

FOKHAGYMÁT FERTŐZŐ *POTYVIRUS* ÉS *CARLAVIRUS* FAJOKKAL VÉGZETT MESTERSÉGES FERTŐZÉSI KÍSÉRLETEK

Koczor Ádám^{1} - Ádám János² - Palkovics László³*

¹MATE Növényvédelmi Intézet, Növénykörtani Tanszék

²MATE Kertészettudományi Intézet, Tungsram Vertikális Farm Kihelyezett

Tanszék

³SZE Növénytudományi Tanszék

*koczor.adam.andras@phd.uni-szie.hu

Összefoglalás

Munkánk során fokhagyma és póréhagyma növények mesterséges fertőzését, inokulálását végeztük *Potyvirus* és *Carlavirus* izolátumokkal. Célunk a fertőzési viszonyok vizsgálata volt, a potyvírusok esetében gazdanövény preferenciát, míg a carlavírusok esetében a nemzetségbe tartozó vírusfajok kevert fertőzésének lehetőségét vizsgáltuk. A kísérletek során összesen 36 fokhagymanövény fertőzését végeztük el és értékeltük. A potyvírusok átvitele póréhagymán kis mértékben, míg fokhagymán nagymértékben sikeres volt. A két carlavírus egyidejű jelenlétét nem tudtuk kimutatni az inokulált növényekben.

Kulcsszavak: fokhagyma, potyvírus, carlavírus, mesterséges fertőzés

Abstract

In our survey, garlic and leek plants were tested by artificial inoculation of *Potyvirus* and *Carlavirus* isolates. Our aim was to investigate the infectional conditions, studying host plant preference for Potyviruses and the possibility of mixed infection of *Carlavirus* species. In total, 36 garlic plants were infected, then the results were evaluated. Transmission of potyviruses was low on leeks and high on garlic. The simultaneous presence of the two carlaviruses could not be detected in the inoculated plants.

Keywords: garlic, potyvirus, carlavirus, artificial inoculation

Bevezetés

A fokhagymát fertőző vírusok közül a legkomolyabb gazdasági kártétellel fenyegetnek a *Potyvirus* nemzetség (*Leek yellow stripe virus* (LYSV), *Onion yellow dwarf virus* (OYDV), *Shallot yellow stripe virus* (SYSV)) és a *Carlavirus* nemzetség (*Garlic common latent virus* (GarCLV), *Shallot latent virus* (SLV)) fokhagymát fertőző fajai (Diekmann, 1997). Három francia fokhagymafajta vizsgálata során a kutatók arra a következtetésre jutottak, hogy az OYDV és a LYSV egyidejű fertőzése 80-91%-kal (Lot és mtsai., 1998), míg a poty-, carla- és allexivírusok keverékével való mesterségesen fertőzés 74%-kal volt képes csökkenteni a fokhagyma fejek átlagos tömegét (Lunello és mtsai., 2007). Kutatásunk során célul tűztük ki a két vírusnemzetség vírusátviteli tulajdonságainak jellemzését magyarországi eredetű tesznövények és vírusizolátumok felhasználásával.

Anyag és módszer

Kutatásunkat a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Növényvédelmi Intézet, Budai Campus, Növénykörtani Tanszék laboratóriumában és annak üvegházában végeztük.

A potyvírussal történő mesterséges fertőzéshez nyolc darab *Allium porrum* 'Lincoln' vírusmentes póréhagyma magot (PotyAP 1-8), valamint nyolc darab *Allium sativum* 'Makói tavaszi' vírusmentes, certifikált fokhagyma vetőgerezdet (PotyAS 1-8) hajtottunk. A mesterséges fertőzéshez olyan fokhagyma levélszövetet alkalmaztunk, amelynek potyvírus fertőzöttségéről korábban megbizonyosodtunk.

A carlavírusokkal történő mesterséges fertőzéshez húsz darab *Allium sativum* 'Makói tavaszi' vírusmentes, certifikált fokhagyma vetőgerezdeket (CarlaAS 1-20) hajtottunk. Célunk a nemzetség fajai közötti kevert fertőzés kialakítása volt, ezért a mesterséges inokulációhoz két különböző fokhagymanövény levélszövetét alkalmaztuk. Az egyik minta GarCLV fertőzöttségét, míg a másik minta SLV fertőzöttségét korábbi vizsgálatainkban megerősítettük. A mesterséges fertőzéshez inokuláló puffert alkalmaztunk (Lot és mtsai., 1998).

A dörzsmozsárban homogenizált fertőzött levélszövetet és az inokuláló puffert a mozsártörővel a levél felületére kentük celit abrazívum jelenlétében. A fertőzéseket minden esetben, vírusról külön külön levélen végeztük. Az inokulálást követő 14. napon vizsgáltuk a fertőzés alakulását a tesztnövényeken.

Az összribonukleinsav kivonáshoz a Spektrum Plant Total RNA Kit-et (Sigma-Aldrich) és a GeneJET Plant RNA Purification Mini Kit-et (ThermoFisher Scientific) használtuk a gyártó utasításait alapul véve. A cDNS szintézist követően PCR eljárással vizsgáltuk a minták vírusterheltségét. A *Potyvirus* és *Carlavirus* nemzetségekbe tartozó vírusok fajspecifikus, nukleinsav alapú meghatározásához a szenz primereket olyan nemzetségen belül konzervált, de a fajok között variábilis elhelyezkedésű genomi régiókra terveztük, melyek a PCR reakcióban használt M4 antiszenz primerrel (Chen és mtsai., 2001) együtt alkalmazva különböző hosszúságú PCR termékeket sokszorozítottak.

A saját fejlesztésű szenz primerek működőképességét korábbi vizsgálatokban a PCR termék szekvenálási analízisével is megerősítettük, az indítószekvenciák nukleotid sorrendje jelenleg publikáció alatt áll.

Eredmények

A mesterséges potyvírus fertőzést követő PCR vizsgálat termékének agaróz gélelektroforézis gélképét vizsgálva látható, hogy az inokulált póréhagyma minták 25%-ában alakult ki a fertőzés (PotyAP 5, 7), a többi esetben a fertőzés kialakulása nem igazolható. Az inokulált fokhagymanövények esetében a fertőzés sikerességét a minták 87,5%-ában tudtuk igazolni, egy esetben (PotyAS 1) a fertőzés nem történt meg. A potyvírusokra jellemző PCR termék hossz 1000-1200 bp tartományban látható a gélképeken. Pozitív kontrollként az inokuláláshoz is használt, fertőzött fokhagyma levