P_{1,2,3}$ patotípus) végzett fertőzés után azt tapasztaltuk, hogy ezek a növények ezzel az izolátummal szemben is rezisztensek voltak (csak lokális léziókkal reagáltak), azaz rendelkeztek az L^4 alléllal. Ennek alapján feltételeztük, hogy az „ L^4 -es” populációkban talált, de a P_1 tobamovírus patotípus fertőzését követően az L^3 allélra jellemző lézió-típussal reagáló növények idegen beporzás eredményeként létrejött L^3L^4 genotípusú spontán hibridek. Ezek a megfigyelések hívták fel a figyelmünket arra, hogy a) az L^4 rezisztencia alléllal rendelkező paprika vonalak idegen beporzással nem kívánt rezisztencia génnel szennyeződhetnek és b) az L lokusz két különböző, eltérő rezisztenciát biztosító alléljével rendelkező paprika hibrid heterozigóta genotípusa az L^3L^4 allélkombinációban feltehetően utóvizsgálatok nélkül, virológiai tesztekkel is kimutatható. Ez akkor lehetséges, ha feltételezzük, hogy az L^3L^4 genotípusú hibrid a Tm2 rezisztenciát (L^3 allél) áttörő $P_{1,2,3}$ tobamovírus patotípusnál kisebb patogenitású tobamovírus fertőzésére csak az L^3 allélra jellemző, gyorsan kialakuló, nekrotikus léziókkal (pnl) reagál annak ellenére, hogy az L^3 allél alacsonyabb szintű rezisztenciát biztosít, mint a nagy és később megjelenő léziókkal jellemezhető L^4 allél.

Fertőzések irányított L^3L^4 hibriden

Hipotézisünk igazolásához beltenyésztett, közel izogén L^3L^3 és L^4L^4 genotípusú fehér „cecei típusú” szülők és a két szülővonal keresztezéséből származó F1 nemzedék 10-10 növényét a DYFV-XM izolátummal inokuláltuk. Megállapítottuk, hogy a szülővonalak minden egyede az adott genotípusra jellemző módon reagált. Az L^3 homozigóta egyedeken gyorsan megjelenő (40-48 óra), pontszerű léziók, míg az L^4 homozigóta egyedeken lassabban (68-72 óra) kialakuló, elmosódottabb, olykor gyűrűszerű léziók alakultak ki (16. ábra B., C). Az F1 hibrid növényeken (L^3L^4 genotípus) csak az L^3L^3 genotípusú szülőre jellemző lézió-fenotípus megjelenését tapasztaltuk (14. táblázat). A DYFV-XM izolátummal szemben rezisztens (hiperszenzitív, szisztémikus tüneteket nem mutató) szülővonalak és az F1 hibrid növényeit tovább nevelve a PMMoV-P14 izolátummal inokuláltuk. Az L^3L^3 genotípusú szülővonal egyedei szisztémikus mozaik tünetekkel reagáltak, míg az L^4L^4 szülővonal és az L^3L^4 F1 hibrid növényein csak L^4 fenotípusú léziók kialakulását és az inokulált levelek lehullását tapasztaltuk.

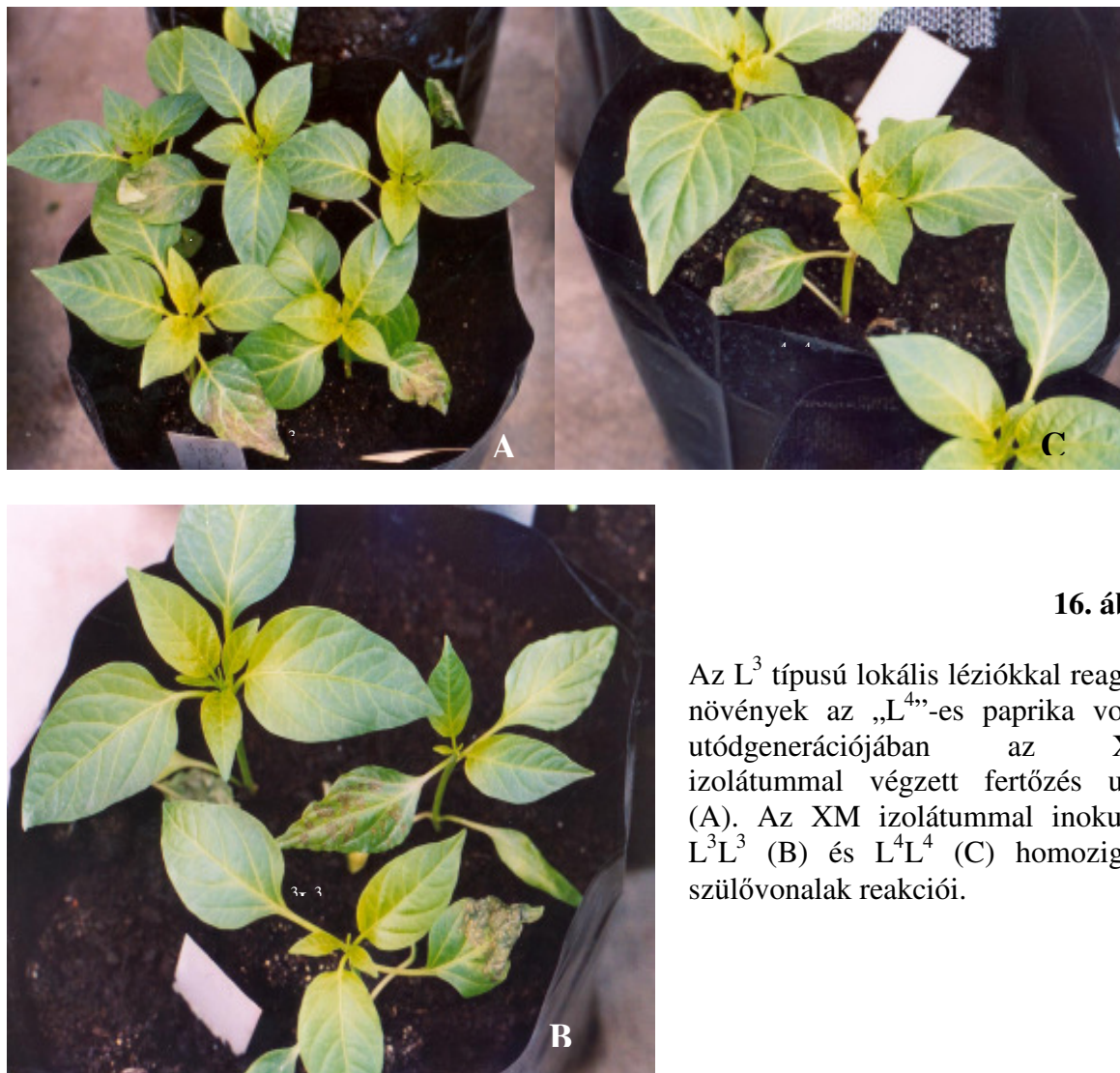
A fenti vizsgálatok alapján arra következtethetünk, hogy az L^3L^4 allélkombinációban a heterozigóta állapot virológiai vizsgálatokkal, utódelemzés nélkül is lehetséges, mivel az L^3L^4 genotípusú hibrid a Tm2 rezisztenciát nem áttörő tobamovírral szemben csak az L^3 allélra jellemző léziókkal reagált. Megállapítható továbbá, hogy az „ L^3 fenotípusú” hiperszenzitív válaszreakció az „ L^4 ” típusú reakcióval szemben domináns tulajdonság annak ellenére, hogy az L^4 allél a paprikán az L^3 allélnél magasabb szintű tobamovírus ellenállóságot biztosít.

14. táblázat

A DYFV-XM és a PMMV-P14 izolátummal inokulált L^3L^3 és L^4L^4 genotípusú paprika szülővonalak és hibridjeik reakciói¹

Paprika genotípus	Vírusizolátum és reakció	
	DYFV-XM (P ₀)	PMMoV-P14 (P _{1,2,3})
L^3L^3	pnl/- (10/10)	→ -/mo (10/10)
L^3L^4	pnl/- (10/10)	→ nnl/- (10/10)
L^4L^4	nnl/- (10/10)	→ nnl/- (10/10)

¹*Jelmagyarázat:* pnl = pontszerű lokális léziók; nnl = nagyméretű nekrotikus léziók; mo = mozaik; - = nincs tünet; / = lokális tünet/szisztémikus tünet; (10/10) = az adott tünetekkel reagáló növény/összes inokulált növény száma; →→→ = ugyanazon növényegyedeken végzett egymást követő fertőzés.



16. ábra

Az L^3 típusú lokális léziókkal reagáló növények az „ L^4 ”-es paprika vonal utódgenerációjában az XM izolátummal végzett fertőzés után (A). Az XM izolátummal inokulált L^3L^3 (B) és L^4L^4 (C) homozigóta szülővonalak reakciói.

4.2.4 Tobamovirus-rezisztencia díszpaprika tételekben

Díszpaprika típusok gyűjtése, jellemzése és nemesítése

A paprika nemzetség termesztett fajait világszerte elsősorban, mint fűszer- és zöldségnövényeket ismerik. A dísznövényként hasznosítható fajták nemesítése és forgalmazása az USA-ban és néhány távol-keleti országban már régebben elkezdődött és a jövőben várhatóan világszerte felgyorsul. A díszpaprikák nemesítésében rejlő lehetőségekre az elmúlt években többen is felhívták a figyelmet (DEWITT és BOSLAND, 1993) és különböző díszpaprikák a jelentősebb vetőmag cégek fajtalistáin is szerepelnek.

A szabadföldön termeszthető vagy cserepes növényként forgalomba kerülő díszpaprikákra általában a kis bogyóméret, a levelek és/vagy a bogyók dekoratív megjelenése jellemző (pl. tarkalevelűség, erősen antociános levélzet, olykor lila virágszirom). Ezek a tulajdonságok primitív ősalakokra, mutációkra vagy a fajok közötti keresztezésekre vezethetők vissza. A vírusokkal, köztük a tobamovirusokkal szembeni ellenállóságuk legtöbbször nem ismert, jóllehet a kultúrnövények primitív (kisbogyójú), ősi alakköreinek betegségellenállósága általában kiemelkedő.

Magyarországon 1978-ban kezdtük gyűjteni a virágüzletekben, a kistermelői piacokon, magánszemélyek kertjeiben vagy lakásaiban, valamint a botanikus kertekben fellelhető díszpaprikákat (17. ábra A, B, C). A gyűjtött növényekről magot fogtunk, az utódpopulációkat fenológiai bélyegek alapján jellemeztük és csoportosítottuk (15. táblázat). Különböző patotípusú tobamovirusokkal végzett inokulációkkal tanulmányoztuk tobamovirus fogékonyságukat és rezisztenciájukat.

Új díszpaprika típusok nemesítéséhez a különböző alakkörökben talált egyedek öntermékeny utódai között végeztünk szelekciót (anyatóvezés és beltenyésztés) valamint hibrideket állítottunk elő különböző paprikák keresztezésével. A hibridpopulációk hasadó nemzedékeiben egyedszelekciót és vírus-rezisztencia vizsgálatot végeztünk a tobamovirusokkal szemben ellenálló, dekoratív díszpaprika típus kiválasztására.

Díszpaprikák tobamovirus rezisztenciája

Az ország különböző pontjain gyűjtött díszpaprikák utódainak virológiai vizsgálata azt igazolta, hogy a morfológiai bélyegeket tekintve gyakran hasadó populációikban tobamovirus rezisztencia gént, vagy géneket tartalmazó növények fordultak elő (15. táblázat). A rezisztencia minden esetben az L^2 génre jellemző Tm1 szintű rezisztencia volt, mivel az ellenálló növények hiperszenzitív reakcióval és levélhullással válaszoltak a TMV-U1 és DYFV-XM izolátumokkal végzett inokulációkra (17. D ábra), azonban szisztemikus mozaik tünetekkel reagáltak a PMMoV-P8 izolátum fertőzésére. Az egyes tételek között a léziók méretében tapasztaltunk jelentős eltérést. Így pl. az MN-1 vonal, vagy a Budakeszi piacon gyűjtött, cseresznyepaprikaként forgalmazott heterogén bogyótípusú Bdk populációban talált rezisztens egyedeken kisebb, a „Harang alakú” paprikákon (*C. baccatum* változatok) nagyobb méretű léziókat figyeltünk meg.

A gyűjtött paprikákról kiindulóan olyan beltenyésztett vonalakat szelektáltunk (pl. MN-1, BP-3, Édesharang), amelyek szülőpartnerként vagy fajtaként hasznosíthatók.

15. táblázat

Díszpaprika tételek jellemzése és tobamovírusokkal szembeni fogékonysága és/vagy rezisztenciája¹

Díszpaprika típus és tétel jelzése	Botanikai jellemzők	Vírusizolátum			
		TMV -U1 (P ₀)	DYFV -XM (P ₁)	PMMoV -P8 (P _{1.2})	PMMoV -P14 (P _{1.2.3})
Tabasco típus					
H1(1)*	fn, fá, fhp, c	R	R	F	-
IT-2b (2)	fn, fá, fhp, c	R	R	F	-
B5 (3)	fn, fá, fhp, c	R		-	-
FP (4)	fn, fá, fhp, c			-	-
Chilli típus					
Thai chili (5)	fn, fá, zp, c	F	F	-	-
GP-3 (6)	fn, fá, fhp, c	R	R	-	-
BP-1 (7)	cs, fá, zp, c	F	-	-	-
BP-2 (8)	cs, fá, fhp, c	F	-	-	-
Tűpaprika típus					
BP-3 S4** (9)	fn, fá, zp, c	F		-	-
Madárcseresznye típus					
GP-1 (6)	fn,lcs, fhp, c	R/F	R/F	F	F
GP-2 (6)	fn/cs, lcs/fá,fhp, c	R/F	R/F	F	F
GÁ-1 (10)	fn, fá, zp, c	F	F	-	-
ZL-AA (11)	fn, fá, lv, zp, c	F	F	-	-
MN-1 S5**(12)	fn, fá, lv, lp, c	R	R	F	F
MN-1 x GP-2 F5**	fn, fá, lv, lp, c	R	R	F	F
Cseresznye típus					
Bdk-1(13)	fn, lcs, zp, c	R	R	F	F
Mini-almapaprika					
ARxMN-1 F5**	fn, fá, fhp, é	R	R	F	-
Mini cecei típus					
JcxCha „G” F5**	fn, fá, fhp, c, ph	R	R	F	F
Mini blocky típus					
MN-2 (12)	fn, lcs, lv, zp, cs	R	R	F	-
Harang típus					
KÉE-1 (14)	fn, lcs, zp, c	R	R	F	-
Édesharang**	fn, lcs, zp, c	R	R	F	F
Ékszerpaprika					
GP-2xPAZ-Vm F6**	fn, fá, tl, fp, c	F	-	-	-

¹Jelmagyarázat: F = fogékony; R = rezisztens; - = nem vizsgált; * = a gyűjtés helyei: 1= Budapest, gyógyszertár; 2 =Nyíregyháza, magánszemély; 3 =Benin, magánszemély; 4 = Budapest, Fehérvári úti piac, magánszemély; 5 = Nyíregyháza, TESCO áruház; 6 = Gödöllő, piac, magánszemély; 7= Budapest, virágüzlet; 8, 9 = Budapest, magánszemély; 10= Gödöllő, magánszemély; 11 = Andrásfalvy András; 12 = Monor, magánszemély; 13 = Budakeszi, piac; 14 = Kertészeti Egyetem, magánszemély;** = fajtabejelentésre alkalmas szelektált vonalak; c = csípős; cs = csokros, determinált; fhp = fehérből pirosra érő; fn = folytonnövő; lp = lilából pirosra érő; lv = lilalevelű; ph = puhuló bogyó; tl = tarkalevelű; zp = zöldből pirosra érő



17. ábra

Virágüzletekben vásárolt (A) és termelői piacokon (B) gyűjtött díszpaprikák változatossága. Változatos alakú „cseresznyepaprikák” (C) termelői piacról (Budakeszi, 2002). Az XM izolátummal végzett inokulációra lokális léziókkal reagáló „cseresznyepaprika” (D).

4.2.5 Paprika (*Capsicum*) fajok-, fajták- és vonalak reakciói különböző patogenitású paprikáról izolált és nem izolált tobamovírusokkal szemben

A *Capsicum* nemzetség fajainak fogékonyságát vagy ellenállóságát eddig elsősorban a paprikáról izolált tobamovírusokkal szemben tanulmányozták. Az RMV, az ORSV és az SHMV patogenitására vonatkozóan az ismeretek a paprika fajok és genotípusok szűk körére korlátozódnak. Az RMV nagy útifűn (*Plantago major*) és beléndeken (*Hyoscyamus niger*, SALAMON, 1979; SALAMON, nem közölt adat), az ORSV pedig orchideákon (SALAMON és NÉMETHY, 1988) Magyarországon is előfordul, és az SHMV behurcolásának veszélye is fennáll. Fentiek miatt fontosnak tartottuk, hogy különböző paprika fajok-, fajták- és vonalak fogékonyságát és reakcióit már ismert patotípusú tobamovírusokkal összehasonlítva e három vírushaj izolátumaival szemben is tanulmányozzuk.

Fogékonyság és rezisztencia ismert patotípusú tobamovírus izolátumokkal szemben

Az ismert patotípusú ToMV, DYFV és PMMoV izolátumokkal szemben a vizsgált paprika fajok, -fajták és vonalak közül szisztemikus fogékonyságot a *C. annuum* tobamovírus rezisztencia génekkel nem rendelkező két tétele mutatott. (16. táblázat).

A *C. chachoense*, *C. chinense*, *C. frutescens*, *C. baccatum* és *C. pubescens* fajok minden vonala lokális léziókkal reagált ToMV-vel szemben (P₀ patotípus) és szisztemikusan nem fertőződött. A lokális nekrotikus léziók néhány genotípuson (*C. frutescens* 96; *C. chinense* 91) pontszerűek voltak és ezek a genotípusok az inokulált leveleket csak 2-3 héttel az inokulációt követően hullatták le. A *C. pubescens* tétel egyedein kezdetben klorotikus léziók jelentek meg, amelyek lassan haltak el. A legtöbb ToMV ellenálló paprikán hiperszenzitív reakciót idézett elő az XM (P₁ patotípus) izolátum is, kivéve a *C. chinense* „90” vonalat, amely szisztemikusan fogékonynak bizonyult. A patogenitást tekintve a PMMoV-P8 izolátum (P_{1, 2} patotípus) különbözött a DYFV-XM-től, mert szisztemikus megbetegedést okozott a minden *C. baccatum* tétel és a *C. chachoense* „G” vonal növényein.

Fogékonyság és rezisztencia paprikáról nem izolált tobamovírusokkal szemben

A paprikáról nem izolált tobamovírusok közül szisztémikus megbetegedést csak az RMV idézett elő a tobamovírus rezisztencia allélekkel nem rendelkező *C. annuum* genotípusokon. Más genotípusok reakciói alapján az RMV-HR izolátum az XM izolátumhoz hasonló patotípust képviselt (16. táblázat), azonban különböző hiperszenzitív genotípusokon gyakran okozott szár- és csúcselhalást.

Az ORSV és az SHMV nem okoztak szisztemikus fertőzést sem a paprikapatogén tobamovírusokkal szemben fogékony, sem a különböző tobamovírus rezisztencia tulajdonságokkal rendelkező *Capsicum* genotípusokon. A paprikapatogén tobamovírusokkal szemben lokálisan fogékony *Capsicum* genotípusok egy részén az ORSV és az SHMV izolátumok is nekrotikus lokális léziókat idéztek elő. Ezek a léziók azonban a kialakulás gyorsasága és a léziók méretei alapján jelentősen különböztek a ToMV, a DYFV vagy a PMMoV izolátumok által ugyanazon genotípusokon előidézett lézióktól (pl. a *C. frutescens* genotípusokon). Több paprika genotípus (*C. annuum* fajták, *C. baccatum* „18”, *C. pubescens* „15”) válaszreakciója alapján a két vírus között is jelentős különbségeket tapasztaltunk (18. ábra).

Különlegesen reagáltak az SHMV izolátum fertőzésére a *C. chinense* 90 és a *C. baccatum* 16 és 17 tételek, amelyeken a vírus lokálisan klorotikus és nekrotikus gyűrűket okozott.

16. táblázat

Paprika (*Capsicum*) fajok-, fajta- és vonalak fogékonysága és reakciói különböző patogenitású tobamovírusokkal szemben^a

<i>Capsicum</i> faj-, fajta- és vonal	Vírusizolátum											
	ToMV-D/H (P ₀) ^b		DYFV-XM (P ₁)		PMMoV-P8 (P _{1,2})		RMV-HR (P?)		ORSV-48 (P?)		SHMV-Cc (P?)	
	L ^c	S	L	S	L	S	L	S	L	S	L	S
<i>C. annuum</i>												
Albaregia	kf ^f	mo	kf	smo	kf	mo	nf	mo	kf	-	knm	-
A ^d	kf	mo	kf	smo	kf	mo	kf	mo	kf	-	knm	-
<i>C. chachoense</i>												
„G”	nll, lh	-	nll, lh	-	kf	mo	nll, lh	-	*	*	*	*
14	nll, lh	-	nll, lh	-	nll, lh	-	nll, lh	/szn, csn/	kl	-	pnl	-
<i>C. chinense</i>												
90	nll, lh	-	kf	mo, csn	kf	mo	nll, lh	/mo, csn/	tm	-	kngy	-
91	pnl, lh	-	pnl, lh	-	pnl, lh	-	pnl	-	tm	-	pnl	-
<i>C. baccatum</i>												
18	nll, lh	-	nll, lh	-	kf	mo	nll, lh	-	pnl	-	nll, lh	-
16	nll, lh	-	nll, lh	-	knf	mo	nll, lh	-	kf	-	kngy	-
17	nll, lh	-	nll, lh	-	knf, lh	mo	nll, lh	-	kf	-	kngy	-
<i>C. frutescens</i>												
94	nll, lh	-	nll, lh	- /csn/	nll, lh	- /csn/	nll, lh	- /csn/	pnl	-	pnl	-
99	nll, lh	-	nll, lh	-	nll, lh	-	nll, lh	-	pnl	-	pnl	-
96	pnl	-	pnl	-	nll, lh	-	nll, lh	-	pnl	-	pnl	-
<i>C. pubescens</i>												
15	knf	-	knf	-	knf	-	nll	-	tm	-	pnl	-

^aJelmagyarázat: ^ba vírusizolátum patotípusa a *Capsicum* génbázison; ^clokális (L) és szisztémikus (S) reakció; ^da *Capsicum* tételek, a *C. chachoense* „G” vonal kivételével (SALAMON, 1995) a ZKI Zrt. gényűjteményében található. A tételek eredeti jelzését a cég kérésére megváltoztattuk; ^frövidítések és jelzések: csn = csúcsnekrózis; kf = klorotikus foltok, knf = klorotikus-nekrotikus foltok; kngy = klorotikus-nekrotikus gyűrűk; knm = klorotikus-nekrotikus mintázottság; lh = levélhullás; mo = mozaik, nf = nekrotikus foltok; nll = nekrotikus lokális léziók; pnl = pontszerű nekrotikus léziók; smo = sárga mozaik; szn = szárnekrózis; tm = tünetmentes (látens) fertőzés, - = tünetmentes, a vírus nem izolálható vissza; // = esetenként, nem minden növényen; * = nem vizsgált



18. ábra

Szisztemikus tünetek az RMV-HRM izolátummal inokulált *C. annuum* cv. Albaregia paprikán (A). Az ORSV által okozott mikroléziók a *C. frutescens* 94 levelén (B) és nagyobb méretű léziók a *C. frutescens* 99 (E) levelén. Lokális nekrotikus gyűrűk az SHMV-vel inokulált *C. chinense* 90 paprika vonalon (D) és klorotikus és nekrotikus vonalas mintázottság az SHMV-vel inokulált *C. annuum* cv. Albaregia sziklevelein (C). Klorotikus lokális léziók az ORSV-48 izolátummal inokulált Albaregia paprika levelén (F)

5. MEGVITATÁS

5.1 *Obuda pepper virus* (syn.: *dulcamara yellow fleck virus*): egy Magyarországon endemikus, rezisztencia-törő új tobamovírus faj tulajdonságai és introdukciója a paprika-patoszisztémába

Rezisztencia-törő tobamovírusok a paprikán: a rezisztencia-nemesítés „versenyfutása”

A paprikatermesztést minden földrészen károsító dohány mozaik vírus elleni védekezés megoldását a II. világháború után fellendülő paprikanemesítés világszerte a tudományban elsőként a paprikáról leírt, mendeli szabályok szerint öröklődő vírusrezisztencia gének (L^1 , L^2 gének, HOLMES, 1934; BOUKEMA, 1980; 1982) új fajtákba történő átvitelétől várta. A rezisztencia-nemesítési „lázat” azonban 70-es évek végén hidegzuhanyként érte a rezisztencia-törő tobamovírusok fellépése és gyors globális terjedése (RAST, 1977; GEBRE-SELASSIE et al. 1981; WETTER et al., 1984; CSILLÉRY és RUSKÓ, 1980b; PARES, 1985). A korai vizsgálatok arra utaltak, hogy az ellenálló fajták kultúrába vételével a paprikán is olyan „vírus-adaptáció” kezdődött, amelyet a TMV rezisztens paradicsomokon korábban már tapasztaltak (PELHAM, 1972; BROADBENT, 1976; MACNEIL és BOXALL, 1974), azaz már ismert tobamovírusok (TMV, ToMV) populációiban a rezisztens patodémekhez adaptálódott törzsek jelentek meg.

A rezisztencia-törő törzsekkel („TMV, ToMV pepper strains”) a *Capsicum* nemzetség vad fajain végzett tesztelések új rezisztencia-forrásokat és rezisztencia allélt (L^3 gén) tártak fel (RAST, 1982; CSILLÉRY, 1982, BOUKEMA, 1980; GREEN ÉS KIM, 1994), míg a virológiai vizsgálatok ezt az allélt is áttörő tobamovírus patotípus ($P_{1,2,3}$) fellépését igazolták (RAST, 1979; 1982). Mivel az L^1 - L^4 rezisztencia gének egyetlen lokusz eltérő szintű törzs (patotípus, rassz)-specifikus és vertikális rezisztenciát biztosító alléljeinek bizonyultak (BOUKEMA, 1980; 1982), a paprika-tobamovírus patoszisztémákban is igazolódni látszott FLOR (1971) klasszikus, a növények és kórokozók genetikai viszonyát jellemző „gene for gene” elmélete, továbbá VAN DER PLANCK (1978) és ROBINSON (1976) elmélete a vertikális (nem tartós és általában egy domináns génnel öröklődő) és horizontális (tartós és többnyire poligének által meghatározott) rezisztenciáról (cf. ANDRÁSFALVY, 1982).

Az új tobamovírus patotípusok és a növény-nemesítés közötti „versenyfutást” a *C. chachoense* vad paprika faj néhány vonalán megtalált L^4 rezisztencia allél felfedezése zárta le (BOUKEMA, 1982), miután az L^4 alléllal rendelkező paprika fajtákhoz adaptálódott tobamovírus patotípus a gén felfedezése óta eltelt 25 évben nem lépett fel.

A rezisztencia-törő tobamovírusok Magyarországon: vírusidentifikálási problémák és vírusepidemiológiai kérdések

A hazai növényvírus kutatás a 80-as évekig a *Tobamovirus* csoport három tagjának előfordulását igazolta Magyarországon. A dohányon, a paradicsomon, a paprikán és a szilván leírt TMV-n kívül (SZIRMAI, 1952; SOLYMOSY, 1958; BURGYN et al., 1980) ismertté vált a ToMV fellépése a paradicsomon és a burgonyán (HORVÁTH, 1976; JURETIC et al. 1977), valamint az RMV fertőzése nagy útifűn (*Plantago major*, SALAMON, 1979). A ToMV azonosításában és megkülönböztetésében a TMV-től fontos szerepet kapott a *N. sylvestris* dohányfaj lokális fogékonysága (hiperszenzitív reakciója), valamint a hazai izolátumok teljes szerológiai azonossága a jól ismert ToMV Dahlemense törzssel (JURETIC et al., 1977; BURGYN et al., 1979).

A Gyógynövény Kutató Intézet kísérleti *S. dulcamara* klónjáról származó Sd1 tobamovírus izolátum (4.1.1 fejezet) a *N. sylvestris* lokális fogékonysága alapján különbözött a TMV-től és hasonlított a ToMV-re. Azonosságát a ToMV-vel ugyanakkor extrém patológiai

tulajdonságai (pl. a *N. tabacum* cv. Samsun és a *C. annuum* cv. Javított cecei tesztnövényeken okozott sárga foltosság tünetek, az L¹ rezisztencia-törő tulajdonság) és a ToMV-D/H izolátummal szemben mutatott távoli szerológiai rokonsága (BECZNER et al., 1980; BURGYÁN et al. 1978; 1980) kérdésessé tették. Fentiek miatt eldöntendő kérdéssé vált, hogy a laboratóriumunkban „ToMV-Sd”-vel jelölt Sd1 izolátum a ToMV különleges patológiai törzse és egyúttal deviáns szerotípusa, vagy a patológiai hasonlóságok ellenére nem a ToMV, hanem más ismert tobamovírus (pl. az RMV) izolátuma, vagy a tobamovírus csoport korábban nem ismert tagjának reprezentánsa, azaz a tudományra nézve is új vírus. A „ToMV-Sd” taxonómiai identifikálása részletesebb jellemzést és összehasonlító vizsgálatokat igényelt.

Tekintettel arra, hogy az Sd1 tobamovírus izolátum a DuMV-vel komplex fertőzésben fordult elő az ebszőlőcsucoron (4.1.1 fejezet), és a DuMV előfordulását csak Angliából közölték (GIBBS et al., 1966), a vírusidentifikálás dilemmái mellett nyitott kérdés volt a két vírus eredete (forrása) is. A DuMV és a tobamovírusok maggal történő átvihetőségének ismeretében (GIBBS et al., 1966; GIBBS, 1977) nem zárhattuk ki, hogy mindkét vírus külföldről, vetőmag cserékkel jutott az országba. Mivel tobamovírus fertőzése az ebszőlőcsucoron az irodalomban nem volt ismert, és a DuMV hazai izolátuma az Angliában leírt DuMV törzstől eltérő szerotípust képviselt (BECZNER et al., 1980) valószínűbbnek tartottuk, hogy mindkét vírus a *S. dulcamara* vadon élő hazai állományairól, az intenzív botanikai gyűjtésekkel¹ került a termesztett klónokra. A fentiek indokolták, hogy a kísérletekbe vont ebszőlőcsucor klónok további vizsgálatán kívül² feltáró virológiai kutatásokat kezdjünk a *S. dulcamara* Magyarországon nem vizsgált természetes populációin is. A „ToMV-Sd”-hez hasonló tobamovírus előfordulásának első megállapítása a Tisza ártér vadon élő *S. dulcamara* populációin (Tiszacséce, 1977, 4.1.3 fejezet) azt a hipotézist erősítette, hogy a vírus hazai eredetű és a florisztikai-virológiai kutatás helyes irány a vírus epidemiológiai láncának feltárásában.

Az Óbuda Tsz. üvegházában (Budakalász) termesztett Soroksári hajtató paprikáról izolált ToMV-Ob vírustörzs (CSILLÉRY, 1979 szóbeli közlés) több szempontból is felkeltette az érdeklődésünket. A fertőzött paprikákon leírt tünetek, az izolált vírus L¹ rezisztenciát áttörő tulajdonsága és több tesztnövény (*Capsicum annuum*, *N. tabacum* cv. Samsun, *N. sylvestris*) reakciója (CSILLÉRY és RUSKÓ, 1980a; b) a „ToMV-Ob” és a „ToMV-Sd” izolátumok nagyon közeli rokonságát vagy azonos vírushoz tartozását jelezték annak ellenére, hogy a „ToMV-Sd” és ToMV-Ob izolátumok különböztek az N-gént tartalmazó *N. glutinosa* és *N. tabacum* cv. Xanthi-nc növényeken mutatott patogenitásban (BECZNER et al., 1980; CSILLÉRY, 1979 szóbeli közlés, CSILLÉRY és RUSKÓ, 1980b). Figyelembe véve, hogy a „ToMV-Sd” izolátum olyan *S. dulcamara* klónról származott, amelyet a Gyógynövény Kutató Intézetben az Óbuda Tsz üvegházaitól csak néhány száz méterre termesztettek, nem tartottuk kizártnak, hogy a paprikát megbetegítő vírus forrása termesztett, vagy kivadult beteg ebszőlőcsucor volt.

¹ MÁTHÉ (2002) erről az alábbiakat írja: „A *Solanaceae* családot, beleértve a *Solanum* nemzetség fajait, így a *S. laciniatum*ot is id. Máthé I. már a GYNKI-ben is vizsgálta, és ifj. Máthé I. egyetemi szakdolgozatának témája a *S. dulcamara* volt. Ezen összeesés folyamánaként debreceni egyetemi háttérrel kezdődhetett el a tiszavasvári Alkaloida Vegyészeti Gyárral az éveken keresztül tartó kooperáció (1969-75). Vizsgálataink elsősorban a *Solanum dulcamara*, majd a *Morella* szekció fajaira és más, a botanikus kerti magcserével nyerhető *Solanum*-okra, összesen 40 fajra terjedtek ki. A *S. dulcamara* közel 150 magyarországi lelőhelyről vizsgálatra és betelepítésre gyűjtött anyaga, valamint magcserével nyert, s kísérleti területen felnevelt több száz növényegyedből álló tétel összehasonlító kémiai vizsgálatát végeztük el.” (<http://www.novenyeterkep.hu/obki/kutatas/kutnom/hato50.rtf>).

² A vizsgálatokhoz Dr. Gacsóh László 1976 őszén a Gyógynövény Kutató Intézet kísérleti ebszőlőcsucor klónjairól 18 dugványt bocsátott rendelkezésünkre (SALAMON, 2006c).

Az Sd1, LB, XII és XM izolátumok, mint új tobamovírus (Dulcamara yellow fleck virus, DYFV nomen provisoricum) patológiai variánsai

Az Ob jelzésű beteg paprikák tanulmányozása három komponensre bontható komplex tobamovírus fertőzöttséget igazolt (4.3.2 fejezet). A három izolátum (SB, LB és XII) közül kettő (LB és XII) különböző tesztnövényeken (*C. annuum* cvs. *Javított cecei*, *N. tabacum* cv. *Samsun*, *N. sylvestris*) egymással és az Sd1 izolátummal azonos tüneteket okozott, de csak az XII izolátum hasonlított a CSILLÉRY és RUSKÓ (1980b) által jellemzett N-rezisztencia gént-törő ToMV-Ob izolátumhoz. A patológiai hasonlóságok és a „ToMV-Sd” antiszérummal kimutatott szoros szerológiai rokonság (SDI = 0) arra utalt, hogy az Sd1, valamint az Ob paprikákról elkülönített LB és XII izolátumok azonos tobamovírus variánsai. Mivel az Sd1 izolátum és a ToMV azonosságát vitathatónak tartottuk, az LB és XII izolátumokat már feltételelesen sem jelöltük a TMV, vagy a ToMV törzseiként (SALAMON és BECZNER, 1982; SALAMON, 1982).

Annak eldöntéséhez, hogy az Sd1, LB és XII izolátumok valóban azonos vírus variánsai és azonosíthatók-e a tobamovírus csoporton belül más vírussal, összehasonlító patológiai és szerológiai vizsgálatokat végeztünk.

A gazdanövénykörök és a szimptomatológia tulajdonságok összehasonlító elemzése azt bizonyította, hogy az Sd1, LB és XII izolátumok egymástól csak az N-génnel rendelkező dohány növények (*N. glutinosa*, *N. tabacum* cv. *Xanthi-nc*) reakciói alapján különböznek és a tobamovírusok differenciálásában fontos más növényeken (pl. *Capsicum* spp., *Lycopersicon* spp., *Nicotiana* spp.) a három izolátum között sem a patogenitásban, sem az okozott tünetekben jelentős különbséget nem tapasztaltunk (4.4.4.1 fejezet).

A *N. tabacum* cv. *Xanthi-nc* tesztnövények reakciói azt mutatják, hogy az Sd1, LB és XII izolátumok olyan vírus variánsok, amelyek a dohány N-génje által meghatározott rezisztencia mechanizmus aktivizálásának különböző szintjeit képviselik. Az Sd1 izolátum az N-gén működését hatékonyan aktivizálja, amit az inokulációt követően a legtöbb tobamovírusra (pl. TMV, ToMV) is jellemző, gyorsan megjelenő és határozott szegélyű („perfekt”) lokális léziók kialakulása és a vírus lokalizálása jelez. Az LB izolátumra jellemző „imperpekt”) lokális léziók lassúbb kifejlődésűek és nagyobb méretűek, de a vírus lokalizálása még hatékony. Az XII izolátummal szemben az N-gén által meghatározott rezisztencia már nem elég hatékony, amit a határozatlan („superimperpekt”) lokális nekروزisok és a következetes szisztemikus fertőzés bizonyít. Az XII izolátum N-gént aktivizáló (=elicitor) hatása ugyanakkor részlegesen még érvényesül, amit a lokálisan és szisztemikusan egyaránt kialakuló súlyosabb, vagy enyhébb elhalások jeleznek. Az XII izolátumból szeparált XM vírus variáns (4.1.2 fejezet) azonban már olyan izolátum, amely az N-gént aktivizáló tulajdonsággal egyáltalán nem rendelkezik. Fentiek alapján arra következtettünk, hogy az Sd1, LB, XII és XM izolátumok Sd1→LB→XII→XM irányú N-gén adaptív vírusmutáns sorozat képviselői (SALAMON és BECZNER, 1982; SALAMON, 1982).

Az Sd1, LB és XII izolátumok gazdanövényükre a paprikát fertőző tobamovírusok tipikus izolátumaitól jelentősen különbözött mindenekelőtt abban, hogy csak ezek az izolátumok fertőzték szisztemikusan a *S. dulcamara* hazai flórából származó genotípusát. Tekintettel arra, hogy az ebszölőcsucsot a tobamovírusok patogenitásának összehasonlító jellemzésére tesztnövényként a növényvirológiában először használtuk¹, fogékonysága és/vagy ellenállósága eddig nem volt fontos patológiai bélyeg a tobamovírusok differenciálásában. A *S. dulcamara* specifikus szisztemikus fogékonysága az Sd1, LB, XII és XM izolátumokkal szemben és ellenállósága más tobamovírusokkal szemben nem csak új vírus-differenciálási lehetőség, hanem az ebszölőcsucsorra patogén tobamovírusok és az ebszölőcsucsor közötti különleges genetikai kapcsolatra is utal.

¹ HOLMES (1946) szerint a *S. dulcamara* fogékony a TMV-vel szemben. Saját vizsgálataink csak lokális fogékonyságot igazoltak. Az eltérés utalhat a *S. dulcamara* patogén közötti genetikai különbségre.

Amíg az Sd1, LB, XII és XM izolátumok a dohány N-gén működésének eltérő hatékonyságú induktorainak bizonyultak, egyformán nekrotikus lokális léziókat okoztak az N rezisztencia gént (FRASER, 1983; CULVER et al., 1994; CULVER, 2002) tartalmazó *N. sylvestris*-en és a még ismeretlen rezisztencia gént tartalmazó *N. megalosiphon* dohány fajon (SALAMON, 1983).. Az összehasonlító vizsgálatok eredményei azt mutatják, hogy a *N. sylvestris* és a *N. megalosiphon* a paprikát fertőző tobamovírusok közül csak a TMV differenciálására alkalmas (TALIANSKI et al., 1994)

Az ismert tobamovírus rezisztencia génekkel nem rendelkező *N. tabacum* cv. Samsun, *N. benthamiana* és *N. clevelandii* dohány növények mind a négy izolátummal szemben szisztemikus fogékonyságot mutattak és azonos szimptomákkal reagáltak. A Samsun dohány fajtán a jellegzetes gyűrűs sárga foltosság (yellow fleck) tünetek alapján különböztek a TMV, ToMV, TMGMV és RMV izolátumaitól, míg a patogenitásban is eltértek a szisztemikus fertőzést nem okozó PMMoV, PaMMV, BePMV, ORSV és SHMV izolátumoktól. A *N. clevelandii* és *N. benthamia* növényeken más tobamovírusoktól a tünetek alapján különböztek, pl. nem okoztak a TMV, TMGMV és ToMV izolátumokra jellemző gyors letális hervadást a *N. benthamiana*-n (CANTO et al., 2004).

Az Sd1, LB, XII és XM izolátumok a fogékony paprika (*Capsicum*) genotípusokon csak ezekre az izolátumokra jellemző szisztemikus sárga foltosságot és gyűrűsfoltosságot idéztek elő. Az L gén különböző rezisztencia alléljeivel rendelkező *Capsicum* teszterek reakciói alapján az L¹ allélt áttörő PaMMV-P11 izolátummal (RAST, 1982; BOUKEMA, 1980; TÓBIÁS et al., 1982) azonos P₁ patotípushoz tartoztak. A P11 izolátumtól és a paprikán rezisztencia-törő PMMoV-P8 (P_{1.2} patotípus) és -P14 (P_{1.2.3} patotípus) izolátumoktól lényegesen különböztek a *Lycopersicon*, *Nicotiana* és *Solanum* fajokon mutatott patogenitásban. A *Capsicum* genotípusokon mind a patogenitásban, mind az okozott tünetekben jelentősen különböztek a TMV, ToMV és a TMGMV tipikus izolátumaitól is, amelyek nem rendelkeznek rezisztencia-törő tulajdonsággal (patotípusuk P₀).

Az Sd1, LB, XII és XM izolátumok a gazdanövénykör és szimptomatológiai tulajdonságok alapján jelentősen különböztek a paprikáról eddig nem izolált, de a paprikát szisztemikusan fertőző RMV-től (pl. nem fertőzték az RMV-vel szemben specifikus fogékonyságot mutató *Cyphomandra* és *Brassica* növényeket), valamint a paprikát csak lokálisan fertőző ORSV és SHMV izolátumaitól.

A különböző szerológiai módszerekkel végzett vizsgálatok az Sd1, LB, XII és XM izolátumok szerológiai azonosságát (4.1.4.9. fejezet) és távoli szerológiai rokonságát igazolták a TMV, a ToMV a TMGMV és a RMV izolátumaival (SDI = 3.0-7.0). DAS-ELISA vizsgálatokban az Sd1 és LB antiszérumok nem adtak szerológiai keresztreakciót a TMV, ToMV, TMGMV, RMV, PMMoV és SHMV antigénekkkel és a homológ víruson kívül (LB izolátum) csak a P11 izolátummal reagáltak.

A patológiai és szerológiai vizsgálatok eredményei együttesen azt igazolták, hogy a *S. dulcamara*-ról származó Sd1 tobamovírus izolátum, valamint az Ob paprika növényekről származó LB, XII és XM izolátumok nem csak azonos, hanem HAMILTON et al., (1981) iránymutatásai szerint (2.1.1 fejezet) a tudományban is ismeretlen vírus izolátumai. Az új vírust az ebszőlőcsucoron okozott sárga foltosság tünetekre, a *Dulcamara mottle virus* máig is széles körben elfogadott nevére (GIBBS et al., 1966; FAQUET et al., 2005) és a növényvírus nevezéktan hagyományaira is tekintettel ebszőlőcsucor sárga foltosság vírusnak (*dulcamara yellow fleck virus*, DYFV) neveztük el és izolátumait DYFV-Sd, -LB, -XII és -XM szimbólumokkal jelöltük (SALAMON, 1982; SALAMON és BECZNER, 1987; SALAMON et al., 1987).

A DYFV¹ nem fajspecifikus tulajdonságai

A DYFV izolátumok további jellemzéséhez citopatológiai vizsgálatokat, keresztvédettségi tesztek és elektroforetikus összehasonlító vizsgálatokat végeztünk. Megvizsgáltuk az Sd1 izolátum fizikai tulajdonságait és átvihetőségét *S. dulcamara* maggal, valamint az XM izolátum átvihetőségét paprika maggal és pollennel.

Az Sd1 izolátummal fertőzött *N. tabacum* cv. Samsun dohány epidermisz sejtjeiben és a trichómák sejtjeiben a tobamovírusokra jellemző, hexagonális fénytörő zárványokat figyeltünk meg. Ezek a zárványok nem különböztek a TMV és a ToMV izolátumok által okozott zárványtestektől (EDWARDSON és CHRISTIE, 1997). A fertőzött mezofil sejtek ultravékony metszeteiben a tobamovírusokra jellemző, virionok rétegeiből felépülő zárványokat és erős kloroplaszt degenerációt figyeltünk meg.

Keresztvédettségi tesztben (4.1.4.2 fejezet) az XM izolátummal inokulált *N. glutinosa*-n teljes lokális premunizáló hatást figyeltünk meg nem csak az Sd1 izolátummal szemben, hanem öt más tobamovírus faj izolátumaival szemben is. Hasonló lokális védő hatást tapasztaltunk a TMV-vel inokulált *N. sylvestris* növényeken is más, a lokális léziókat okozó tobamovírusokkal szemben. A fentiek alapján megállapítható, hogy az általunk használt növény-vírus kombinációkban és fertőzési körülmények között a keresztvédettségi teszt nem alkalmas a tobamovírus fajok és törzsek differenciálásra. Tekintettel arra, hogy különböző tobamovírusok (fajok és törzsek) együttes fertőzése a paprikán és más növényfajokon jól ismert (BALD et al., 1974; GARCIA-ARENAL et al., 1984; WETTER, 1984; RAST és MAAT, 1988), amit az Ob paprika minták vizsgálata is igazolt, nyilvánvaló, hogy a fertőzési körülmények és a gazdanövény fogékonysága nagymértékben befolyásolják a rokon vírusok közötti interakciókat.

A fertőzött *S. dulcamara* növények magjával az Sd1 izolátum kis hatékonysággal (1 %) átvihető volt. Az XM izolátum fertőzőképes virionjait kimutattuk fertőzött paprika növények magjáról és pollenéről, valamint a szennyezett paprika magokról fejlődő csíranövényekben, amelyek nem fertőződtek akkor, ha a magokat a csíráztatás előtt lúggal fertőtlenítettük (SALAMON és KASZTA, 2000). Ebből arra következtethetünk, hogy a DYFV felületileg szennyezi a magot és a pollent, és ilyen úton természetes viszonyok között is terjedhet.

Megállapítottuk, hogy Sd1 izolátum hőinaktiválási pontja dohány szövetnedvben 86-88 °C, ami alacsonyabb a tobamovírusokra általában jellemző értékeknél (> 90 °C, EDWARDSON és CHRISTIE, 1997).

Az ebszőlőcsucsor (Solanum dulcamara), mint a DYFV természetes rezervoár gazdanövénye

A patológiai tulajdonságokat és az elektroforetikus mobilitást tekintve az Sd1 és LB izolátumokkal azonos tobamovírus gyakori előfordulásának megállapítása a Tisza ártér vad *S.*

¹ A legtöbb növényvírus vulgáris angol nevének összetevői (a TMV elnevezése óta) a gazdanövény vulgáris angol neve + a gazdanövényen okozott jellegzetes tünet angol neve + a vírus szó). A DYFV vírus nevet először 1982 őszén, egy Németországban rendezett tudományos konferencián használtuk (SALAMON, 1982). A konferencia kiadványában ismeretlen okból elhagyták a kéziratnak azt a bekezdését, amely a vírus taxonómiai besorolására vonatkozó következtetést és elnevezésére vonatkozó javaslatunkat tartalmazta. Ettől függetlenül az Sd, -LB és -XII izolátumokat laboratóriumunkban a DYFV törzseiként jelöltük, ahogyan arra HORVÁTH és BECZNER (1983) sokak által idézett munkája is hivatkozott.

Dr. Beczner László Kanadában összehasonlító RNS-cDNS hibridizálási kísérleteket végzett az Sd1 és az XII izolátumokkal. Ezek a vizsgálatok megerősítették a két izolátum genomi azonosságát és faji elkülönülését más tobamovírusoktól. A disszertációban ismertetett eredményeket a nukleinsav hibridizási eredményekkel is kiegészítve, Magyarországon a Növényvédelmi Tudományos Napokon (SALAMON és BECZNER, 1987), valamint a kanadai Edmontonban tartott virológiai kongresszuson poszteren (SALAMON et al., 1987) ismertettük. A DYFV-ra többen hivatkoztak (GREEN és KIM, 1991; SANFACON et al., 1993; ANONYMOUS, 2002), de EDWARDSON és CHRISTIE (1997) monográfiájában ez a hivatkozás elmaradt.

dulcamara populációin (4. 3 fejezet) azt igazolta, hogy a DYFV hazai forrásból származik és feltehetően a botanikai gyűjtésekkel került a kísérleti, majd a természetben ebszölőcsucor klónokra. Az Alkaloida Vegyészeti Gyárban (Tiszavasvári), ahol az első szelekciós és termesztési kísérletek folytak, 1988-ban már nem találtunk maradványokat és a Gyógynövény Kutató Intézettől kapott újabb klónokról sem izoláltunk tobamovírust (SALAMON, 2006b). Nem tudható pontosan, hogy a *S. dulcamara*-n a természetes flórában elterjedt vírus milyen úton került a paprikára, de valószínű, hogy felbukkanása összefügg a 70-es években intenzíven folyó gyógynövény kísérletekkel. Nem zárható ki ugyanakkor, hogy a Sorosári hajtató (Sorosári R paprika, CSILLÉRY, szóbeli közlés) paprika magfogására kijelölt növények korábban fertőződtek, pl. a Tiszából és mellékfolyóiról nyert öntözővíz útján, vagy rovarok által szállított *S. dulcamara* pollennel került a paprikára, majd szennyezett paprika vetőmaggal továbbterjedve jutott el az Óbuda Tsz. üvegházaiba is.

A vad flórából gyűjtött *S. dulcamara* növényekről az esetek többségében olyan tobamovírust izoláltunk, amely az Sd1 és LB izolátumokhoz hasonlóan csak lokálisan fertőzte az N-rezisztencia génnel rendelkező dohány tesztnövényeket. Ez azt bizonyítja, hogy a DYFV vad populációra nem jellemző az N-gént áttörő tulajdonság. Jellemző azonban az L¹ allél által meghatározott rezisztencia áttörése a paprikán, ami a vírusfaj inherens patológiai tulajdonsága és nyilvánvalóan nem a rezisztens paprikákhoz történő gyors adaptáció eredménye.

Mivel az N-rezisztencia gént törő DYFV-XII izolátumot a nem rezisztencia-törő DYFV-LB izolátummal komplex fertőzésben mutattuk ki az Ob jelzésű paprikáról, azonban *S. dulcamara*-n biotesztekkel csak Sd1-LB típusú variánst tudtunk kimutatni, sokáig kérdés volt, hogy az N-gén adaptív DYFV XII variáns a vizsgált paprikákon alakult-e ki LB→XII mutációval, vagy előfordul a *S. dulcamara*-n is. A Db02 *S. dulcamara* növény vizsgálata igazolta, hogy a DYFV-XII spontán fertőzött ebszölőcsucorról kiindulva is izolálható, azaz kialakulása nem a paprikához, mint gazdanövényhez köthető. Továbbra is nyitott kérdés azonban, hogy az N-gént áttörő DYFV törzsek (XII, XM) a már fertőzött *S. dulcamara* növényekben is megtalálhatók-e, vagy az N-gént tartalmazó dohányokra passzált és azokon szaporodó Sd1-LB típusú víruspopulációban történik-e adaptív értékű mutáció. Erre a kérdésre molekuláris vírusgenetikai elemzéssel, a fertőzőképes tobamovirus klónok előállítását követően (DAWSON et al., 1986; MESHİ et al., 1986; PADGETT és BEACHY, 1993) ma már válasz adható.

A *S. dulcamara*-n végzett szimptomatológiai megfigyeléseink azt igazolták, hogy a DYFV-vel fertőzött növények árnyékos helyen, a nagy víruskoncentráció ellenére tünetmentesek, vagy csak enyhe betegségi tünetet mutatnak, azonban napfényes terepen leveleiken feltűnő sárga foltosság alakul ki. Ebből arra következtethetünk, hogy a vírus nagy virulenciája és kis betegség okozó képessége a gazdanövényen olyan ökológiai viszonyok között érvényesül, amely egybeesik az ebszölőcsucor ökológiai igényeivel (hűvös, árnyékos, vizes élőhelyek). Ez a vírus és a növény közötti kapcsolat feltehetően stabilizálódott koevolúciós múltjára utal. A vírus ökológiai adaptációjára utalhat az is, hogy az Sd1 izolátum hőinaktiválási pontja több C⁰-al alacsonyabb más tobavírusoknál (TMV, ToMV). Fentiek miatt nagy a valószínűsége, hogy a gazdanövényhez és az árnyékos és hűvös biotóphoz is adaptálódott DYFV mutációs rátája megnő a naposabb és melegebb biotópban (pl. nyílt terepen vagy üvegházakban), ami a TMV esetében jól ismert jelenség (MUNDRY, 1957; DAWSON ET AL., 1976; 1990; KAHN et al., 1989).

A DYFV izolátumai és a ToMV-Ob izolátum: azonosságok és különbségek

Az Óbuda Tsz. üvegházában gyűjtött paprikákról származó ToMV-Ob izolátum az N-gént tartalmazó dohány genotípusokon a DYFV-XII izolátumhoz hasonló tüneteket okozott (CSILLÉRY és RUSKÓ, 1980a, b; CSILLÉRY et al., 1983). A ToMV-Ob törzset fenti

szerzők a *N. glutinosa*, vagy a *N. tabacum* cv. Xanthi-nc tesztnövényeken végzett passzálást követően tanulmányozták és jellemezték.

CSILLÉRY és RUSKÓ (1980a, b) rámutattak arra, hogy a ToMV-Ob izolátum ToMV törzsként történt azonosítását - GIBBS (1977) munkájára hivatkozva - a *N. sylvestris* dohányfaj lokális fogékonysága indokolta, bár a vírus szokatlan, szisztemikus tüneteket okozott a *N. tabacum* cv. Xanthi-nc tesztnövényen. TÓBIÁS et al. (1982) megállapították, hogy a ToMV-Ob izolátum távoli szerológiai rokonságot mutat a TMV és a ToMV izolátumokkal, az Argentínából származó „TMV-FO” izolátummal, valamint a rezisztencia-törő „TMV-P8” és „TMV-SL” izolátumokkal, de közeli szerológiai rokonságban áll a „TMV-P11” izolátummal. A gazdanövényekre és a betegségi tünetekre vonatkozó adataik megerősítették CSILLÉRY és RUSKÓ (1980b) megállapításait a vírus különleges patológiai viselkedéséről (az L¹ és az N génekhez kapcsolódó rezisztencia áttörése a paprikán és a dohányon). CSILLÉRY et al. (1983) az Sd izolátumot (ToMV-Sd) csak az N-gént áttörő tulajdonságban hasonlították össze a ToMV-Ob-bal az eredeti „Ob” paprika növények komplex tobamovírus fertőzöttségéről (az LB és SB izolátumok jelenlétéről) fenti szerzők nem számoltak be.

HORVÁTH és BECZNER (1983) korábbi munkánkat (SALAMON és BECZNER, 1982) idéző dolgozatára hivatkozva RAST és MAAT (1986) megemlíti, hogy a ToMV-Ob törzs csak egy komponense az „eredeti törzs-komplexnek”. MAAT nem publikált eredményeire utalva beszámolnak arról is, hogy a ToMV-Ob törzsből passzálásokkal egy ObX és egy ObT jelzésű vírusvonalat szeparáltak (X = Xanthi-nc dohány, T = Tabasco paprika) és a két vírusvonal közül csak az ObX volt azonos a korábban jellemzett „ToMV-Ob”-bal (TÓBIÁS et al., 1982). Az ObT jelzésű vírusvonalat szerológiai teszttel nem tanulmányozták, de a gazdakörrel közölt adataik valószínűsítik, hogy az ObT izolátum identikus az általunk „SB” jelzéssel tanulmányozott, és a TMGMV-vel azonosított vírussal (SALAMON és BECZNER, 1982). RAST és MAAT (1986) egy paprikáról Hollandiában gyűjtött tobamovírus izolátum Xanthi-nc dohányon végzett sorozatos passzálásával olyan vírusvonalhoz (AX) jutottak, amely patológiai tulajdonságait tekintve nagyon hasonlított a ToMV-Ob izolátumhoz. DAS-ELISA vizsgálatokban ez az izolátum azonban nem reagált az ObX antiszérummal, de erős reakciót adott a P11 izolátum antiszérumával. A ToMV-Ob izolátummal kapcsolatban megjegyzik, hogy ezt a vírust különleges rezisztencia törő tulajdonságai miatt korábban új vírusként is azonosíthatták volna, pl. a PARES (1985) által javasolt *Capsicum* mosaic virus (CaMV) néven.

CSILLÉRY et al. (1983), TÓBIÁS et al. (1982) valamint RAST és MAAT (1986) munkáit és saját vizsgálataink eredményeit elemezve megállapítható, hogy a ToMV-Ob izolátum a gazdanövénykört és a szimptomatológiai tulajdonságokat tekintve azonos az általunk DYFV-XII jelzéssel szimbolizált tobamovírus izolátummal. Vizsgálataink szerint azonban az XII izolátum is olyan víruspopulációnak bizonyult, amelyből szeparálható volt az N-génnel rendelkező dohányokon nekrotikus tüneteket nem okozó XM variáns.

1993-ban kanadai szerzők dolgozatot közöltek a ToMV-Ob izolátum jellemzéséről (SANFACON et al., 1993). Ebben a munkában, hivatkozva a DYFV-ről korábban közölt eredményeinkre is (SALAMON et al., 1987b) nagyrészt reprodukálták Dr. Beczner László nukleinsav hibridizálási tesztjeit és igazolták az Sd1 izolátum (= DYFV-Sd) és a ToMV-Ob izolátum azonosságát. A vizsgálatok alapján arra a következtetésre jutottak, hogy a DYFV-Sd valamint a ToMV-Ob izolátum új tobamovírus faj izolátumai. A vírust „*Solanum dulcamara* yellow fleck virus”-nak (SDYFV) nevezték el. Ez a vírusnév eltér az általunk javasolt, és a szerzők által is hivatkozott névtől, de mutatja (dulcamara yellow fleck), hogy SANFACON et al. (1993) jól ismerték korábbi munkáinkat és világosan felismerték a ToMV-Ob izolátum azonosságát a DYFV-al (egyébként nem használták volna a *Solanum dulcamara* yellow fleck virus-Ob nevet). Nem hivatkoztak azonban a ToMV-Ob izolátum és a DYFV-XII izolátum

nagy hasonlóságára, amely a poszteren közzétett eredményeinkből (SALAMON et al., 1987b) következtethető lett volna.

A ToMV-Ob izolátum, mint új tobamovírus faj Obuda pepper virus (ObPV) néven

A ToMV-Ob izolátum (CSILLÉRY és RUSKÓ, 1980b; CSILLÉRY et al., 1983) nyilvánvalóan különleges rezisztencia-törő tulajdonságai miatt, a molekuláris növényvírus kutatásban élenjáró laboratóriumok érdeklődését is felkeltette. Japánban és az USA-ban két laboratórium egymástól függetlenül tanulmányozta a vírust, amelyet klónoztak és meghatározták a genom teljes bázissorrendjét (IKEDA et al., 1993; PADGETT és BEACHY, 1993). Az erről beszámoló (egyszerre közzétett) dolgozatokban mindkét kutatócsoport néhány bázis eltéréssel azonos bázissorrendet ismertetett. A bázissorrend összehasonlító analízise alapján mindkét laboratórium arra a következtetésre jutott, hogy a ToMV-Ob izolátum a tobamovírus csoporton (nemzetségen) belül elkülönülő vírusfajhoz tartozik. A vírus elnevezésére azonban egyik munkacsoport sem tett javaslatot. A „tobamovirus-Ob” a bázisszekvencia adatok közzététe után elméleti vírusgenetikai és filogenetiai elemzések tárgya lett (LARTEY et al., 1996; GIBBS, 1999; GIBBS et al., 2004). Felismerve a vírus faji elkülönülését a tobamovírusok más fajaitól, valamint azt, hogy önálló fajnévvel nem rendelkezik, az Ob-tobamovírust az ICTV a Tobamovírusokat Tanulmányozó Munkacsoport (Tobamovirus Study Group, TSG) előterjesztésére *Obuda pepper virus* (ObPV) néven regisztrálta (VAN REGENMORTEL et al., 2000). Az előterjesztés idejéről és indoklásáról nincsenek adataink és a névválasztást illetően csak Dr. Lewandowskiak, a TSG elnökének levelére hagyatkozhatok (LEWANDOWSKI, 2005; levélbeni közlés¹). Mindenesetre az ICTV nem vette figyelembe (vagy legalábbis nem akceptálta) a korábban javasolt DYFV vagy SDYFV fajneveket. A hivatkozások szerint az ObPV molekulárisan jellemzett egyetlen izolátumának (ToMV-Ob, CSILLÉRY et al., 1983) új fajként történő hivatalos elismerése után a fajt tipizáló izolátumnak jelzést (pl. ObPV-Ob?) eddig nem adtak. GIBBS (2004) a két közölt ObPV szekvencia közül a PADGETT és BEACHY (1993) által publikált szekvenciát tartja „típusizolátum” szekvenciának.

Az ObPV a molekuláris vírusgenetikai kutatások homlokterében

A TMV és más tobamovírusok a növényvirológiában és a biológiában mindig is olyan modell vírusok voltak, melyek kutatása elsőként tisztázott alapvető (vírus)biológiai, genetikai és kutatás-módszertani kérdéseket. (HARRISON és WILSON, 1999). PADGETT és BEACHY (1993) a tobamovirus-Ob (= ToMV-Ob) izolátumról fertőzőképes klónt állítottak elő, és a hibrid-vírus technikát alkalmazva igazolták, hogy az N-rezisztencia gén törő tulajdonság a vírus replikáz génjén térképeződik. Ezt követően PADGETT et al. (1997) az Ob izolátum mutánsain pontosan meghatározták azokat a bázisokat, amelyek megváltozása

¹ ¹Az *Obuda pepper virus* névválasztás indoklásaként levelemre Dr. Lewandowski az alábbiakat válaszolta: „.....Briefly, regarding the name change from Tobamovirus Ob to Obuda pepper virus came from the attempts to adopt a name that conformed to the rules of nomenclature of the ICTV. Permissible guidelines are to incorporate a location along with the host of origin. As you have probably discovered, there a number of viruses previously described and named from very different host plants that turn out to be the same or very similar virus upon the comparison of the viral sequence. I was the chair of the Tobamovirus study group at the time this proposal went in.”

(„.....Röviden összefoglalva, ami a Tobamovirus Ob-ról az Obuda pepper virus-ra történt névváltoztatást illeti, ez azon törekvésekből eredt, hogy olyan nevet fogadjunk el, mely az ICTV nomenklatúra szabályainak megfelel. Az irányelvek szerint megengedhető az eredeti gazdával együtt a származási hely beépítése. Feltehetően már ön is felfedezte, hogy sok olyan korábban leírt és nagyon különböző gazdanövényről elnevezett vírus létezik, amelyek a vírusszekvenciák összehasonlítása alapján azonosnak vagy nagyon hasonló vírusoknak bizonyultak. A javaslat benyújtásakor én voltam a Tobamovírusokat tanulmányozó munkacsoport elnöke.”)

felelős a rezisztencia-törésért. ABBINK et al., (2001) TMV-U1 és az Ob-tobamovírus kimerákkal igazolták, hogy a helikáz fehérjén legalább négy domén kell az N-gén által meghatározott hiperszenzitív reakció hatékony indukálásához. Ezek az eredmények teljes mértékben alátámasztották azt a hipotézisünket, hogy az N-génhez történő adaptáció az Sd-LB-XII-XM vírusmutánsok esetében nem a vírus CP génjét érintő változás eredménye (SALAMON, 1982).

PADGETT et al. (1997) elemzései kimutatták, hogy a tobamovirus-Ob (ToMV-Ob) különböző laboratóriumokban szekvenált izolátumai az N-gént tartalmazó dohányokon okozott tünetekben nem teljesen azonosak és feltehetően különböznek a SANFACON et al. (1993) által tanulmányozott SDYFV-Ob izolátumtól is. A tüneti leírásokból megállapítható, hogy a PADGETT és BEACHY (1993) által klónozott tobamovirus-Ob vonal az általunk XM-el jelölt vírushoz hasonló, míg mások (IKEDA et al., 1993; SANFACON et al., 1993) az XII izolátumhoz hasonló vírussal végeztek kutatásokat. Ez közvetett bizonyíték arra, hogy az XM típusú variáns az általunk nem tanulmányozott „ToMV-Ob” izolátumban is kialakulhatott és a klónozás során a víruspopulációból PADGETT és BEACHY (1993) ezt a variáns „emelhették ki”. Tekintettel arra, hogy az Sd, LB, XII és XM izolátumok azonos vírus természetes (spontán) változatai (mutánsai), bázissorendjük megállapítása az N-génhez történő spontán adaptációra adhat molekuláris magyarázatot.

ObPV vagy DYFV: a vírusnevezéktan problémája?

A növényvírus fajok hivatalos elnevezése az ICTV kompetenciája és a szervezet törekszik arra, hogy a fajnevek az elfogadás után stabilak maradjanak. Megítélésünk szerint azonban a jelenlegi fajnevek megválasztása számos növényvírus esetében (pl. *Colombian datura virus*) nem szerencsés (SALAMON és PALKOVICS, 2005; SALAMON, 2006b). Az ObPV név, mivel Óbudához, mint földrajzi helyhez és a paprikához, mint gazdanövényhez kapcsolja a vírust, szintén nem a legjobb választások közé tartozik. A vírusfaj definíciója a leszármazást és a saját „ökológiai niche”-t, mint a fajokat elkülönítő jellemzőket fogalmazza meg. A saját ökológiai niche leírása feltételezi azoknak a biológiai tulajdonságoknak (természetes gazdanövények, patogenitás, szöveti tropizmus, a fertőzési lánc és terjedési tulajdonságok) ismeretét, amelyek - különösen az új vírusok esetében - nem következtethetők a genomi molekuláris adatokból. Az ObPV (syn.: DYFV) gyakori előfordulása az évelő ebszőlőcsucson a felső Tisza vidékén, sporadikus fellépése, majd „eltűnése” a paprikáról az elmúlt 25 évben azt igazolja, hogy a paprika csak „véletlen” gazdanövénye a vírusnak, amely nem a paprika patoszisztémákból származik. Az ObPV a 70-es években tapasztalt sporadikus fellépések után (CSILLÉRY, 1982) nem terjedt tovább a paprikán és nem vált a paprika patoszisztémák stabil elemévé. Ennek oka lehet a vírus által okozott feltűnő sárga mozaik betegség a paprikán, ami miatt a vetőmag szaporításokból könnyen szelektálhatók a beteg tövek. Fentiek miatt elgondolkodtató, hogy az ökológiai vonatkozások nélkül választott ObPV név, vagy a „dulcamara yellow fleck virus (DYFV)” név „illik-e” olyan tobamovírushoz, amely hivatalos nevében a termesztett paprikára, mint gazdanövényre utal, de „ökológiai státusza” szerint a Tisza ártér ökológiai viszonyaihoz és a *S. dulcamara*-hoz, mint gazdanövényhez nagymértékben adaptálódott WILPAD vírusnak tekinthető.

Az ObPV-ről (syn.: DYFV) eddig szinoptikus leírás nem jelent meg. Egy ilyen leírás felveti a faj típusizolátumának megjelölését, amelyhez a faj variánsai (törzsei) a gyakorlati virológiában viszonyíthatók. Az ObPV szekvenált izolátumai különleges és ritka, N-gén adaptív mutánsok. A fajt tipizáló izolátumként ezért helyesebb lenne az Sd1 izolátumot választani, amely sokkal inkább reprezentálja a vírus nem „N-gén törő” természetes populációit, mint az Óbuda Tsz paprika növényeiről származó ToMV-Ob és DYFV-XII izolátumok, vagy a Db02 ebszőlőcsucsról izolált „N-gént- törő” vírusvonal. Az ObPV (syn.: DYFV) előfordulását Magyarországon kívül eddig sem a *S. dulcamara*-n, sem a paprikán még

nem állapították meg, így ez a különleges tobamovírus faj endemikusnak tekinthető a Kárpát-medencében. Az ObPV szekvenciák legújabb kimutatása amerikai és ázsiai donoroktól származó emberi széklet mintákban (ZHANG et al. 2006) megítélésünk szerint sokszoros ellenőrzést igényel.

5.2 A *Capsicum-Tobamovirus* kapcsolatok elméleti és gyakorlati kérdései

A tobamovírus rezisztencia gének és a tobamovírus paprika patotípusok viszonya

A paprika tobamovírusokkal szembeni, hiperszenzitív válaszreakcióval járó ellenállósága az L gén rezisztenciát biztosító alléljeire és az újabban felfedezett Hk génre vezethető vissza (BOUKEMA, 1980, 1982; SAWADA et al., 2005). Az L gén alléljeinek megkülönböztetése a különböző patotípusú tobamovírusokkal szembeni eltérő viselkedés és genetikai allétesztek alapján, a tobamovírus paprika patotípusok elkülönítése pedig az eltérő genotípusú paprikákon végzett patogenitási tesztek alapján történt (HOLMES, 1934; BOKEMA, 1980; 1982; RAST, 1988). A tobamovírusok paprika patotípusok szerinti osztályozása nem csak tudományos, hanem fontos gyakorlati érdek is. Az ebben tapasztalható ellentmondások miatt (18., 19. táblázat) miatt indokoltnak láttuk irodalmi ismeretek és saját kísérleteink alapján a jelenlegi ismeretek összefoglalását (17. táblázat).

Tekintettel arra, hogy az L^{lc} és az L^{la} allélek (DAUBEZE et al., 1990; SAWATA et al., 2004) az L^l alléltől elsősorban a víruslokalizáció hőmérséklet érzékenysége alapján különböztethetők meg, kimutatásukra és elkülönítésükre az L^l alléltől speciális módszereket kellene kidolgozni. Hasonlóan speciális tesztekkel különíthető el a Hk gén az L gén alléljeitől (SAWATA et al., 2005). Az ismert rezisztencia gének és allélek számának növekedése miatt specifikus kimutatásuk virológiai tesztekkel egyre körülményesebbé válik, ami előtérbe állítja a rezisztencia gének és allélek molekuláris módszerekkel történő azonosításának szükségességét (molekuláris gén markerezés) a nemesítésben, a fajtavédelemben és a hibrid vetőmag tételek kontrolljában.

Saját munkánkban is többször rezisztencia allél azonosítási problémával találkoztunk. Az Evita paprika fajta tobamovírus rezisztenciájának (L^l allél) feltételezett elvesztése nem igazolódott (4.2.1.1 fejezet), és az ettől eltérő eredmény (GÁBORJÁNYI et al., 1998) feltehetően fajtakeveredésre vagy az eltérő körülmények között végzett tesztelésekre vezethető vissza. A fertőzési körülmények egységesítésének szükségességét jelzi, hogy más, jól ismert rezisztencia tulajdonságokkal rendelkező hazai paprika fajták (pl. Albaregia, Rapires F1) különböző vírusokkal szembeni ellenállóságára vonatkozóan sem azonosak az eredmények (SALAMON, 1993; KAZINCZI et al. 2001). A Greygo paprikafajta populációin két különböző rezisztencia jelleget mutattunk ki (4.2.1.2 fejezet). Tekintettel arra, hogy a P₁ patotípusú XM izolátumot lokalizáló, az L² allélre jellemző rezisztencia szintet biztosító allél nem ismert forrásból származik és nem tervezett nemesítéssel került a fajtába, ezt az allélt L^{2g}-vel jelöltük. Az L^{la} és a Hk gének felfedezése (SAWADA et al., 2004; 2005) arra int, hogy a Greygo fajtában talált Tm1 rezisztencia genetikai hátterének pontosabb megismerése további patológiai vizsgálatokat és genetikai kísérleteket igényel. Ismeretlen a hazai forrásokból gyűjtött díszpaprika vonalak (4.2.1.4 fejezet) Tm1 rezisztenciájának genetikai háttere is.

Az L gén alléljek dominancia viszonyainak ismeretében megfelelő patotípusú tobamovírus izolátumok felhasználásával, patológiai tesztekkel megállapítható minden paprikáról, hogy milyen rezisztencia szinttel rendelkezik és általában következtetni lehet – mint a fentiekből kitűnik csak elvileg – a megfelelő allélre is, ha a kérdéses paprika genotípus az adott allélre nézve homozigóta. A rezisztencia allélekre heterozigóta paprikák genotípusa, mivel a rezisztens válaszreakció minden L rezisztencia allélre hiperszenzitív reakció, csak az utódok patológiai tesztelésével állapítható meg. Az L³L⁴ genotípusú paprikák heterozigóta

jellege azonban vizsgálataink szerint utóvizsgálatok nélkül, patológiai tesztekkel is eldönthető (4.2.1.3 fejezet). Erre az ad lehetőséget, hogy a mindkét allélt aktivizáló (elicitor) vírustörzssel (XM izolátum, P₁ patotípus) végzett fertőzés esetén a heterozigóta növény csak az L³ allélre jellemző fenotípusú (gyors és kisméretű) léziókkal reagál, ugyanakkor az L⁴ allél jelenléte parallel tesztben, a specifikus L⁴ elicitor tobamovírossal (PMMoV- P14, P_{1,2,3} patotípus) végzett inokulációval kimutatható. A két allélre jellemző lokális válaszreakció eltérő fenotípusát CSILLÉRY és RUSKÓ (1980) valamint RUSKÓ et al. (1995) részletesen leírták, azonban az L³ allélre jellemző válaszreakció fenotípusos dominanciája az L⁴ típusú válaszreakcióval szemben nem volt ismert. Kérdéses, hogy a homozigóta állapotban külön-külön mindkét allélt aktiváló tobamovírus fertőzések aktiválják-e egyáltalán a „lassú” L⁴ allélt az L³L⁴ genotípusú heterozigóta növényekben? Más heterozigóta kombinációkban (pl. L²L³; L¹L⁴ stb.) az általános elicitor P₀ patotípusú tobamovírusokkal szembeni válaszreakciók összehasonlító fenotípusos jellemzése HOLMES (1934, 1937) utalásain kívül eddig nem történt meg, ami szintén fontos kutatási feladat lehet. Tekintettel arra, hogy a korszerű paprikafajták többsége F1 hibrid, ezek a kutatások a nemesítési és a növényminősítési gyakorlatban közvetlenül is felhasználható ismereteket nyújthatnak.

Az új rezisztencia gének és allélek leírása jelentősen megnehezíti a tobamovírus paprika patotípusok azonosítását, ami sok esetben eddig sem volt ellentmondásoktól mentes. A „ToMV-Ob” izolátumot (ObPV) pl. egyes szerzők a P₁, míg mások a P_{1,2} patotípushoz sorolták (SAWATA et al., 2005; GÁBORJÁNYI et al., 1999).

17. táblázat

A paprika (*Capsicum*) fajokat spontán fertőző *Tobamovirus* fajok izolátumainak patotípusok (P) szerinti osztályozása az L gén különböző alléljeire nézve homozigóta paprikák fogékonysága vagy ellenállósága alapján¹

Tobamovirus fajok és izolátumaik	Vírus patotípus	Az L gén különböző alléljeire nézve homozigóta paprika növények fogékonysága vagy ellenállósága				
		L ⁺	*L ^{1;1C,1a}	L ²	L ³	L ⁴
<i>Tobacco mosaic virus</i> (TMV-U1)	P ₀	F	R	R	R	R
<i>Tomato mosaic virus</i> (ToMV-D/H)	P ₀	F	R	R	R	R
Bell pepper mottle virus (BePMV-FO)	P ₀	F	R	R	R	R
<i>Tobacco mild green mosaic virus</i> (TMGMV-U2)	P ₀	F	R	R	R	R
<i>Paprika mild mottle virus</i> (PaMMV-P11)	P ₁	F	F ^{L1} /R ^{L1a}	R	R	R
<i>Obuda pepper virus</i> (ObPV) (syn.: <i>dulcamara yellow fleck virus</i> (DYFV-XM))	P ₁	F	F	R	R	R
<i>Pepper mild mottle virus</i> PMMoV-P8, PMMoV-P14	P _{1,2} P _{1,2,3}	F F	F F	F F	R F	R R

¹elmagyarázat: P = patotípus; F = fogékony; R = ellenálló (rezisztens), * az oszlopban adatai az L¹ allélre vonatkoznak. L^{1a} alléllal rendelkező paprika reakciója a PaMMV-J izolátumára vonatkozik; az L^{1C} alléllal rendelkező paprika reakcióit csak a TMV-vel szemben tanulmányozták részletesebben.

18. táblázat

Paprika genotípusok reakciói különböző patotípusú tobamovírusokkal szemben /közöttétel hivatalos fórumon, ANONYMUS (2002), az eredeti táblázat fordítása/¹

Paprika tobamovírus patotípusok					
Paprika genotípusok	Paprika vírusok	P ₀	P ₁	P ₁₋₂	P ₁₋₂₋₃
		TMV, ToMV, BePMV, TMGMV, DYFV	ToMGMV	ToMV, PMMV	PMMV
L ⁻ L ⁻		S	S	S	S
L ¹ L ¹		R	S	S	S
L ² L ²		R	R	S	S
L ³ L ³		R	R	R	S
L ⁴ L ⁴		R	R	R	R

¹Magyarázat: S = nem rezisztens; R = rezisztens; TMV= Tobacco Mosaic Virus; ToMV= Tomato Mosaic Virus; BePMV = Bell Pepper Mosaic Virus; TMGMV = Tobacco Mild Green Mosaic Virus; DYFV= Dulcamara Yellow Fleck Virus; PMMV = Pepper Mild Mottle Virus; A táblázat példa a szakirodalomban is tapasztalható ellentmondásokra és a virológiai nevezéktan figyelmen kívül hagyására (pl. nincsenek ismereteink P₁₋₂ patotípusú ToMV izolátumról. A DYFV P₁ patotípusú tobamovírus. A ToMGMV és a PMMV vírus akronímák használata helytelen.)

19. táblázat

A tobamovírusok paprika patotípusok szerinti osztályozásának közöttétele nem tudományos fórumon¹

Genotipo	P ₀	P ₁	P ₁₋₂	P ₁₋₂₋₃
	TMV, ToMV, BePMV, TMGMV, DYFV	ToMV, ToMGMV	ToMV, PMMoV	PMMoV
L-L-	S	S	S	S
L1L1	R	S	S	S
L2L2	R	R	S	S
L3L3	R	R	R	S
L4L4	R	R	R	R

¹Forrás: <http://www.arnediagnostica.com/otrosservicivios.htm>

S = Sensible R = Resistente; TMV = Tobacco Mosaic Virus; ToMV = Tomato Mosaic Virus; BePMV = Bell Pepper Mosaic Virus; TMGMV = Tobacco Mild Green Mosaic Virus; DYFV = Dulcamara Yellow Fleck Virus; PMMoV = Pepper Mild Mottle Virus

Vizsgálataink szerint (SALAMON, 1993; SALAMON és KASZTA, 2000; SALAMON és SÁGI, 2004) az Sd1, LB, XII és XM izolátumok áttörnek az L¹ allél által biztosított Tm0 rezisztenciát, de csak lokálisan fertőzik a *C. frutescens* cv. Tabasco paprika fajtát (L²L² genotípus), azaz P₁ patotípusú izolátumok. A PaMMV-J izolátum és az Ob-tobamovirus izolátum (ToMV-Ob) az L allél háttérben szintén a P₁ patotípushoz tartoznak, azonban a Hk gén háttérben már eltérő patotípust képviselnek (SAWADA et al., 2005). A Hk gén felfedezésével feltehetően átértelmeződik a „tobamovirus paprika-patotípus” teljes fogalmi köre.

A TMV-vel vagy az ObPV-vel szemben extrém rezisztenciát mutató paprika nemesítési tételek (KAZINCZI et al., 2003; HORVÁTH et al., 2004) különleges patodémeket képviselnek. A paprikapatogén tobamovirusokkal szembeni, a *Capsicum* nemzetségben is egyedi extrém rezisztencia öröklődésének és hatékonyságának megismerése a tobamovirusok más fajtáinak izolátumaival szemben a jövő egyik fontos kutatási feladata.

Vírusidentifikálás és rezisztencia-kutatás

A tobamovirusok paprika patotípusok szerinti csoportosítása nem felel meg a vírusizolátumok taxonómiai fajhoz történő osztályozásának (16 táblázat), így azonos patotípust képviselnek pl. a TMV és a ToMV izolátumai, a PaMMV és az ObPV izolátumai, de különböző patotípusú izolátumok tartoznak PMMoV-hez. Ez arra utal, hogy a tobamovirus izolátumok taxonómiai identifikálásában a paprikán megállapított patogenitásnak legtöbbször nincs jelentősége. Ezért a paprikáról izolált tobamovirusokat bármely ismert vírus törzseként helytelen (és mint kiderült helytelen volt) megjelölni mindaddig, amíg az izolátumokról elégséges és taxonómiai szempontból releváns ismeretek (szerológiai teszt, kiterjedtebb gazdaköri vizsgálat, nukleinsav hibridizálási tesztek, PCR teszt) nem állnak rendelkezésre. Tekintettel arra, hogy az L gén háttérben különböző vírusfajok izolátumai azonos patotípust képviselnek, felmerül a kérdés, hogy helyes-e ebben a kontextusban a patotípus megjelölés. Másként fogalmazva, helyes-e két különböző kórokozó faj (jelen esetben vírus faj) izolátumait azonos patotípushoz sorolni, amikor a patotípus (törzs, rassz) faj alatti taxonómiai kategória?

A nyilvánvalóan paradoxonnak tűnő és látszólag teoretikus kérdésre helyes választ csak akkor adhatunk, ha figyelembe vesszük, hogy a tobamovirusok paprika patotípusok szerinti megkülönböztetése gyakorlati, növénynemesítési célokat szolgált és hasznosnak bizonyult a rezisztencia allélek azonosításában (BOUKEMA, 1980; 1982). Más szempontból azonban hátrányos volt, mert a patotípus megjelölés az izolátumok bizonytalan taxonómiai azonosítása mellett („TMV, ToMV pepper stains”) azt sugallta, hogy egy, esetleg két vírusfaj patológiai változatai terjedtek el a rezisztens paprikákon, azaz az új változatok felbukkanása a klasszikus „rezisztencia-génhez történő adaptáció” jól ismert forgatókönyve szerint zajlik. Csak a különböző patotípusokat reprezentáló izolátumok behatóbb virológiai tanulmányozása után vált nyilvánvalóvá, hogy a termesztett paprika-tobamovirus patosisztémákban a kórokozók oldalán tapasztalt változások fő oka legtöbbször nem adaptív értékű mutáció, és ismert vírusnak az új rezisztens patodémekhez történő „alkalmazkodása”, hanem eleve rezisztencia-törő tulajdonságú újabb és újabb vírusfajok (ObPV, PaMMV, PMMoV) introdukciójának eredménye volt.

A vírusokban kis változásokra visszavezethető L rezisztencia génekhez történő adaptáció, amely a PMMoV P_{1.2} és P_{1.2.3} patotípusain követhető nyomon (VELASCO et al., 2002) a ritka események közé tartozik. Tekintettel arra, hogy a PMMoV virulensebb P_{1.2.3} patotípusához tartozó „TMV Samsun Latent” törzset MCKINNEY már 1952-ben, a TMV rezisztens fajták elterjedése előtt izolálta, feltételezhető, hogy a PMMoV adaptációja a rezisztens paprika típusokhoz korábbi, talán a vad *Capsicum* fajok evolúciójával is

összefüggő esemény. A géncentrumok vad paprika populációin végzett virológiai kutatások hiányában erre a hipotézisre még nem adható válasz. Ha egy-egy tobamovírus patotípus-megváltozását a rezisztens paprikák termesztése indukálná, vagy felgyorsítaná, már kellő idő állt volna rendelkezésre ahhoz, hogy a TMV-nek vagy a ToMV-nek L allél adaptív mutánsai alakuljanak ki és terjedjenek el. Ilyen mutánsokat azonban spontán fertőzött paprikákról még nem izoláltak. A különböző gazdanövényekről elkülönített, egy inokulumból származó különböző „TMV törzsek” legtöbbször két vírusfaj komplexének bizonyultak (SIEGEL és WILDMAN, 1954; WETTER, 1984), ahogyan a TMV típusizolátuma (U1 izolátum) sem volt eredetileg tiszta vírus (BALD és GOODSHILD, 1960). BETTI et al. (1986, 1988), valamint RAST és MAAT (1988) dolgozatait tanulmányozva sokszor következtethetünk „víruskomplexek” szeparálására, mintsem tiszta víruskultúrák gyors adaptációjára. Bár az L allélek által biztosított ellenállóság a „sérülékeny vertikális” patoszisztémákra jellemző monogénes, dominánsan öröklődő rezisztencia típushoz sorolható (ANDRÁSFALVY, 1982; HARRISON, 2000), viszonylagos stabilitására utal, hogy a DYFV-XM és a PMMoV-P14 izolátummal az elmúlt tíz évben több százezer, L³ és L⁴ genotípusú paprika palántán végzett fertőzés után saját gyakorlatunkban nem figyeltünk meg rezisztencia-törő mutánst. A laboratóriumi viszonyok között, vagy a termesztési gyakorlatban tapasztalt szisztemikus fertőzések gyakran nem vírusadaptáció, hanem az L allélek hőmérséklet érzékenységének, vagy a heterozigóta növények inkomplett rezisztenciájának tulajdoníthatók (HOLMES, 1937; BOUKEMA, 1980, 1982; VERHOEVEN et al., 1998).

A különböző vírusfajokhoz tartozó tobamovírus izolátumok azonos paprika patotípushoz, illetve ugyanazon vírusfaj izolátumainak különböző patotípusokhoz sorolásának genetikai hátterét a molekuláris virológia tárta fel, miután igazolódott, hogy az L rezisztencia allélek elicitora a tobamovírusok köpenyfehérjéje, illetve a köpenyfehérje néhány aminosavra behatárolható régiója (BERZAL-HERRANZ, 1995). Hasonlóan a köpenyfehérjén lokalizálódnak azok az avirulencia faktorok is, amelyek a dohányban az N' gént (*N. sylvestris*), és a tojásgyümölcsön a hiperszenzitivitásért felelős gén működését aktivizálják (CULVER, 2002). A paradicsomon a Tm2 és a Tm2^a gének elicitora azonban a tobamovírusok MP génje által kódolt, sejtről-sejtre történő mozgásáért felelős fehérje (KANG et al., 2005). Az Sd1, LB, XII és XM izolátumok esetében a hasonló köpenyszerkezettel (szerológiai azonosság és azonos elektroforetikus mobilitás) magyarázható, hogy miért tartoznak a paprika L gén háttérben azonos (P₁) patotípushoz. Mivel a dohány N-génje által meghatározott rezisztencia elicitora a tobamovírusok replikáz fehérjéje (PADGETT és BEACHY, 1993), feltételezhető, hogy az Sd1, LB, XII és XM izolátumok közötti patológiai különbségek is a vírus replikáz génjén mutathatók ki. Az újonnan felfedezett Hk gén nem allélikus az L génnel és utóbbtól abban is különbözik, hogy a Hk gén aktivátora az N-génhez hasonlóan szintén a tobamovírusok replikáz génje, vagy az általa kódolt fehérjék (SAWADA et al., 2005). A dohány N-gén és a paprika Hk gén működési mechanizmusában megnyilvánuló hasonlóságok vagy különbségek felderítésében ezért különös jelentősége lenne az Sd1, LB, XII és XM izolátumok patogenitásának vizsgálata a Hk gén háttérben.

Az ORSV és az SHMV csak lokálisan fertőzte a rezisztencia allélekkel nem rendelkező *C. annuum* fajtákat (4.2.2 fejezet). Ez arra utal, hogy ezen vírusok lokalizálását nem aktív növényi védekezési mechanizmus, hanem a transzlokációt („long distance movement”) meghatározó vírus gén(ek), vagy gén termék(ek) defektív jellege eredményezi. Az ORSV és az SHMV ugyanakkor több vad paprika genotípuson okoz hiperszenzitív reakciót, ami az L allélekre, a Hk rezisztencia génre, vagy eddig ismeretlen rezisztencia mechanizmusra utal. Különlegeseek azok a paprika-tobamovírus kombinációk is, amelyekben a lokális nekrotizisok nem határozott léziókban, hanem vonalas és gyűrűs mintázottságban nyilvánulnak meg. Az RMV-vel, az ORSV-vel és az SHMV-vel végzett kísérletek eredményei azt mutatják, hogy a paprika-tobamovírus kölcsönhatások feltárása még

korántsem zárult le és a sok részismeret ellenére a paprika-tobamovírus patoszisztémák megértésének csak a kezdeti lépéseit tettük meg.

5.3 Epilógus: vad patoszisztémák, kultúr-patoszisztémák és a globalizáció

A természetes flórából nem csak az ObPV (syn.: DYFV) veszélyezteti a paprikát. A nagy útifűn (*P. major*) elterjedt és a hazai természetes vizekből is kimutatott RMV (SALAMON, 1979; HORVÁTH et al., 19) fellépése a paprikán előre jelezhető. Nem ismert a közeli múltban Afrikában felfedezett TLV forrása és a vírus patogenitása a paprikán (LADIPO et al., 2003). Az újabb tobamovírusok gazdanövény-váltással bekövetkező „átugrása” a vad patoszisztémákból, vagy más kultúrnövényekről a paprika patoszisztémákba bármikor bekövetkezhet. Ilyen esemény bekövetkezése azonban nem lehet kizárólag a paprikatermesztés gondja, mivel a paprika nem csak gazdanövényévé, hanem forrásává is válik az újabb vírusoknak. A paprikán előforduló tobamovírus populációk folyamatos nyomon követése (vírus monitoring) ezért olyan közérdek, amely a szélesebb körben értelmezett agro-ökoszisztémákat is védheti.

Az ObPV izolátumai Magyarországról a világ távoli tájaira, különböző virológiai laboratóriumokba jutottak el. Figyelembe véve a vírus nagy stabilitását és patogenitását a dohányon, a paprikán és a paradicsom, csak remélhetjük, hogy ezekből a laboratóriumokból a kórokozó nem „szabadul ki” és nem válik CULPAD vírussá a világ más részein.

„A parazita populációjának alkalmazkodása a gazdanövény populációjához a mikroevolúció körébe tartozó jelenség. Ezt a folyamatot – számos elemzett tényből kiindulón – sok szerző tanulmányozta. Új patotípusok keletkezése, aminek már tanúi lehettünk, nem sokban különbözhethet a többé-kevésbé rokon gazdanövényfajokra való átváltástól. Alapos a gyanú, hogy ilyen gazdanövényváltás a domesztikáció során több alkalommal is bekövetkezett.”

ANDRÁSFALVY (1983) fent idézett szép gondolatait a paprika-tobamovírus patoszisztémákra vonatkoztatva, az értekezés záró soraiként, kiegészíthetjük az alábbiakkal: az új tobamovírus patotípusok fellépése a termesztett paprikán legtöbbször nem mikroevolúciós eseménynek, hanem új vírusfajok introdukciójának bizonyult. Az ObPV (syn.: DYFV) esetében ez bizonyosan összefüggött a gazdanövény- (és egyúttal patoszisztéma-) váltással, ahogyan a természetes flórában Magyarországon endemikus, korábban ismeretlen ObPV (syn.: DYFV) felfedezésével ez az esemény - talán a véletlenek különleges időbeni egybeesése és a kutatói „szerencse” folytán - tetten érhető is volt.

6. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

Ebszőlőcsucsról (*Solanum dulcamara* L.) és paprikáról (*Capsicum annuum* L.) származó tobamovírus izolátumok összehasonlító jellemzése

- A növényvirológiában először állapítottuk meg tobamovírus természetes előfordulását ebszőlőcsucoron. A termesztett klónról származó Sd1 izolátumról kimutattuk, hogy a tesztnövényeken különleges tüneteket okoz és szerológiailag nem azonosítható a TMV-vel és a ToMV-vel.
- A „ToMV-Ob” vírustörzs paprika törzsnövényein három, patológiai módszerekkel differenciálható tobamovírus (SB, LB és XII) komplex előfordulását állapítottuk meg. Kimutattuk, hogy a három izolátum közül az LB és az XII komponensek egymással és a *S. dulcamara*-ról származó Sd1 izolátummal mutatnak nagy hasonlóságot. Megállapítottuk, hogy az XII izolátum a dohányon az N-rezisztencia gén áttörő tulajdonsága alapján hasonlít a ToMV-Ob vírustörzshöz. Az XII izolátumból azonban olyan vírusvonalat is szeparáltunk, amely eltérően a szülő vírustól nem okoz elhalásokat az N-génnel rendelkező *N. tabacum* cv. Xanthi-nc dohányon.
- Megállapítottuk, hogy az Sd1 és LB izolátumokkal patológiai tulajdonságaikat tekintve azonos tobamovírus nagy gyakorisággal fordul elő a *S. dulcamara* vad populációin a Felső-Tisza árterein. XII típusú (N gént áttörő) tobamovírust spontán fertőzött ebszőlőcsucor növényről is izoláltunk.
- Az Sd1, LB, XII és XM izolátumok patológiai és szerológiai tulajdonságainak elemzése alapján arra következtettünk, hogy ezek az izolátumok azonos és a *Tobamovirus* nemzetségen belül elkülönülő vírusfajhoz tartoznak. A *S. dulcamara*-hoz a természetben nagymértékben adaptálódott új vírust ebszőlőcsucor sárga foltosság vírusnak (*dulcamara yellow fleck virus*, DYFV) neveztük el. A *N. tabacum* cv. Xanthi-nc dohány fajta lokális és szisztemikus reakciói alapján arra következtettünk, hogy az Sd1, LB, XII és XM izolátumok a DYFV N-gén adaptív, Sd1→LB→XII→XM irányú spontán változatai. Eredményeink és a szakirodalom elemzése alapján megállapítottuk, hogy az általunk vizsgált izolátumok közül az XII izolátum azonos lehet a hivatalosan *Obuda pepper virus* (ObPV) fajhoz sorolt „ToMV-Ob” izolátummal. Az ObPV és a DYFV vírusnevek emiatt szinoním neveknek tekinthetők.

Capsicum fajok, -fajták és -vonalak tobamovírusokkal szembeni fogékonysága és ellenállósága

- A TMV fogékony Almapaprika és a TMV ellenálló Florida VR2 paprika fajták keresztezésével TMV ellenálló hibridet állítottunk elő, amelyet kiinduló nemesítési alapként használtak fel az Evita paprika fajta nemesítésében.
- Patológiai tesztekkel megállapítottuk, hogy a Greygo paprikafajta populációiban a fajtára jellemző L¹ allélen kívül Tm1 rezisztenciát biztosító allél is előfordul. Ezt az allélt pontos azonosításáig L^{2g}-vel jelöltük.

- Patológiai vizsgálatokkal kimutattuk, hogy az L^3 és az L^4 rezisztencia allélekre heterozigóta paprikán a mindkét allélre nézve elicitor tobamovírus patotípussal végzett fertőzés után csak az L^3 allélre jellemző lézió fenotípus alakul ki. Ez a reakció lehetőséget biztosít arra, hogy az L^3L^4 genotípusú növények heterozigóta jellegét utódvizsgálatok nélkül, virológiai tesztekkel is meghatározhassuk.
- A hazai kultúrflórából dísnövényként hasznosítható paprikákat gyűjtöttünk és jellemeztünk. Patológiai vizsgálatokkal több vonalon az L^2 allél jelenlétére utaló Tm1 tobamovírus ellenállóságot mutattunk ki.
- Megállapítottuk, hogy a *C. annuum* rezisztencia génekkel nem rendelkező fajtáit az RMV szisztemikusan, az SHMV és az ORSV izolátumok lokálisan fertőzték. Először állapítottuk meg, hogy az SHMV és ORSV izolátumokkal szemben több vad *Capsicum* faj tétele olyan rezisztens válaszreakciókat mutat (mikroléziók, klorotikus és nekrotikus gyűrűsfoltosság), amelyek lényegesen különböznek a paprikapatogén tobamovírusokkal szembeni hiperszenzitív reakcióra jellemző tünetektől.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

Új paprikapatogén vírus (*Obuda pepper virus*, syn.: *dulcamara yellow fleck virus*, DYFV) izolátumainak jellemzése és előfordulásának megállapítása a *S. dulcamara* vad populációin

A 70-es években Magyarországon kultúrába vont ebszőlő csucsor (*Solanum dulcamara*) klón beteg növényén különleges patológiai és szerológiai tulajdonságokkal rendelkező tobamovírus (Sd1 izolátum) és egy gömb alakú növényvírus (Sd2 izolátum) együttes fertőzését állapítottuk meg. A gömb alakú vírust a *Dulcamara mottle virus* (DuMV) új szerotípusaként azonosítottuk. Az Sd1 tobamovírus izolátum patológiai tulajdonságai alapján megkülönböztethető volt a TMV-től és hasonlított a ToMV-re, azonban különleges tulajdonságai (pl. jellegzetes sárga foltosság tünetek a szisztemikusan fogékony tesztnövényeken és az L¹ rezisztencia-törő tulajdonsága a paprikán), valamint a TMV-vel és a ToMV-vel mutatott távoli szerológiai rokonsága miatt azonosítása részletesebb vizsgálatokat igényelt.

A 70-es évek végén, az ebszőlőcsucssal végzett kísérletek közelében üvegházban termesztett, sárga mozaik tüneteket mutató paprikán a dohány N-génje és a paprika L¹ génje által meghatározott rezisztenciát-törő tobamovírus lépett fel (CSILLÉRY és RUSKÓ, 1980a, b). A „ToMV-Ob”-bal jelölt vírusizolátum patológiai tulajdonságai hasonlítottak az Sd1 izolátumra, ezért feltételeztük a *Solanum dulcamara*-t fertőző tobamovírus gazdaváltását az ebszőlőcsucsról a paprikára. Az összehasonlító vizsgálatokhoz „Ob” jelzésű paprika növényeket kaptunk.

Feltételeztük, hogy a DuMV és az Sd1 tobamovírus a természetes növénytársulások *S. dulcamara* populációiról származik és a gyűjtött növényekkel kerültek a kultúrába vont ebszőlőcsucsról klónokra. Ennek igazolásához az ország távoli tájegységein tanulmányoztuk a vad ebszőlőcsucsról populációk vírusfertőzöttségét.

A virológiai vizsgálatok alapján az alábbiakat állapítottuk meg:

Az „Ob” jelzésű paprika mintákról tesztnövényekre végzett vírusátvitelk tobamovírusok komplex fertőzését igazolták. A víruskomplexből három, patológiai differenciálós módszerekkel egymástól megkülönböztethető komponenst (jelölésük SB, LB és XII) különítettünk el. Az előzetes vizsgálatok azt mutatták, hogy az SB izolátum a *Tobacco mild green mosaic virus*-hoz (TMGMV) hasonló növényvírus, míg az LB és XII izolátumok az Sd1 vírusizolátummal azonos tobamovírus patológiai variánsai. Az „Ob” paprika növényekről származó három vírusizolátum közül csak az XII izolátum rendelkezett a „ToMV-Ob” izolátumhoz hasonló, N-gén törő tulajdonsággal. Az N-gént tartalmazó dohányokon szisztemikus nekrotikus tüneteket okozó XII tobamovírus izolátumból olyan N-gén adaptív mutáns (jelölése: XM) különítettünk el, amely elhalásos tüneteket nem idéz elő.

A Sd1, LB, XII és XM izolátumok tulajdonságairól az alábbiakat állapítottuk meg:

- az Sd1, LB, XII izolátumok gazdanövényköre azonos, és az N-gént tartalmazó dohány fajok és fajták kivételével a legtöbb gazdanövényen egymáshoz hasonló tüneteket idéztek elő. A *Solanum dulcamara*-n szisztemikus megbetegedést okoztak, míg ezt a növényfajt más tobamovírusok szisztemikusan nem fertőzték. A négy izolátumot a *Solanum dulcamara*-n mutatott patogenitás megkülönböztette a *Tobamovirus* nemzetség más fajaitól.

- a négy izolátum szisztemikus betegsétüneteket okozott a *C. annuum* cv. D-Cecei-SH paprikafajtán, de csak lokálisan fertőzte a *C. frutesces* cv. Tabasco paprika fajtát. Ennek alapján a tobamovírusok P₁ patotípusához sorolhatók.
- az Sd1, LB és XII izolátumok között különböző szerológiai módszerekkel (antiszérumszintézis, agar-gél diffúziós spur teszt, intragél abszorbciós teszt, DAS-ELISA) különbséget nem tudtunk kimutatni. Az SDI értékek és a DAS-ELISA vizsgálatok alapján mindhárom izolátum jelentősen elkülönült a *Tobamovirus* nemzetség paprikáról ismert fajainak izolátumaitól.
- az Sd1, LB, XII és XM izolátumok virionjainak elektroforetikus mobilitása azonos és különbözik más tobamovírusoktól.
- a TMV-U1 izolátummal inokulált *N. sylvestris* és az XM izolátummal inokulált *N. glutinosa* növényeken a tobamovírus nemzetség különböző fajainak izolátumai kereszttvédetség teszttel nem differenciálható.
- az Sd1 izolátum fertőzött *S. dulcamara* magjával kis hatékonysággal átvihetőnek bizonyult. Megállapítottuk, hogy az XM izolátum virionjai kimutathatók a fertőzött paprika növények magján és a csíranövények fertőződnek a vírussal. A fertőzött paprika pollenje infektív vírussal szennyeződött.
- az Sd1 izolátum a fertőzött dohány epidermisz sejtjeiben tobamovírusokra jellemző hexagonális kristályos zárványokat okozott. A mezofill sejtek ultravékony metszetében virionokból álló zárványokat mutattunk ki.
- az Sd1 izolátum hőinaktiválási pontja 86-88 °C, a tobamovírusokra általában jellemző értéknél alacsonyabb.

A S. dulcamara vad populációin végzett vizsgálatokkal az alábbiakat állapítottuk meg:

- az Sd1 és LB izolátumokkal a patológiai tulajdonságokat tekintve azonos (nem N-gén törő) tobamovírus gyakori előfordulását a Tisza-ártér természetes ebszőlőcsucor populációin Szabocs-Szatmár-Bereg megyében (Tiszacsécse, Dombrád). Megfigyeltük, hogy az árnyékos helyen elő fertőzött növényeken a vírus a nagy víruskoncentráció ellenére csak enyhe tüneteket okoz, míg napos helyen jellegzetes sárga levélfoltosságot idéz elő.
- Egy spontán fertőzött, napos helyen gyűjtött ebszőlőcsucor növényről az XII izolátumhoz hasonló, N-gén törő tobamovírus izolátumot különítettünk el. Fenti vizsgálatok igazolták, hogy a *S. dulcamara* természetes rezervoár gazdanövénye és ezért forrása lehetett a természetben ebszőlőcsucorról és az Ob jelzésű paprikákról izolált Sd1, LB és XII tobamovírusoknak.

Az Obuda pepper virus és a dulcamara yellow fleck virus azonos tobamovírusok

HAMILTON et al. (1981) iránymutatásait figyelembe véve a patológiai és a szerológiai vizsgálatok eredményei alapján Sd1, LB, XII és XM izolátumokat más tobamovírusoktól elkülönülő faj törzseiként azonosítottuk. A természetben a *S. dulcamara*-hoz nagymértékben adaptálódott új vírus ebszőlőcsucor sárga foltosság vírusnak (dulcamara yellow fleck virus, DYFV) neveztük el (SALAMON et al., 1987). A *N. tabacum* cv. Xanthine dohány fajta lokális és szisztemikus reakciói alapján arra következtettünk, hogy az Sd1, LB, XII és XM izolátumok a DYFV N-gén adaptív, Sd1→LB→XII→XM irányú spontán változatai. Eredményeink és a szakirodalom elemzése alapján megállapítottuk, hogy az általunk vizsgált izolátumok közül az XII izolátum azonos lehet a „ToMV-Ob” izolátummal. Mivel a ToMV-Ob izolátumot az ICTV *Obuda pepper virus* (ObPV) néven regisztrálta, a DYFV név az ObPV szinoním neve.

***Capsicum* fajok, fajták és vonalak tobamovírusokkal szembeni viselkedésének tanulmányozása**

A TMV fogékony Almapaprika és a TMV ellenálló Florida VR2 paprika fajták keresztezésével TMV ellenálló hibridet állítottunk elő. A hibridpopulációból visszakeresztezésekkel és szelekcióval a Vetőmag Vállalat Kutató Központjában (Szentés) nemesítették az Evita paprika fajtát, amely az édes almapaprika csoportban az első TMV ellenálló fajta. Patológiai vizsgálatokkal megállapítottuk, hogy az Evita fajta populációja a több éves fenntartás után megőrizte a TMV ellenállóságot.

Patológiai tesztekkel megállapítottuk, hogy a Greygo paprikafajta populációiban a fajtára jellemző L^1 allélen kívül Tm1 rezisztenciát biztosító allél is előfordul. Ezt az allélt pontos azonosításáig L^{2g} -vel jelöltük.

Patológiai vizsgálatokkal kimutattuk, hogy az L^3 és az L^4 rezisztencia allélekre heterozigóta paprikán a mindkét allélre nézve elicitor tobamovírus patotípussal végzett fertőzés után csak az L^3 allélre jellemző lézió fenotípus alakul ki. Ez a reakció lehetőséget biztosít arra, hogy az L^3L^4 genotípusú növények heterozigóta jellegét utóvizsgálatok nélkül, virológiai tesztekkel is meghatározhassuk.

A hazai kultúrflórából dísznövényként hasznosítható paprikákat gyűjtöttünk és jellemeztünk. Patológiai vizsgálatokkal több vonalon az L^2 allél jelenlétére utaló Tm1 tobamovírus ellenállóságot mutattunk ki.

Termesztett és vad paprika fajok és vonalak (*C. annuum*, *C. chacoense*, *C. chinense*, *C. frutescens*, *C. baccatum* és *C. pubescens*) fogékonyságát és ellenállóságát tanulmányoztuk a paprikáról még nem ismert RMV, SHMV és ORSV izolátumaival szemben. Megállapítottuk, hogy a *C. annuum* rezisztencia génekkel nem rendelkező fajtáit az RMV szisztemikusan, az SHMV és az ORSV izolátumok lokáisan fertőzték. Az SHMV és ORSV izolátumokkal szemben több vad *Capsicum* faj tételein olyan rezisztens válaszreakciókat mutattunk ki (mikroléziók, klorotikus és nekrotikus gyűrűsfoltosság), amelyek lényegesen különböznek a paprikapatogén tobamovírusokkal szembeni hiperszenzitív reakcióra jellemző tünetektől.

8. SUMMARY

Characterization of isolates of the new pepper pathogenic *Tobamovirus* species, *Obuda pepper virus* (ObPV, syn.: *dulcamara yellow fleck virus*, DYFV) and detection of the virus in wild growing populations of woody nightshade (*Solanum dulcamara*)

A tobamovirus marked Sd1 and a spherical plant virus marked Sd2 were isolated from a double infected cultivated clone of *S. dulcamara* in Hungary. Both of these viruses had unusual properties. The spherical virus was identified as a new serotype of *Dulcamara mottle virus* (DuMV-H, *Tymovirus* genus). The tobamovirus Sd1 could be differentiated from TMV by pathological tests and showed some similarities to ToMV. However, unlike to common ToMV strains, it caused specific yellow fleck symptoms in several test plants and systemically infected the pepper (*Capsicum*) genotypes carrying the L¹ tobamovirus resistance gene. Besides them, it was found only distantly related serologically to TMV and ToMV, respectively.

In 1978 an unusual strain of ToMV, marked ToMV-Ob was isolated by CSILLÉRY and RUSKÓ (1980a, b) from yellow mosaic affected greenhouse pepper plants collected near the experimental fields of *Solanum dulcamara*. Tobamovirus Sd1 and ToMV-Ob showed some properties very similar to each others. For comparative studies infected pepper plants marked „Ob” have been kindly supplied by G. CSILLÉRY. Investigations in native plant communities were also initiated to discover the role of *S. dulcamara* in the tobamovirus infection chain in Hungary.

Results

Virus isolation from the „Ob” pepper plants

Mixed tobamovirus infection have been demonstrated using test plants inoculated with the leaf extract of the „Ob” pepper plants. Three virus components, marked SB, LB and XII, were separated. They were distinguished by differential SB (small brown) and LB (large brown) lesion morphology induced in *N. tabacum* cv. Xanthi-nc and *N. glutinosa* as well as by specific ability to cause systemic infection (XII) of these N-gene carrying tobacco plants. Preliminary investigations revealed, that the isolate SB could be a strain of *Tobacco mild green mosaic virus* (TMGMV), while the isolates LB and XII as well as the Sd1 tobamovirus represent different strains of an unusual tobamovirus. The only isolate XII proved to be very similar to „ToMV-Ob” in respect to break the N-gene mediated resistance in tobacco. During the experiments, from isolate XII, which causes scattered necrotic spots and lines in *N. tabacum* cv. Xanthi-nc, a non-necrotic, mosaic variant (XM) was selected.

Properties of the tobamovirus isolates Sd1, LB, XII and XM

- the isolates Sd1, LB and XII had the same experimental host ranges and with the exception of the N-gene carrying tobaccos they induced similar symptoms in their common hosts. They were differentiated from other tobamoviruses by specific pathogenicity to *Solanum dulcamara*. Based on the reactions of pepper genotypes carrying different alleles of the L resistance gene they could be classified to the P₁ pathotype.
- based on the results of serological tests (cross titrations of antisera to different tobamoviruses, double gel diffusion and intragel absorption tests), the isolates Sd1, LB and XII could not be differentiated from each others serologically. However, they

showed distant relationships to the tobamoviruses TMV, ToMV, TMGMV and RMV (SDI = 3-7). In DAS-ELISA antisera to Sd1 and LB reacted specifically with the antigens LB and PaMMV-P11, showing a close serological relationship between these viruses.

- isolates Sd1, LB, XII and XM could not be differentiated by virion electrophoretic mobility, but differed from all the pepper pathogenic tobamoviruses, including PaMMV-P11
- in *N. sylvestris* inoculated with TMV-U1 and in *N. glutinosa* inoculated with tobamovirus XM no local lesions were observed following the challenge inoculation with different tobamoviruses.
- the isolate Sd1 proved to be transmitted with a low frequency (1 %) by *S. dulcamara* seeds. Seed and pollen contamination and infection of seedlings have been demonstrated in pepper plants infected with the isolate XM.
- in light microscopical studies hexagonal inclusions were detected in leaf epidermis cells and trichomes of tobacco plants infected with tobamovirus Sd1. Inclusions builded of angled layers of tobamovirus virions were observed in thin sections of mesophyll cells.
- tobamovirus Sd1 had a thermal inactivation point of 86-88 C⁰, slightly lower than that of other tobamoviruses

Investigations in the wild growing populations of S. dulcamara

- a tobamovirus apparently identical to those of tobamoviruses Sd1 or LB have been found to infect frequently *S. dulcamara* plants grown in the floodplain forests of the river Tisza in North-East Hungary (Szabolcs-Szatmár-Bereg county, near Tiszacséce and Dombrád). The tobamoviruses isolated from spontaneously infected plants usually caused only local lesions on *N. tabacum* cv. Xanthi-nc showing the dominance of a non N-gene resistance breaking strain in the natural virus population. The virus was detected to reach a high concentration in woody nightshade but caused weak symptoms under shaded conditions. However, in sunny places, the infected plants showed yellow fleck symptoms.
- an N-gene adaptive, XII like tobamovirus has been isolated from a *S. dulcamara* plant collected in sunny habitat.
- the results have showed, that wild growing *S. dulcamara* is the natural reservoir hosts and serve as primary source of the tobamoviruses Sd1, LB and XII.

Obuda pepper virus and dulcamara yellow fleck virus are the same tobamovirus species

Considering the guidelines of HAMILTON et. al. (1981) we concluded that the isolates Sd1, LB, XII and XM can be identified as variants of a new tobamovirus species, named dulcamara yellow fleck virus (DYFV). DYFV seems to be highly adapted to its native host *S. dulcamara* and also it seems to be endemic to the Carpathian Basin. The isolates LB, XII and XM can be determined as N-gene adaptive strains (most probably spontaneous mutants) of Sd1 with the direction of Sd1→LB→XII→XM. Out of these viruses the strain XII showed a high degree of similarity to ToMV-Ob, which has been classified to a new tobamovirus species, *Obuda pepper virus* (ObPV) by the ICTV. Consequently, the isolates of DYFV belong to the species officially named ObPV.

Investigations on the susceptibility and reactions of *Capsicum* species, varieties and lines to tobamoviruses

The Hungarian apple shaped pungent variety Almapaprika (TMV susceptible) and the American blocky type cultivar Florida VR2 (TMV resistant, L¹) were crossed to breed the basic material for selection of a new sweet, TMV resistant apple shaped pepper cultivar. Using the selected F₂ plants, breeders of the Seed Company at Szentes constructed the cv. Evita. Pathological tests have showed, that this cultivar retained the tobamovirus resistance over a long propagation period and carry the L¹ allele in homozygous form.

The Hungarian pepper cv. Greygo was characterized to be a population carrying two different tobamovirus resistance alleles. All individuals have been demonstrated to be resistant to ToMV (pathotype P₀), while some of them showed resistance also to the DYFV-XM (pathotype P₁). Genetic background of the Tm1 tobamovirus resistance of Greygo is unknown, and therefore the responsible allele was tentatively marked L^{2g}.

Pepper plants of the genotypes L³L³ and L⁴L⁴ reacted with fast developing small local lesions and delayed large lesions to the inoculations with the DYFV-XM (pathotype P₁), respectively. The hybrid genotype L³L⁴ inoculated with the same virus showed only a reaction phenotype characteristic to the L³ allele, however it was resistant to the PMMoV-P14 (pathotype P_{1,2,3}), too. These results indicate the phenotypic dominance of the L³ allele over the L⁴ allele.

Pepper plants, mainly ornamental forms have been collected and characterized from the Hungarian non breded gene-pool. Several lines showed a Tm1 degree of resistance to tobamoviruses suggesting the presence of the allele L².

Susceptibility and resistance of cultivated and wild pepper species and lines (*C. annuum*, *C. chacoense*, *C. chinense*, *C. frutescens*, *C. baccatum* és *C. pubescens*) to RMV, SHMV and ORSV (tobamoviruses not yet isolated from pepper) have been studied in comparison with the pepper pathogenic ToMV, DYFV-XM and PMMoV. *C. annuum* cvs. lacking resistance genes were found susceptible to RMV systemically and to ORSV and SHMV only locally. Several lines of wild *Capsicum* species reacted with unusual symptoms (microlesions, chlorotic-necrotic ringspots).

9. IRODALOM

- ABBINK, T. E. - DEVOGEL, J. - BOL, J. F. - LONHORST, H. J. (2001): Induction of a hypersensitive response by chimeric helicase sequences of tobamoviruses UI and Ob in *N. carrying tobacco*. *Mol. Plant Microbe Interact.* 14, 1086-95.
- ADAMS, M. J. - ANTONIW, J. F. (2005). DPVweb: An open access internet resource on plant viruses and virus diseases. *Outlooks on Pest Management* 16, 268-270.
- ADAMS, M. J. - ANTONIW, J. F. (2006): DPVweb: a comprehensive database of plant and fungal virus genes and genomes. *Nucleic Acid Res.* 34, Database issue D382-D385.
- ADAMS, M. J. - ANTONIW, J. F. - FAQUET, C. M. (2005): Molecular criteria for genus and species discrimination within the family Potyviridae. *Arch. Virology* 150, 459-479.
- ADKINS, S. - ROBERTS, P. D. - GOOCH, M. D. - BREMAN, L. (2001): Identification of *Pepper mild mottle virus* in Commercial Bell Pepper in Florida. *Plant Dis.* 85, 679.
- AGUT, H. (2002): Back to latin and tradition: a proposal for an official nomenclature of virus species. *Arch. Virol.* 147, 1465-1470.
- ALONSO, E. - GARCIA-LUQUE, I. - AVITA-RINCÓN, M. J. - A. WICKE, B. - SERRA, M. T. - DIAZ-RUIZ, J. R. (1989): A tobamovirus causing heavy losses in protected pepper crops in Spain. *J. Phytopathol.* 125, 67-76. PMMV-Spain.
- ALONSO, E. - GARCIA-LUQUE, I. DE LA CRUZ, A. WICKE, B. - AVITA-RINCÓN, M. J. - SERRA, M. T. - CASTRESANA, C. - DIAZ-RUIZ, J. R. (1991): Nucleotide sequence of the genomic RNA of pepper mild mottle virus, a resistance-breaking tobamovirus in pepper. *J. gen Virol.* 72, 2875-2884.
- ANDRÁSFALVY, A. (1983): A modern agroökoszisztéma - mint evolúciós csapda. In: Vida, G. (szerk) 1983. Az evolúció és az emberiség. *Evolúció III.* pp 105-149. Natura, Budapest.
- ANDRÁSFALVY, A. - ZATYKÓ, L. (1973): Az 1973. év étkezési paprika termesztésének tanulságai. *Kertészeti Kutató Intézet Közleményei* 1974/1. Budapest- Budatétény.
- ANGELI, L. - ZATYKÓ, L. - ANDRÁSFALVY, A. (1971): Improvement of Hungarian pepper varieties by breeding for TMV-resistance *Ann. Fac. Sci. Agr. della Univ. Studi di Torino* 1972; 7: 288-289.
- ANONYMOUS (2002): European Union Community Plant Variety Office. CPVO-TP/76/1 Final. English. Date: 27/03/2002. PROTOCOL FOR DISTINCTNESS, UNIFORMITY AND STABILITY TESTS. *Capsicum annum* L. PEPPER. Adopted on 27/03/2002. 1-23. <http://www.cpvo.europa.eu/documents/TP/vegetables>
- ASSELIN, A. - GRENIER, J (1985): Detection of tobamoviruses from purified or crude extracts after agarose gel electrophoresis. *Canadian Journal of Plant Pathology* 7: 223-227.
- BALD, J. G. - GOODCHILD, D. J. (1960): Tobacco mosaic virus in *Nicotiana glauca*. *Phytopathology* 50, 497-499.
- BALD, J. G. - GUMPF, D. J. - HEICK, J. (1974): Transition from common tobacco mosaic virus to the *Nicotiana glauca* form. *Virology* 59, 467-476.
- BARACSI, E. (1999): A biotesztek virológiai alkalmazása. In.: Horváth, J. - Gáborjányi, R. szerk. (1999): *Növényvírusok és virológiai vizsgálati módszerek.* Mezőgazda Kiadó, Budapest, pp. 139-167.
- BARBOZA, G. A. - DE BEM BIANCHETTI, L. (2005): Three New Species of *Capsicum* (Solanaceae) and a Key to the Wild Species from Brazil. *Systematic Botany* 30, 863-871.
- BARTA, A. - NIEMI, T. - SALAMON, P. (1985): Establishing TMV-resistant pepper varieties. *Capsicum Newsletter* 4, 49.

- BEACHY, R.N. - ZAITLIN, M. (1977): Characterization and in vitro translation of less- than- full-length, virus related, nucleoprotein rods present in tobacco mosaic virus preparations. *Virology* 81, 160-169.
- BECZNER, L. - ROCHON, D. M. - HAMILTON, R.I. (1997): Characterization of an isolate of pepper mild mottle tobamovirus occurring in Canada. *Can. J. Plant Pathol.* 19, 83-88.
- BECZNER, L. - ROCHON, D.M. - HAMILTON, R. I. B. (1986): First report of pepper mild mottle virus (PMMV) in Canada. *Can. J. Plant Pathol. (Abst.)* 8, 347.
- BECZNER, L. - VASSÁNYI, R. - SALAMON, P. - DEZSÉRY, M. (1976): Virus diseases of *Solanum dulcamara* L. in Hungary. I. Dulcamara mottle virus. *Acta Phytopath. Acad. Sci. Hung.* 11, 245-257.
- BERZAL - HERRANZ, A. - DE LA CRUZ, A. - TENLLADO, F. - DIAZ-RUIZ, J. R. - LOPEZ, L. - SANZ, I. - VAQUERO, C. - SERRA, M. T. - GARCIA-LUQUE, I. (1995): The Capsicum L3 gene mediated Resistance against the Tobamoviruses is elicited by coat protein. *Virology* 209, 498-505.
- BETTI, L. - TANZI, M. - CANOVA, A. (1986): Evolutionary changes in TMV pepper strains as a result of repeated host passages. *Phytopath. medit.* 25, 39-43.
- BETTI, L. - TANZI, M. - CANOVA, A. (1988): Pepper mosaic virus strains and their adaptation to the host. I. Biological and serological behaviour. *Phytopath. medit.* 27, 7-17.
- BLACK, L. L. - GREEN, S. K. - HARTMAN G. L. - POULOS J. M. (1991): *Pepper Diseases: A field guide.* Asian Development Center, AVRDC.
- BLANCO-SANCHES, N. - CRESPO, J. - GONZALES G. (1986): Adsorption of tobacco mosaic virus (TMV) in five soils of Cuba., *Ciencias de la Agr.* 29 1986 9-14
- BOS, L. (1983): Ecology and control of virus induced diseases of plants: a critical synopsis. *Adv. Appl. Biol.* 7, 105-173.
- BOS, L. (1999a): The naming of viruses: an urgent call to order. *Arch. Virol.* 144, 631-636.
- BOS, L. (1999b): *Plant viruses, unique and intriguing pathogens - a textbook of plant virology.* Backhuys Publishers, Leiden.
- BOSLAND, P.W. (1995):. *Capsicum: a comprehensive bibliography.* 3rd ed. The Chile Institute, New Mexico State Univ., Las Cruces.
- BOSLAND, P.W. (1996): Capsicums: Innovative uses of an ancient crop. p. 479-487. In: J. Janick (szerk.), *Progress in new crops.* ASHS Press, Arlington, VA.
- BOSLAND, P.W. (1999): *Capsicum: A Comprehensive bibliography.* Sixth Edition, The Chile Institute.
- BOSLAND, P.W. - E. VOTAVA. (1999): *Peppers: vegetable and spice capsicums.* CAB International, United Kingdom.
- BOSWELL, K. M. - GIBBS, A. J. (1983): *Viruses of Legumes. Descriptions and Keys from VIDE.* Canberra Publ. And Printing Co., Canberra, Australia.
- BOUKEMA, I. W. (1977): Resistance in Capsicum to a pepper strain of TMV. 3^{eme}. Congr. Eucarpia Piment. Montfavet-Avignon 1977. pp. 85-88.
- BOUKEMA, I. W. (1980): Allelism of genes controlling resistance to TMV in Capsicum. *Euphytica* 29, 433-439.
- BOUKEMA, I. W. (1982): Resistance to a new strain of TMV in Capsicum chacoense Hunz. *Capsicum Newsletter* 1, 49-51.
- BOUKEMA, I. W. (1984): Resistance to TMV in *Capsicum chacoense* Hunz. is governed by and allele of the L-locus. *Capsicum Newsletter* 3: 47-48
- BOUKEMA, I. W. - JANSEN, K. - HOFMAN, K. (1980): Strains of TMV and genes for resistance in Capsicum. *Synopses IV th Meeting Eucarpia Capsicum Working Group.* Wageningen 1980. pp. 44-48.

- BŐSZE, P. SZERK. (2003): Javaslatok a vírusok neveinek írására és magyarítására. Magyar Orvosi Nyelv. 3, 27-33.
- BROADBENT, L. (1976): [0]Epidemiology and Control of Tomato Mosaic Virus. Ann. Rev. Phytopathol. 14, 75-96.
- BRUNT, A. A. (1986): Tomato mosaic virus. In.: The plant viruses. Vol. 2. The rod-shaped plant viruses. Eds.: M. H. V. van Regenmortel - Fraenkel-Conrat, H. Plenum Press, N. Y. pp. 181-204.
- BRUNT, A. - CRABTREE, K. - DALLWITZ, M. - GIBBS, A. - WATSON, L. (1996): Viruses of Plants: Descriptions and Lists from the VIDE Database. CAB International. 1-1484.
- BUCK, K. W. (1999): Replication of tobacco mosaic virus RNA. Philos. Trans. R. Soc. London B. Biol. Sci. 354 (1383) 613-627.
- BURGYÁN, J. - BECZNER, L. - GÁBORJÁNYI, R. (1978): Relationship among some tobamoviruses. I. Symptomatological and serological comparison. Acta Phytopath. Acad. Sci. Hunga., 13, 75-85.
- BURGYÁN, J. - BECZNER, L. - NÉMETH, M. (1980): Relationship among some tobamoviruses. II. Serological characterization of a tobacco mosaic virus isolated from plum. Acta Phytopath. Acad. Sci. Hung. 15, 339-348.
- CANTO, T. - MACFARLANE, S. A. - PALUKAITIS, P. (2004): ORF6 of Tobacco mosaic virus is a determinant of viral pathogenicity in *Nicotiana benthamiana*. J. Gen. Virol. 85,3123-3133.
- CAPOOR, S. P. (1950): A mosaic disease of sunn hemp in Bombay. Current Science 19, 22.
- CASTELLO, J. D. - ROGERS, S. O. - STARMER W. T- CATRANIS, C. M. - MA, L. - BANCHARD, G. D. - ZHAO, Y. - SMITH, J. E. (1999): Detection of tomato mosaic tobamovirus RNA in ancient Glacier ice. Polar Biol. 22, 207-212.
- CASTELLO J. D. - LAKSHMAN, D. K. - TAVANTZIS, S. M. - ROGERS S. O.- BACHAND, G. D. - JAGELS, R. - CARLISLE, J. - LIU, Y. (1995): Detection of infectious tomato mosaic tobamovirus in fog and clouds. Phytopathology 85, 1409-1412.
- CHOI, C. W. - PARK, S. H. - CHOI, J. K. - RYU, K. H. - PARK, W. M. (2000): Chemical degradation of tobacco mosaic virus followed by infectivity assay, reverse transcription-polymerase chain reaction and gel electrophoresis. Acta Virol. 44, 145-149.
- CONTI, M. - MARTE, M. (1983): Virosi e micoplasmosi del pepperone. Estratto da l'Italia Agricola 120: 132-152.
- COOK, A. A. - ANDERSON, C. W. (1959): Multiple virus disease resistance in a strain of *Capsicum annum*. Phytopathology 49, 198-201.
- COOK, A. A. - OZAKI, H. Y. - ZITTER, T. A. - BLAZQUEZ, C. H. (1976): Florida VR-2, a bell pepper with resistances to three virusdiseases. Circular S-242, Univ. Florida, Gainesville.
- CREAGER, A. - SCHOLTOF, H, G-B, CITOVSKI, V. - SHOLTOF, H. (1999): Tobacco mosaic virus: Pioneering Research for a Century. The Plant Cell.
- CULVER J. N. (2002): Tobacco mosaic virus assembly and disassembly: Determinants in Pathogenicity and Resistance. Annu. Rev. Phytopathol 40, 287-308.
- CULVER, J. N. (2002): Tobacco mosaic virus assembly and disassembly: Determinants in Pathogenicity and Resistance. Annu. Rev. Phytopathol 40, 287-308.
- CULVER, J. N. - LINDBECK, A.G.C. -DAWSON, W. O. (1991): Virus-host interactions: Induction of chlorotic and necrotic responses in plants by tobamoviruses. Annu. Rev. Phytopathol. 29, 193-217.

- CULVER, J. N. - STUBBS, G. - DAWSON, W. O. (1994): Structure-function relationship between tobacco mosaic virus coat protein and hypersensitivity in *Nicotiana sylvestris*. *J. Mol. Biol.* 242, 130-138.
- CSILLÉRY, G. (1982): X. Paprika. In: Velich, I. (szerk), 1982: Válság vagy Egyensúly? Gondok és feladatok a rezisztencianemesítésben. Mezőgazdasági Kiadó, 395-421.
- CSILLÉRY, G. (2006): Pepper taxonomy and the botanical description of the species. *Acta Agronomica Hung.* 54, 151-166.
- CSILLÉRY, G. - RUSKÓ, J. (1980a): Új paprika kórokozó a paradicsommozaik vírus. *Kertészet és Szőlészet* 19 (39), 3.
- CSILLÉRY G. - RUSKÓ J. (1990). The application of the ToMV-Ob strain in the TMV L4 resistance breeding. *Capsicum Newsletter* No. 8-9, 1990:49-50.
- CSILLÉRY, G. - RUSKÓ, J. (1980b): The control of a new Tobamovirus strain by a resistance linked to anthocyanin deficiency in pepper / *Capsicum annum* /. EUCARPIA Capsicum Working Group IVth Meeting. 14-16. October, 1980. Institute for Horticultural Plant Breeding, Wageningen, The Netherlands, pp. 40-43.
- CSILLÉRY, G. - TÓBIÁS, I - RUSKÓ, J. (1983): A new pepper strain of tomato mosaic virus. *Acta Phytopath. Hung.* 18, 195-200.
- DARDICK, C. D. - TARAPOREWA, Z. - LU, B. - CULVER, J. N. (1999): Comparison of Tobamovirus coat protein structural features that affect elicitor activity in pepper, eggplant and tobacco. *MPMI* 12, 247-251.
- DASKALOV, S. - POULOS, J. M. (1994): Updated Capsicum gene list. *Capsicum and Eggplant Newsletter* 13, 15-26.
- DAUBEZE, A. M. - PALLOIX, A. - POCHARD, E. (1990): Resistance of androgenic autodiploid lines of pepper to *Phytophthora capsici* and tobacco mosaic virus under high temperature. *Capsicum Newsletter* 8-9, 47-48.
- DAWSON, W. O. - BECK, D. L. - KNORR, D. A. - GRANTHAM, G. L. (1986): cDNA cloning of the complete genome of tobacco mosaic virus and production of infectious transcripts. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 83, 1832-1836.
- DAWSON, W. O. - JONES, G. E. (1976): A procedure for specifically selecting temperature sensitive mutants of tobacco mosaic virus. *Mol. Gen. Genet.* 145, 307-309.
- DAWSON, W. O. - LEHTO, K. M. (1990): Regulation of tobamovirus gene expression. *Adv. Virus. Res.* 38, 307-342.
- DEMSKI, J. W. (1981): Tobacco mosaic virus is seedborne in pimiento peppers. *Plant Disease* 65, 723-724.
- DE WITT, D. -. BOSLAND, P. W (1996): Peppers of the World: a field guide. Ten Speed Press, Berkeley, CA. 219 pp.
- DING, X.-S. - LIU, J. - CHENG, N.-H. - FOLIMONOV, A. - HOU, Y.-M. - BAO, Y. - KATAGI, C. - CARTER, S. A. - NELSON, R. S. (2004): The *Tobacco mosaic virus* 126-kDa protein associated with virus replication and movement suppresses RNA silencing. *Mol Plant Microbe Interact* 17, 583-592.
- DUBEY, G:S. - BHARDHWAJ, S.V. - PRAKASH, N. (1981): Studies on a mosaic viruses of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Gartenbauwiss.* 46, 16-20.
- DUDITS, D. - HESZKY, L. (2003): Növényi biotechnológia és géntechnológia. Agroinform Kiadó, Budapest, 1-312.
- DUTTON, M. - HANLEY, V. - CORR, C. - BAKER, B. J. (1999): Interactions between tobacco mosaic virus and the tobacco N gene. *Philos. Trans. R. Soc. London, B. Biol. Sci.* 354(1383), 653-658.
- EBERHARD, M. (2004). Virus taxonomy: one step forward, two steps back. *Emerg Infect. Dis.* 10, 8-13.

- EDWARDSON, J. R. - CHRISTIE, R. G. (1997): Viruses infecting peppers and other Solanaceous crops. Univ. Florida, Agric. Expt. Sta. Monograph 18-II.
- ERICKSON, F. L. - DINESH-KUMAR, S. P. - HOLZBERG, S. - USTACH, C. V. - DUTTON, M. - HANLEY, V. - CORR, C. - BAKER, B. J. (1999): Interactions between tobacco mosaic virus and the tobacco N gene. *Philos. Trans. R. Soc. London, B. Biol. Sci.* 354 (1383), 653-658.
- ERNWEIN, C. - WETTER, C. (1987): Ultrastructure of inclusions formed by ribgrass mosaic virus in leaf cells. *J. Phytopathol.* 119, 216-224.
- ESHBAUGH, W.H. (1993): History and exploitation of a serendipitous new crop discovery. pp. 132-139. In: J. Janick - J. E. Simon (eds.), *New crops*. Wiley, New York.
- FAUQUET, C. M. - MAYO, M. A. - MANILOFF, J. - DESSELBERGER, U. - BALL, L. A. (EDS) (2005): *Virus taxonomy*. VIIIth Report of the ICTV. Elsevier/Academic Press, London.
- FEHÉR, A. (2000): *Paprika/Pepper. Leíró fajtajegyzék. Étkezési paprika, fűszerpaprika, paradicsom*. Országos Mezőgazdasági Minősítő Intézet, 2000, 15-36 pp, Budapest.
- FELDMAN, J.M. - GRÁCIA, O. - PONTIS, R.F. - BININSEGNA, J. (1969): Effect of tobacco mosaic virus on pepper yield. *Plant Dis. Repr.* 53, 541-543.
- FELDMAN, J. M. - OREMIANER, S. (1972): An unusual pepper strain of tobacco mosaic virus from pepper. *Phytopath. Z.* 75, 250-267.
- FITCHEN, J. H. - BEACHY, R. N. (1993): Genetically engineered protection against viruses in transgenic plants. *Annu. Rev. Microbiol.* 47, 739-763.
- FLOR, H. H. (1971): Current Status of the Gene-For-Gene Concept. *Ann. Rev. Phytopathol.* 9, 275-296.
- FORD, R. E. - BECZNER, L. - HAMILTON, R. I. (1988): Turnip, cucumber, and ribgrass mosaic viruses isolated from *Hesperis matronalis* in British Columbia. *Plant Disease* 72, 101-106.
- FRASER, R. S. S. (1983): Varying effectiveness of the N' gene for resistance to tobacco mosaic virus in tobacco infected with virus strains differing in coat protein properties. *Physiol. Plant Pathol.* 22, 109-119.
- FRASER, R. S. S. (1998): From virus isolation to transgenic resistance. *Plant Virology Protocols. Methods in Molecular Biology.* 81, 13-24. Humana Press. Totowa, NJ.
- FRASER, R. S. S. (1990): The genetics of resistance to plant viruses. *Annu. Rev. Phytopathol.* 8, 179-200.
- FRAILE, A. - ARANDA, M. A. - GARCÍA-ARENAL, F. (1995): Evolution of the tobamoviruses. In *Molecular Basis of Viral Evolution* Volume (A. Gibbs - C. H. Calisher - F. Garcia-Arenal (eds). Cambridge: Cambridge University Press, pp. 338-350.
- FULTON, R. W. (1982): The protective effects of systemic virus infection. In: Wood, R. K. S. (ed.): *Active defense mechanisms in plants*. 231-245.
- GARCIA-ARENAL, F. - PALUKAITIS, P. - ZAITLIN, M. (1984): Strains and mutants of tobacco mosaic virus are both found in virus derived from single-lesion passaged inoculum. *Virology* 132, 131-137.
- GARCIA-LUQUE, I. - FERRERO, M. L. - RODRIGUEZ, J. M. - ALONSO, E. - DE LA CRUZ, A. - SANZ, A. I. - VAQUERO, C. - SERRA, M. T. - DIAZ-RUIZ, J. R. (1993): The nucleotide sequence of the coat protein genes and 3'non-coding regions of two resistance-breaking tobamoviruses in pepper shows that they are different viruses. *Arch. Virol.* 131,75-88.
- GARCIA-LUQUE, I. - SERRA, M. T. - ALONSO, E. - WICKE, B. - FERRERO, M. L. - DIAZ-RUIZ, J. R. (1990): Characterization of a Spanish strain of pepper mild mottle virus (PMMV-S) and its relation to other tobamoviruses. *J. Phytopathol.* 129, 1-8.

- GABORJANYI, R. - ALMÁSI, A. - KÁLMÁN, D. (1999): Paprikafajták ellenállóképessége különböző patogenitású tobamovírusok fertőzésével szemben. *Kertgazdaság* 31,7-14.
- GÉMESNÉ, J. A. - SÁGI, Zs. - SALAMON, P. - SOMOGYI, N. - ZATYKÓ, L. - VENCZEL, G. (1998): Experiences and results of in vitro haploid methods application in pepper breeding programme. Proc. Xth Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum and Eggplant. Avignon, France, Sept. 7-11. pp. 201-202.
- GIBBS, A. J. (1977): Tobamovirus group. CMI/AAB Description of Plant Viruses. No. 184
- GIBBS, A. J. (1980): How ancient are the tobamoviruses. *Intervirology* 14, 101-108.
- GIBBS, A. J. (1983): Virus ecology - struggle of the genes. *Encycl. Plant Physiology* 13C. 537-558.
- GIBBS, A. J. (1986) Tobamovirus classification. In *The Plant Viruses Volume 2* (M. H. V. Van Regenmortel and H. Fraenkel-Conrat, eds). New York, Plenum Press, pp. 167-180.
- GIBBS, A. (1999): Evolution and origins of tobamoviruses. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. Ser. B-Biol. Sci.* 354, 593-602.
- GIBBS, A. J. (2000): Virus nomenclature descending into chaos. *Arch. Virol* 145, 1505-1507.
- GIBBS, A. J. (2003): *Tobamovirus tabaci*.
<http://www.anu.edu.au/BoZo/combo/nomenclature/TMVdesc.doc>
- GIBBS, A. J. - ARMSTRONG, J. S. - GIBBS, M. J. (2004): A type of nucleotide motif distinguishes tobamovirus species more efficiency than nucleotide signatures. *Arch. Virol.* 149, 1941-1954.
- GIBBS, A. J. - GIBBS, M. J. (2006): A broader definition of 'the virus species'. *Arch. Virol.* 151, 1419-1422.
- GILARDI, P. - GARCIA LUQUE, I. - SERRA, M. T. (2004): The coat protein of tobamovirus acts as elicitor of both L2 and L4 gene-mediated resistance in Capsicum. *J. gen. Virol.* 85, 2077-2085.
- GOELET, P. - LOMONOSOFF, G. P. - BUTLER, P. J. G. - AKAM, M-E. - GAIT, M. J. - KARN, J. (1982): Nucleotide sequence of tobacco mosaic virus RNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. A.* 79, 5818-5822.
- GOODING, G. V. - HÉBERT, T. T. (1967): A simple technique for purification of tobacco mosaic virus in large quantities. *Phytopathology* 57, 1285.
- GREEN, S. K. - KIM, J. S. (1994): Sources of resistance to viruses of pepper (*Capsicum* spp.): a catalog. *Technical Bull. No. 20. Taipei* 1994
- GREEN, S. K. - KIM, J. K. (1991): Characteristics and Control of Viruses infecting peppes: A literature Review. *Techn. Bull. No. 18. AVRDC.*
- GOODMAN, R. N. - KIRÁLY, Z. - WOOD, K. R. (1991): A beteg növény biokémiája és élettana. Akadémiai Kiadó, Budapest.
- GREENLEAF, W. H. (1986): Pepper breeding. In *Breeding Vegetable Crops*. 67-134.
- HAMADA, H. - TAKEUCHI, S. - MORITA, Y. - SAWADA, H. - KIBA, A. - HIKICHI, Y. (2003): Characterization of Paprika mild mottle virus first isolated in Japan *J. gen. Plant Pathol.* 69, 199-204.
- HAMILTON, R. I. - EDWARDSON, J. R. - FRANCKI, R. I. B. - HSU, H. T. - HULL, R. - KOENIG, R. - MILNE, R. G. (1981): Guidelines for the identification and characterization of plant viruses. *J. gen. Virol.* 54, 223- 241.
- HARRISON, B. D. (1981): Plant virus ecology: ingredients, interactions and environmental influences. *Ann. Appl. Biol.* 99, 195-209. HARRISON, B. D. (2002): Virus variation in relation to resistance-breaking in plants. *Euphytica* 124, 181-192.
- HARRISON, B. D. - WILSON, T. M. (1999): Milestones in the reaearch on tobacco mosaic virus. *Philos. Trans. R. Soc. London B Biol. Sci.* 354 (1383), 521-529.

- HARRISON, B.D. - FINCH, J.T.- GIBBS, A. J.- HOLLINGS, M.- SHEPHERD, R.J.- VALENTA, V. - WETTER, C. (1971). Sixteen groups of plant viruses. *Virology* 45: 356-363.
- HEINZE, C. - LESEMANN, D.-E. - ILMBERGER, N. - WILLTNGMANN, P. - ADAM, G. (2006): The phylogenetic structure of the cluster of tobamovirus species serologically related to ribgrass mosaic virus (RMV) and the sequence of streptocarpus flower break virus (SFBV). *Archiv. Virol.* 151, 763-774.
- HESZKY, L. - FÉSÚS, L. - HORNOK, L. (2005): *Mezőgazdasági Biotechnológia*. Agroiinform Kiadó, Budapest, 1-366.
- HILF, M. E. - DAWSON, W. O. (1993): The Tobamovirus capsid protein functions as a host-specific determinant of long distance movement. *Virology* 193, 106-114.
- HOLMES, F. O. (1934): Inheritance of ability to localize tobacco mosaic virus. *Phytopathology* 24, 984-1002.
- HOLMES, F. O. (1937): Inheritance of resistance to tobacco-mosaic disease in the pepper. *Phytopathology* 27, 637-642.
- HOLMES, F. O. (1938): Taxonomic relationships of plants susceptible to infection by tobacco mosaic virus. *Phytopathology* 28, 58-66.
- HOLMES, F. O. (1946): A comparison of the experimental host ranges of tobacco-etch and tobacco-mosaic viruses. *Phytopathology* 36: 643-659.
- HOLMES, F. O. (1951): Indication of a new word origin of tobacco mosaic virus. *Phytopathology* 41, 341-349.
- HOOKE, W. J. (Ed.).(1986): *Compendium of Potato Diseases* American Phytopathological Society.
- HORVÁTH, J. (1969): Adatok a paprikafajták vírusokkal szembeni fogékonyságához és a paprikapatogén vírusok differenciálásához. *Növénytermelés* 18, 79-88.
- HORVÁTH, J. (1972): *Növényvírusok, vektorok, vírusátvitel*. Akadémiai Kiadó. Budapest.
- HORVÁTH, J. (1976): *Vírus gazdakörök és vírusedifferenciálás*. Akadémiai Doktori Értekezés, Budapest.
- HORVÁTH, J. (1983): *Paprika (Capsicum L.) fajok és varietások vírusrezisztenciája: Irodalmi áttekintés*. *Kertgazdaság*, 15, 75-80
- HORVÁTH, J. (1984a): *Paprika (Capsicum L.) fajok és varietások vírusrezisztenciája: Új inkompatibilis (hiperszenzitív) gazda-vírus kapcsolatok*. *Kertgazdaság* 16, 93-95.
- HORVÁTH, J. (1984b): *Paprika (Capsicum L.) fajok és varietások vírusrezisztenciája: Új inkompatibilis (letális) gazda vírus kapcsolatok*. *Kertgazdaság* 16, 77-80.
- HORVÁTH, J. (1984c): *Paprika (Capsicum L.) fajok és varietások vírusrezisztenciája: Új kompatibilis (fogékony) gazda-vírus kapcsolatok*. *Kertgazdaság* 16, 81-84.
- HORVÁTH, J. (1984d): *Burgonyagéncentrumok: A rezisztenciagének és a víruspatogének forrásai*. In : Csaba, Gy. ed. *A biológiai aktuális problémái*. Medicina Kiadó, Budapest 30, 153-185.
- HORVÁTH, J. (1986a): *Compatible and incompatible relations between Capsicum species and viruses. I. Review*. *Acta Phytopath. Hung.* 21, 35-50.
- HORVÁTH, J. (1986b): *Compatible and incompatible relations between Capsicum species and viruses. II. New compatible host-virus relations (susceptible plants.)* *Acta Phytopath. et Entomol Hung.* 21, 51-58.
- HORVÁTH, J. (1986c): *Compatible and incompatible relations between Capsicum species and viruses. III. New incompatible host virus relations (resistant and immune plants.)* *Acta Phytopath. et Entomol Hung.* 21, 51-58.
- HORVÁTH, J. (1993): *Hosts and non-hosts in the diagnostic strategy of plant viruses*. *Acta Phytopath. et Entomol.* 28, 257-354.

- HORVÁTH, J.- BECZNER, L. (1983): Viruses of vegetable plants in Hungary and some of their properties. *Acta Phytopath. Acad. Sci. Hung.* 18, 237-254.
- HORVÁTH, J. - GÁBORJÁNYI, R. (SZERK.) (1999): *Növényvírusok és virológiai vizsgálati módszerek.* Mezőgazda Kiadó, Budapest.
- HORVÁTH, J. - JURETIC, N. - KRAJACIC, M. - MAMULA, D. (1986): Tobacco mosaic virus in Danube water in Hungary *Acta Phytopath. et Entomol. Hung.* 21, 337-340.
- HORVÁTH, J. - KAZINCZI, G. - TAKÁCS, A. - PRIBÉK, D. - BESE, G. - GÁBORJÁNYI, R. - KADLICKO, S. (2000): Virus susceptibility and resistance of Hungarian pepper varieties. *Internat. J. Hort. Sci.* 6, 68-73.
- HORVÁTH, J. - KOVÁCS, J. -KAZINCZI, G. - TAKÁCS, A. (2004): Reaction of Capsicum genotypes to Obuda pepper virus, tobacco mosaic virus and cucumber mosaic virus. *Capsicum and Eggplant Newsletter* 23, 117-120.
- HUBALEK, Z. (2004): Virus nomenclature: Three steps forward, a half step back. ICTV Message Board. <http://www.danforthcenter.org/iltab/ictvnet/asp/iMessageDisplayPost>
- HULL, R. (2002): *Matthews' Plant Virology.* Fourth Edition. Academic Press. London.
- ICHIKI, T. U. - NAGAOKA, E.N. - HAGIWARA, K. - UCHIKAWA, K. - TSUDA, S. - OMURA, T. (2005): Integration of mutations responsible for the attenuated phenotype of *Pepper mild mottle virus* strains results in a symptomless cross-protecting strain. *Arch. Virol.* 150, 2009-2020.
- IWANOWSKI, D. (1903): Über die Mosaikkrankheit der Tabakpflanze. *Z. Pflanzenkrankheiten* 13, 1-41.
- JAEGLE, M. - VAN REGENMORTEL, M. H. (1985): Use of elisa for measuring the extent of serological cross-reactivity between plant viruses. *J. Virol Methods* 11, 189-198.
- JURETIC, N. - HORVÁTH, J. -KRAJIC, M (1986): Occuring of ribgrass mosaic virus in water of Hungarian river Zala. *Acta Phytopath. et Entomol. Hung.* 21, 291-295.
- JURETIC, N. - HORVÁTH, J. - BESADA, W. -H. - HORVÁTH, A. -LÖNHARD, M. (1977): Serological relationship of tomato mosaic virus isolated from potato to two members of tobamovirus group. *J. Indian. Potato Assoc.* 4, 64-65.
- KAHN, I. A. - JONES, G. E. (1989): Selection for a specific tobacco mosaic virus variant during bolting of *Nicotiana glauca*. *Can. J. Bot.* 67, 88-94.
- KAJATI, I. - KÁDÁR, A. (1974): A szentesi paprikatermesztés problémáival kapcsolatban az 1972-es évben végzett vizsgálatok tapasztalatai. *Növényvédelem* 10, 20-31.
- KAMINSKA, M. - MALINOWSKI, T. (1992). Some characteristics of Odontoglossum ringspot virus. *Folia Horticulturae* IV/1, 23-38.
- KANG, B.- C. - YEAM, I. - JAHN, M. M. (2005): Genetics of Plant Virus Resistance. *Ann. Rev. Phytopathol.* 43, 581-621.
- KAPELLER, K. (1962): Vizsgálatok és védekezési kísérletek a kalocsai fűszerpaprika 1 efontosabb gomba -és vírusbetegségeinek leküzdésére. *Doktori Értekezés, Kecskemét-Kalocsa.*
- KAPELLER, K. (1971): A komplex rezisztencia és a minőség kialakításának problémái a fűszerpaprikánál. *Zöldségtermesztési Kut. Int. Bull.* 6, 49-60.
- KAZINCZI, G. - HORVÁTH, J. - GÁBORJÁNYI, R. (2001): Some aspects of pepper virus research. *Acta Phytopath. Entomol. Hung.* 36, 329-347.
- KAZINCZI, G. - HORVÁTH, J. - MIKULÁS, J. - ALMÁSI, A., -EKÉS, M. - HUNYADI, K. (1999) Natural occurrence of tobacco mosaic tobamovirus (TMV) on common milkweed (*Asclepias syriaca* L.) in Hungary. *Acta Phytopathol. Entomol. Hung.* 34, 169-176.
- KAZINCZI, G. - KOVÁCS, J. - TAKÁCS, A. P. - HORVÁTH, J. - GÁBORJÁNYI, R. (2003): Reaction of different Capsicum genotypes to four viruses. *J. Hort. Sci.* 9, 61-64.

- KÁLMÁN, D. (2003): Paprika enyhe tarkulás vírus (Pepper mild mottle virus, PMMoV) izolátumok patológiai és molekuláris biológiai jellemzése. Doktori (Ph. D.) Értekezés, Keszthely.
- KIRÁLY, L. (2000): The silencing of (trans)gens - A mechanism of virus resistance in plants. *Acta Phytopathol. et Entomol. Acad. Sci. Hung.* 34, 263-275.
- KEGLER, H. - KLEINHEMPEL, H. (1987): *Virusrezisztenz der Pflanzen*. Akad. Verlag, Berlin. 1-184.
- KOVÁCS, J. - HORVÁTH, J. (1973): A zöldbab és étkezési paprika termesztésének és vírus rezisztenciára nemesítésének problémái. *Keszthelyi Mezőgazdasági Kar Közi.* 15, 42.
- KNAPP, E. - LEWANDOWSKI, D. (2001): Tobacco *mosaic virus*, not just a single component virus anymore. *Mol. Plant Pathol.* 2, 117-123.
- KNORR, D. A. - DAWSON, W. O. (1988): A point mutation in the tobacco mosaic virus capsid protein gene induces hypersensitivity in *Nicotiana sylvestris*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. A.* 85, 170-174.
- KOENIG, R. - GIBBS, A. J. (1986). Serological relationships among tobamoviruses. *J. Gen. Virol.* 67, 75-82.
- KUNKEL, L. L. (1934): Studies on aquired immunity with tobacco and aucuba mosaics. *Phytopathology* 24, 437-466.
- LADIPO, J. L. - KOENIG, R - LESEMANN D.-E. (2003): Nigerian tobacco latent virus: a new Tobamovirus from tobacco in Nigeria. *Eur J. PL Pathol.* 109, 373-379.
- LARTEY, R. T. - VOSS, T. C. - MELCHER, U. (1996): Tobamovirus evolution: gene overlaps, recombination, and taxonomic implications. *Mol. Biol. Evol.* 13, 1327-1338.
- LEFEBVRE, V - CARANTA, C. - PFLIEGER, S. - MOURY, B. - DAUBÉZE A. M. (1997): Updated intraspecific maps of pepper. *Capsicum and Eggplant Newsletter* 16, 35-41.
- LEWANDOWSKI, D. J. (2005): *Tobamovirus* genus. In.: FAUQUET, C. M.- MAYO, M. A. - MANILOFF, J. - BALL, L. A. (EDS.). *Virus Taxonomy. Classification and Nomenclature of Viruses: 8th Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Academic Press, London, pp. 1009-1014.
- LOVISOLO, O. - HULL, R. - RÖSLER, O. (2003): Coevolution of viruses with hosts and vectors and possible paleontology. *Adv. Virus Res.* 62, 325-375.
- MACNEIL, B. H. - BOXALL, M. (1974): The evolution of a pathogenic strain of tobacco mosaic virus in tomato: a host-passagen phenomenon. *Can. J. Bot.* 52, 1305-1307.
- MAYO, M. A (2004): Changes to virus taxonomy. *Arch. Virol.* 150, 189-198.
- MAYO, M. A. - MANILOFF, J. - VAN REGENMORTELL, M. H. V.- FAUQUET, C. M. (2002): The Type Species in virus taxonomy. *Arch Virol* 147, 1271-1274.
- MÁTHÉ, I. (2002): A Hatóanyag Produkcióbíológiai Kutatócsoport tevékenysége. In.: Fekete, G. et al. (szerk): 2002. *Az MTA Ökológiai és Botanikai Kutatóintézete 50 éve (1952-2002)*. MTA ÖBKI, Vácrátót. pp. 230-237.
- MCKINNEY, H. H. (1929): Mosaic diseases in the Canary Islands, West Africa and Gibraltar. *J. Agric. Res.* 39, 557-578.
- MCKINNEY, H. H. (1952): Two strain of tobacco mosaic virus, one of which is seed borne in an etch immune pungent pepper. *Plant Dis. Repr.* 36, 184-187.
- MESHI, T. - ISHIKAWA, M - MOTOYOSHI, F. - SEMBA, K - OKADA, Y. (1986): In vitro transcription of infectious RNAs from full-length cDNAs of tobacco mosaic virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. A.* 83, 5043-5047.
- MILICIC, D. -. STEFANAC, Z., JURETIC, N., AND WRISCHER, M. (1968) Cell inclusions of Holmes' ribgrass virus. *Virology* 35, 356-362.
- MILLER, E. D. - HEMENWAY, C. (1998): From virus isolation to transgenic resistance. *Plant Virology Protocols. Methods in Molecular Biology.* 81, 25-38. Humana Press. Totowa, NJ.

- MIN, B. E. - CHUNG, B. N. - KIM, M. J. - HA, J. H. - LEE, B. Y. - RYU, K. H. (2006) Cactus mild mottle virus is a new cactus-infecting tobamovirus. *Archiv. Virol.* 151, 13-21.
- MITYKÓ J. - GÉMES JUHÁSZ A. (2006): Improvement in the haploid technique routinely used for breeding sweet and spice peppers in Hungary. *Acta Agronomica Hungarica* 54,203-219
- MOROZOV, S. Y., DENISENKO, O. N., ZELENINA, D. A., FEDORKIN, O. N., SOLOVYEV, A. G., MAISS, E., CASPER, R. & ATABEKOV, J. G. (1993). A novel open reading frame in tobacco mosaic virus genome coding for a putative small, positively charged protein. *Biochimie* 75, 659-665.
- MUELLER, L. A. - SOLOW, T. H. ET.AL. (2005): The Sol Genomics Network. A comparative resource for Solanaceae biology and beyond. *Plant Physiology* 138,1310-1317
- MUNDRY, K. W. (1957): Die Abhängigkeit des Auftretens neuer Virusstämme von der Kulturtemperatur der Wirtspflanzen. *Z. induct. Abstam u. Vererb. Lehre.* 88, 407-426.
- NÉMETH, M. V. (1979): Gyümölcsfák vírusos, mikoplazmás és rickettsiás betegségei. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest.
- NOORDAM, D. (1973): Identification of Plant Viruses. Methods and Experiments. PUDOC, Wageningen
- OHNO, T. -AOYAGI, M. -YAMANASHI, Y. - SAITO, H. IKAWA, S. - MESHI, T. - OKADA, Y. (1984): Nucleotide sequence of the tobacco mosaic virus (tomato strain) genome and comparison with the common strain genome. *J. Biochem.* 96, 1915- 1923.
- OUCHTERLONY, Ö. (1968): Handbook of immunodiffusion and immunoelectrophoresis. Ann. Arbor: Ann Arbor Science Publishers, 1-215.
- PAGDETT, H. S. -BEACHY, R. N. (1993): Analysis of a tobacco mosaic virus strain capable of overcoming N.gene mediated resistance. *Plant Cell* 5, 577-586.
- PADGETT, H. S. - WATANABE, Y. - BEACHY, R. N. (1997): Identification of the TMV Replicase Sequence That Activates the N Gene-Mediated Hypersensitive Response. *MPMI* 10,709-715.
- PALUDAN, N. (1980): Virusangreb i peber (*Capsicum annum* L.) med saerling henblik pa tobakmosaikvirus. *Statens Planteavl. Medd.* 82nr 1556, 4 pp.
- PALUKAITIS, P. - SYMONS, R. N. (1980): Nucleotide sequences homology of thirteen tobamovirus RNAs as determined by hybridization analysis with complementary DNA. *Virology* 107, 354-361.
- PALUKAITIS, P. - RANGLES, J.W. - TIAN, Y. - KANG, L. - TIEN, P. (1981): Taxonomy of several tobamoviruses from China as determined by molecular hybridization analysis with complementary DNA. *Intervirology* 16 1981 136-141
- PARES, R.D. (1985): A tobamovirus infecting capsicum in Australia. *Ann. appl. Biol.* 106, 469-474.
- PAUL, E. - GOTO, M. - TANKSLEY, S. D. (1994): Solgenes: a Solanaceae database. *Euphytica* 79, 181-186.
- PELHAM J. (1972): Strain-genotype interaction of TMV in tomato.*Ann.appl. Biol.*, 71:219-228
- PENNAZIO, S. -ROGGERO, P. -CONTI, M. (2001): A history of plant virology, mendelian genetics and resistance of plant viruses, *new microbiol.* 24, 409-424.
- PETROCZI, I. (1956): A fűszerpaprika gyűrűsfoltosságát előidéző mozaik-vírusok Magyarországon. *Növénytermelés* 5, 87-94.

- PFITZNER, U. M. - PFITZNER, A. J. P. (1992): Expression of a viral avirulence gene in transgenic plants is sufficient to induce the hypersensitive defense reaction. *Mol. Plant Microbe Interact.* 5, 318-321.,
- PICKERSGILL, B., 1988. The genus *Capsicum*: a multidisciplinary approach to the taxonomy of cultivated and wild plants. *Biol. Zent.bl.* 107:381-389.
- PICKERSGILL, B. (1997): Genetic resources and breeding of *Capsicum* spp. *Euphytica*, 96., 129-133
- PRISZTER, SZ. (1998): *Növényneveink. A magyar és a tudományos növénynevek szótára.* Mezőgazda Kiadó, Budapest.
- RAST, A. TH. B. (1977): Introductory remarks on strains of TMV infectiong peppers in the Netherlands. 3rd Eucarpia Piment, Montfavet-Avignon 1977, pp. 83-84.
- RAST, A. TH. B. (1979): Pepper strains of TMV in the Netherlands. *Med. Fac. Landbouw. Rijksuniv. Gent.* 44, 617-622.
- RAST, A. TH. B. (1982): Resistance of capsicum species to tobacco, tomato and pepper strains of tobacco mosaic virus. *Neth. J. Plant Pathol.* 88, 163-169.
- RAST, A. TH. B. (1988): Pepper tobamovirus pathotypes used in resistance breeding. *Capsicum Newsletter* 7, 20-23.
- RAST, A. TH. B. - MAAT, D. Z. (1986): Yellow mosaic strains of *Capsicum* mosaic virus. *Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent,* 51/2b, 791-797.
- RATCLIFF, F.- MACFARLANE, S.A.- AND BAULCOMBE, D.C. (1999). Gene silencing without DNA: RNA-mediated cross protection between viruses. *Plant Cell* 11, 1207-1215.
- REZENDE, J. A. M., URBAN, L., SHERWOOD, J. L., AND MELCHER, U. (1992) Host effect on cross protection between two strains of tobacco mosaic virus. *J. Phytopathol.* 136, 147-153.
- ROBINSON, R. A. (1976): Horizontal Pathosystem Management. In.: *Plant Pathosystems.* Springer-Verlag. pp. 96-111.
- ROZANOV, M.N. - KOONIN, E. V. - GORBALENYA, A. E. (1992): Conservation of the putative methyltransferase domain: a hallmark of the 'Sindbis-like' supergroup of positive-strand RNA viruses. *J. Gen. Virol.* 73 :2129-34.
- RUÍZ DEL PINO, M.- MORENO, A. - GARCÍA DE LACOB, M - CASTILLO-LLUVA, S - GILARDI, P. - T.- SERRA, M. P. - GARCÍA-LUQUE, I. (2003): Biological and molecular characterization of PI01 isolate, a tobamoviral pepper strain from Bulgaria. *Arch. of Virology* 148, 2115-2135.
- RUSKÓ J. - CSILLÉRY G. - MOOR A. (1995). Analysis of the symptomatology of the virus strains ToMV-Ob and P-14 on peppers armed with the alleles L³ and L⁴ at different temperature. IXth Eucarpia Meeting on Genetics and Breeding on Capsicum and Eggplant, Budapest (Hungary), August 21-25, 1995:152-154.
- SALAMON, P. (1975): A burgonya rügydugványvizsgálat megbízhatóságát növelő vírusdiagnosztikai módszerek. *Diplomadolgozat, Gödöllő.* 1-69.
- SALAMON, P. (1979): Az útifű mozaik vírus (ribgrass mosaic virus) természetes előfordulása Magyarországon. *Agrártud. Közl.* 39, 71.
- SALAMON, P. (1982): Resistance breaking tobamoviruses isolated from pepper (*Capsicum annuum* L.) and nightshade (*Solanum dulcamara* L.) in Hungary. *Internat. Wiss. Tagung Probl. Resistenz von Pflanzen gegen Viren, bakterielle und pilzliche Krankheitserreger sowie tierische Schaderreger.* 1-6 November 1982. Aschersleben. p83.
- SALAMON, P. (1983): Ismeretlen genetikai hátterű tobamovirus rezisztencia a *Nicotiana* és *Capsicum* nemzetségben. *Növényvédelem* 19, 351-352.

- SALAMON, P. (1985): A paprika (*Capsicum annuum* L.) vírusbetegségei Magyarországon: a paprikavirózisok szimptomatológiája és etiológiája. *Növényvédelem* 21,412.
- SALAMON, P. (1988): Tobamo-, Tymo- és Cucumovirusok elektroforetikus mobilitásának vizsgálata agaróz-gélben. *Növényvédelmi Tud. Napok*. 1988. Budapest. 71.
- SALAMON, P. (1989): Termesztett és vadon élő burgonyafélék vírusbetegségei és vírusai Magyarországon. 2. Az uborka mozaik vírus természetes gazdái a *Solanaceae* fajok körében. *Növényvédelem* 25, 97-109.
- SALAMON, P. (1993): Tobamovirus rezisztencia gének a *Capsicum* nemzetségben és a paprika rezisztencia-nemesítés hazai eredményei. *Integrált termesztés a kertészetben* (14.),104-113.
- SALAMON, P. (1995): Multiple virus resistance of a line of *Capsicum chacoense* Hunz. IXth Meeting on Genetics and Breeding on Capsicum and Eggplants. Budapest, Hungary 1995. 177-180.
- SALAMON, P. (1996): Vírustaxonómia és nómenklatura '95: Új eredmények és régi gondok. 42. *Növényvédelmi Tudományos Napok*, Budapest, p. 132.
- SALAMON, P. (1997): Differentiation of pepper pathogenic tobamoviruses and the main point of their control. 1st Internat. Plant Prot.Conf. Debrecen 1997. pp. 44-45.
- SALAMON, P. (1999): Diszpaprika vonalak Tobamovirus fogékonysága és ellenállósága. *Kertgazdaság* 31, 46-49.
- SALAMON, P. (2000): Az EVITA paprikafajta tobamovirus ellenállóságának vizsgálata. *Kertgazdaság* 32, 38-40.
- SALAMON, P. (2006a): Növényvírus taxonómia és nómenklatura 2005: Új taxonok, a vírusfaj fogalom elfogadásának következményei és a magyar növényvírus nómenklatura. 52. *Növényvédelmi Tudományos Napok*, Budapest, p. 64.
- SALAMON, P. (2006b): A növényvírusok, viroidok és szatellitek osztályozása és nevezéktana 2006 (Az elfogadott tudományos valamint a javasolt latin és magyar nevekkkel). *Növényvédelem (Különszám)*. Leadott kézirat.
- SALAMON, P. (2006c): Termesztett és vadon élő burgonyafélék vírusos betegségei és vírusai Magyarországon. 6. Ebszőlőcsucor (*Solanum dulcamara* L.), a burgonya M- vírus (Potato vírus M, PVM új törzsének természetes gazdanövénye *Növényvédelem* *Növényvédelem* 42, 121-134
- SALAMON, P. (2006d): Paprika (*Capsicum*) fajok-, fajták- és vonalak fogékonysága és reakciói paprikáról nem izolált tobamovírusokkal szemben. XVI. Keszthelyi Növényvédelmi Fórum Kiadványa, Keszthely, 2006. január 26-27. 81-84.
- SALAMON, P. -DEZSÉRY, M. (1983): Vad *Solanaceae* fajokat fertőző növényvírusok Magyarországon. *Növényvédelem* 19, 351.
- SALAMON, P. - BECZNER, L. (1982): Egy rezisztenciát áttörő tobamovirus ebszőlőből (*Solanum dulcamara* L.) és paprikából (*Capsicum annuum* L.) izolált variánsainak patológiai és szerológiai összehasonlító vizsgálata. *Növényvédelmi Tud. Napok*, Budapest, p. 34.
- SALAMON, P. -BECZNER, L. (1983): Role of the plant virus identification in the integrated plant protection. Internat. Conf. Integrated Plant Prot. Budapest 1993. 190.
- SALAMON, P. - BECZNER, L. (1987): Dulcamara yellow fleck virus (DYFV): a tobamovirus csoport új, *Solanum dulcamara* populációkban elterjedt, Magyarországon endemikus tagja. *Növényvédelmi Tud. Napok*. Budapest. 1987. 83p.
- SALAMON, P. - BECZNER, L. - HAMILTON, R. I. (1987): Dulcamara yellow fleck virus (DYFV), a new member of the tobamovirus group in Hungary. VIIth Internat. Congress of Virology, 9-14. August. 1987. Edmonton, Alberta, Canada, p. 329.

- SALAMON, P. - BECZNER, L. - LEHOCZKY, J. (1985): *Nicotiana megalosiphon* Heurck et Muell.: egy különleges vírusfogékonysággal rendelkező dohányfaj. *Növényvédelem* 21, 412-413.
- SALAMON, P. - BECZNER, L. - LEHOCZKY, J. (1986): Újabb adatok az ebszóló csucsor (*Solanum dulcamara* L.) vírusfogékonyságáról. *Növényvédelem* 22, 354-355.
- SALAMON, P. - BECZNER, L. - LEHOCZKY, J. - BURGÁN, J. - BISZTRAY, GY. - SZIRMAI, J. (1988): Növényvírus génbank létrehozása és feladatai Magyarországon. *Növényvédelem* 24, 329-330.
- SALAMON, P. - BECZNER, L. - MOLNÁR, A. - DEZSÉRY, M. (1980): Diagnosis of virus diseases of pepper (*Capsicum annuum* L.). *Abst. Conf. New Endeavours in Plant Protection*. Budapest, Sept. 2-5. 1980. p. 96
- SALAMON, P. - DEZSÉRY, M. (1983). Vad *Solanaceae* fajokat fertőző növényvírusok Magyarországon. *Növényvédelem* 19, 351.
- SALAMON, P. - KASZTA, M. (2000): Investigations on the transmission of some Tobamoviruses by pollen and seed in pepper (*Capsicum annuum* L.) *Internat. J. Hort. SCI.* 6, 127-131.
- SALAMON, P. - MOLNÁR, A. - BECZNER, L. (1980): *Capsicum annuum* L. : increasing importance of some recently isolated viruses in Hungary. 8th Conf. Czechoslovak Plant Virologists, Bratislava, 1978. pp. 449-456.
- SALAMON, P. - NÉMETHY, ZS. (1988): Identification, some properties of and distribution of odontoglossum ring spot virus in Hungary. *Abst. 5th Internat. Congress of Plant Pathology*. Kyoto, Japan. 1988. August. 20-27. P. 1-35.
- SALAMON, P. - PALKOVICS, L. (2005): Exotic plant viruses appeared in vegetable and ornamental plants in Hungary. 5. Symposium Phytomedizin und Pflanzenschutz im Gartenbau. 19-22 Sept. 2005., Wien, pp. 50-52.
- SALAMON, P. - SÁGI, ZS. (2004): A paprikát (*Capsicum* spp.) fertőző tobamovírusok patotípusai és a tobamovirus rezisztenci allélek közötti összefüggések. 9. Tiszántúli Növényvédelmi Fórum, 2004. október 20-24. pp. 256-263.
- 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. - VENCZEL, G. - ZATYKÓ, L. - SÁGI, ZS. (2001): Studies on the Tobamovirus resistance of the pepper (*Capsicum annuum* L.) cultivar Greygo. *Internat. J. Hort. SCI.* 7, 71-75.
- SARKAR, S. (1986): Tobacco mosaic virus: mutants and strains. In.: *The plant viruses*. Vol. 2. The rod-shaped plant viruses. Eds.: M. H. V. van Regenmortel - Fraenkel-Conrat, H. Plenum Press, N. Y. pp. 59-77.
- SAITO, T. - MESHİ, T. - TAKAMATSU, N. - OKADA, Y. (1987): Coat protein gene sequence of tobacco mosaic virus encodes a host response determinant. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 84, 6074-6077.
- SANFACON, H., COHEN, J. V., ELDER, M., ROCHON, D. M., AND FRENCH, C. J (1993) Characterization of *Solanum dulcamara* yellow fleck-Ob: A tobamovirus that overcomes the N resistance gene. *Phytopathology* 83, 400-404.
- SAWADA, H. - TAKEUCHI, S. - MATSUMOTO, K. - HAMADA, H. - KIBA, A. - MATSUMOTO, M. - WATANABE, Y. - SUZUKI, K. - HIKOCHI, Y. (2005): A new tobamovirus-resistance Gene, Hk, in *Capsicum annuum*. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 74, 289-294.
- SAWADA, H. - TAKEUCHI, S. - HAMADA, H. - KIBA, A. - MATSUMOTO, M. - HIKOCHI, Y. (2004): A new Tobamovirus resistance gene, L^{la}, of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). *J. Japan Soc. Hort. Sci.* 73, 552-557.

- SÁGI, ZS.- SALAMON, P.(1998): Az L⁴ rezisztenciagén beépítése fehér étkezési paprika fajtatípusokba. IV. Növénynevelési Tudományos Napok 1998. január 28-29. Kiadvány p. 117.
- SÁGI, ZS. - SALAMON, P- (1998): Breeding white, sweet pepper hybrids armed with the tobamovirus resistance allele L⁴. Proceeding of the Xth Eucarpia Meeting on Genetics and Breeding on Capsicum and Eggplant, Avignon (France) September 7-11, 1998. P. 173.
- SÁGI, ZS. - MOOR , J. - SALAMON, P. - VENCZEL, G. - ZATYKÓ, L. (2000): Fő irányvonalak az étkezési paprika rezisztencianemesítésében.
- SCHNEIDER, W.L. - ROOSSINCK, M. J. (2000): Evolutionarily related Sindbis-like plant viruses maintain different levels of population diversity in a common host. J. Virol. 74,3130-3134.
- SCHOLTHOF , K. B.G. (2004). Tobacco mosaic virus: A Model System for Plant Biology. Ann. Rev. Phytopathol. 42, 13-34.
- SCHUMANN, K. (1963): Untersuchungen zur Charakterisierung und Identifizierung der Erreger des „Digitalis Mosaik“. I. Das Tabakmosaikvirus (Marmor tabaci H.). Phytopath.Z. 48, 1-28.
- SIEGEL, A. - WILDMAN, S. G. (1954): Some natural relationships among strains of tobacco mosaic virus. Phytopathology 44, 277-282.
- SINGER, S. J. -BALD, J. G. - WILDMAN, S. G. - OWEN, R. D. (1951): The detection and isolation of naturally occurring strains of tobacco mosaic virus by electrophoresis. Science 114,463-465.
- SEIGNER, L. (2006): Informationen zum Ribgrass mosaic tobamovirus. LfL Pflanzenschutz, <http://www.lfl.bayern.de/ips/gartenbau/072256>.
- SMITH, K. M. (1947): Virus diseases of Farm and garden crops. The Worcester Press, Worcester, 1 - 111.
- SOLER, S. - LOPEZ, C. - AND NUEZ, F. (2005): Natural occurrence of viruses in *Lycopersicon* spp. in Ecuador. Plant Dis. 89:1244.
- SOLIS, I. - GARCIA-ARENAL, F. (1990): The complete nucleotide sequence of the genomic RNA of the tobamovirus tobacco mild green mosaic virus. Virology 177, 553-558.
- SOMOS A. (1984): The Paprika. Akadémiai Kiadó, Budapest.
- SOMOS, A. - KORÓDI, I. - TÚRI, L. (1980): Zöldségajtatás. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest.
- SOLYMOSY, F. (1958): Tanulmány a fűszerpaprika újhitűségének etiológiájáról és patológiájáról. Kandidátusi Értekezés, Budapest 1-180.
- SONG, Y.S. - MIN, J. S. - HONG, J.S. - RHIE, M. J. - KIM, M. J. - RYU, K. H. (2006): Molecular evidence supporting the confirmation of Maracuja mosaic virus as a species of the genus Tobamovirus and production of an infectious cDNA transcript. Arch. Virol. 2006. Jul. 27. (PubMed. Online ahead publ.)
- SOWELL, G. (1982): Resistance to tobacco mosaic virus in pepper introductions. Plant Disease 66, 1062-1064.
- SPOONER, D. M, -PERALTA, I. E - KNAPP, S. (2005) Comparison of AFLPs to other markers for phylogenetic inference in wild tomatoes [*Solanum* L. section *Lycopersicon* (Mill.) Wettst.]. Taxon 54: 43-61.
- STOIMENOVA, E. (1995): Investigations on the strain variability of Tobamoviruses and Cucumoviruses isolated from Bulgaria. Journal of Culture Collections 1, 46-52.
- STOIMENOVA, E. - YORDANOVA, A. (2003). Tobamovirus P101 isolated from pepper in Bulgaria. Biotechnol. And Biotechnol. Eq. 19 (Virology Supplement), 30-35

- SULZINSKI, M. A. - GABARD, K. A. - PALUKAITIS, P. - ZAITLIN, M. (1985). Replication of tobacco mosaic virus. VIII. Characterization of a third subgenomic TMV RNA. *Virology* 145, 132-140
- SZARKA, J. - SÁRDI, É. - SZARKA, E. - CSILLÉRY, G. (2002): General defense system in the plant kingdom III. *Internat. J. Hort. Sci.* 8, 45-54.
- SZIRMAI, J. (1941): A fűszerpaprika leromlását megindító újhitűségnek nevezett vírusbetegségről. *Növényegészségügyi Évkönyv* 1, 109-133.
- SZIRMAI, J. (1970): A fűszerpaprika „újhitűség” betegségének leküzdése rezisztencianemesítéssel. *Növénytermelés* 19, 39-48.
- SZIRMAI, J. (1952): Vírusok és vírusbetegségek. In: Ubrizsy, G. (szerk): *Növénykórtan*. Akadémiai Kiadó Budapest 1952. pp. 193-232.
- SZITTYA, GY. - SALAMON, P. - BURGÁN, J. (2000): The complete nucleotide sequence and synthesis of infectious RNA of genonic and defective interfering RNAs of TBSV-P. *Virus Res.* 69, 131-136.
- TAKEUCHI, S. -HIKICHI, Y. -KAWADA, Y. -OKUNO, T. (1999): Direct Immunostaining Assay, a New Simplified Technique for Detection of Tobamoviruses from Seeds of Green Pepper (*Capsicum annuum* L.). 65-189.
- TALIANSKI, M. - ARANDA, M. A. - GARCIA-ARENAL, F. (1994): Differential invasion by Tobamoviruses of *Nicotiana megalosiphon* following the hypersensitive response. *Phytopathology* 84, 812-815.
- TANZI, M.- BETTI, L. - DE JAGER, C. P.- CANOVA, A. (1986): Isolation of an attenuated virus mutant obtained from a TMV pepper strain after treatment with nitrous acid. *Phytopath. Medit.* 25:119-124.
- TENLLADO, F. - GARCIA-LUQUE, I.- SERRA, M. T. -DIAZ-RUIZ, J. R. (1994): Rapid detection and differentiation of tobamoviruses infecting L-resistant genotypes of pepper by RT-PCR and restriction analysis. *J. Virol Methods* 47, 165-174.
- TOLOU, H. - NICOLI, J. - CHASTEL, C. (2002): Débat sur la taxonomie virale. De la nécessité d'une nomenclature. *Virologie* 6, 234-237.
- TÓBIÁS, I. - MOLNÁR, A. (1978): Magyarországon paprikáról izolált vírusok magátvitelének vizsgálata paprikán. *Növényvédelem* 14, 385-389.
- TÓBIÁS, I. - MOLNÁR, A. - SALAMON, P. - BECZNER, L. (1978): A paprikapatogén vírusok hatása néhány étkezési paprikafajtára. *Kertgazdaság* 10, 51-60.
- TÓBIÁS, I. - RAST, A. TH. B. - MAAT, D. Z. (1982): Tobamoviruses on pepper, eggplant and tobacco: comparative host reactions and serological relationships. *Neth. J. Plant Pathol* 88, 257-268.
- TÓTH, E. (2004): A növényvírusok elnevezéséről. *Magyar Orvosi Nyelv* 2, 23-24.
- TUSSEN, P. - KURSTAK, E. (1984): Highly efficient and simple methods for preparing peroxidase and active peroxidase-antibody conjugates for enzyme immunoassays. *Annals of Biochemistry* 136, 451-457.
- YAMAZAKI, E. - GOTO, T. - SUDA, Y. - MURASE, S. - IIZUKA, N. (1986): Biological Control of Sweet Pepper Mosaic Disease Caused by Pepper Strain of Tobacco Mosaic Virus, using Application of an Attenuated Strain TMV-Pa18. *The Society of Plant Protection of North Japan* 37, 71-74.
- YARWOOD, C. E. (1979): Host passage effects with plant viruses. *Adv. Virus Res.* 25, 169- 190.
- VALLEAU, W. D. - JOHNSON, E. M. (1943): An outbreak of *Plantago* virus in burley tobacco. *Phytopathology* 33, 219-228.
- VAN DER PLANK, J. E. (1978): Genetic and molecular basis of plant pathogenesis. Springer Verlag, Berlin.
- VAN SLOGTEREN, D. H. M. (1955): Serological micro-reactions with plant viruses under paraffin oil. *Proc. 2nd Conf. On Potato Virus Diseases*. Lisse-Wageningen, pp. 51-54.

- VAN REGENMORTEL, M. H. V. (1975): Antigenic relationships between strains of tobacco mosaic virus. *Virology* 64, 415-420.
- VAN REGENMORTEL, M. H. V. (1989): Applying the species concept to plant viruses. *Arch. Virol.* 104, 1-7.
- VAN REGENMORTEL, M. H. V. (1990): Virus species, a much overlooked but essential concept in virus classification. *Intervirology* 31, 241-254.
- VAN REGENMORTEL, D.H.M. - FAQUET, C. M. - BISHOP, D. H. L. - CARLSTESN, E. B. - ESTES, M. K. - LEMON, S. M. - MANILOFF, J. - MAYO, M. A. - MCGEOCH, D. J. - PRINGLE, C. R. - WINKNER, R. B. (2000a): Virus taxonomy. Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Acad.Press, San Diego 1-1162.
- VAN REGENMORTEL, M. H. M. - FRAENKEL-CONRAT, H. (1986): *The Plant Viruses 2. The rod shaped plant viruses.* Plenum Press, New York.
- VANREGENMORTEL, M. H. V. - MAHY, B. W. J. (2004): Emerging issues in virus taxonomy. *Emerg. Infect. Dis.* 10, 8-13.
- VAN REGENMORTEL, M. H. V. - MAYO, M. A. - FAUQUET, C. M. - MANILOFF, J. (2000b): Virus nomenclature: consensus versus chaos. *Arch Virol* 145/10
- VELASCO, L.- JANSSEN, D.- RUIZ-GARCIA, L. - SEGUNDO, E. - CUADRADO, I. M. (2002): The complete nucleotide sequence and development of a differential detection assay for a Pepper mild mottle virus (PMMoV) isolate that overcomes L3 resistance in pepper. *Journal Virological Methods* 106:135-140.
- VELICH, I. ed. (1982): *Válság vagy egyensúly? Gondok és feladatok a rezisztencianemesítésben.* Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, 1-425.
- VERHOEVEN, J. TH. J. - STIJGER, C. M. - WILLEMEN, T. M. - ROENHORST, J. W (1998): Pepper mild mottle virus infections in sweet pepper varieties resistant to the pathotypes P 1.2 and P 1.2.3 Arbeitskreis Viruskrankheiten der Pflanzen. Tagung 1998. November 12-13. Wageningen, Postersektion. 7.(DPG Web) Tagung 1998
- WEBER, P.V. V. (1951): Inheritance of a necrotic-lesion reaction to a mild strain of tobacco mosaic virus. *Phytopathology* 41, 593-609
- WELSH, M. F. (1961): Terminology of plant virus diseases. *Can. J. Bot.* 39, 1773-1780.
- WETTER, C. - DORE, I. - BERNARD, M. (1987): Bell pepper mottle virus, a distinct tobamovirus infecting pepper. *J. Phytopathology* 119, 333-344.
- WETTER, C. (1984): Serological identification of four tobamoviruses infecting pepper. *Plant Disease* 68, 597-599.
- WETTER, C. (1986): Tobacco mild green mosaic virus. In: *The plant viruses. Vol. 2. The rod-shaped plant viruses.* Eds.: M. H. V. van Regenmortel - Fraenkel-Conrat, H. Plenum Press, N. Y. pp. 205-219.
- WETTER, C. (1986) Ribgrass mosaic virus. In *The Plant Viruses Volume 2* (M. H. V. van Regenmortel and H. Fraenkel-Conrat, eds). New York: Plenum Press, pp. 221-232.
- WETTER, C. - CONTI, M. - ALTSCHUH, D. - TABILLON, R. - VAN REGENMORTEL, M. H. V. (1984): Pepper mild mottle virus, a Tobamovirus infecting pepper cultivars in Sicily. *Phytopathology* 74, 405-410.
- WILKINSON, L. (1976): The development of the virus concept as reflected in corpora of studies on individual pathogens. 3. Lessons of the olant viruses - Tobacco mosaic virus. *Med Hist.* 20: 111-134.
- WHITHAM, S. - McCORMICK, S. - BAKER, B. (1996): The N-gene of tobacco confers resistance to tobacco mosaic virus in transgenic tomato. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 93, 8776-8781
- WREN, J. D. - ROOSSINCK, M. J. - NELSON R. S. - SCHEETS, K. - PALMER, M. W. - MELCHER, U. (2006): Plant Virus Biodiversity and Ecology. *PLoS Biol* 4(3): e80.

- ZAITLIN, M. (2000): Tobacco mosaic virus. CMI/AAB Description of Plant Viruses. No. 370. pp. 1-5.
- ZAITLIN, M. - PALUKAITIS, P. (2000): Advances in understanding plant-viruses and virus diseases. Annual Review of Phytopathology, 38, 117-143.
- ZATYKÓ, L. (1974): Selection problems in the breeding of pepper varieties for tobacco mosaic virus resistance. Genetics and breeding of Capsicum. Proc. Meeting held in Budapest, July 1-4. 1974. EUCARPIA. Budapest. Kertészeti Kut. Int. 173-180.
- ZATYKÓ, L. ED. (1978): A helyrevezetéses étkezési paprika termesztése. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, 1-28.
- ZATYKÓ, L. (1980): A dohány mozaik vírus (TMV) rezisztens paprikafajták viselkedése különböző körülmények között bekövetkező fertőzés hatására. Zöldségtermesztési Kutató Intézet Bulletinje 14, 5-11.
- ZATYKÓ, L. (1990): A „Greygo” zárt bibepontú új paradicsompaprika fajta. Zöldségtermesztési Kut. Int. Bull., Kecskemét 23, 99-101.
- ZATYKÓ, L. (2006): Pepper (*Capsicum annuum* L.) breeding methods at the turn of the century. Acta Agronomica Hungarica, 54 179-202.
- ZATYKÓ, L. - MOOR, A. (1995). New results of pepper breeding in Hungary. IXth Eucarpia Meeting on Genetics and Breeding on Capsicum and Eggplant, Budapest (Hungary), August 21-25, 1995: 1-4.
- ZATYKÓ, L. - MOOR, J. - SALAMON, P. - SÁGI, ZS. - VENCZEL, G. (1999): Rezisztenciák az új paprikafajtákban. IV. Magyar Genetikai Kongresszus 1999. április 11-14. Program összefoglalók, pp. 165-166.
- ZHANG, T. - BREITBART, M. - LEE, W. H. et al. (2006): RNA Viral Community in Human Feces: Prevalence of Plant Pathogenic Viruses. PLoS Biol 4(1): e3).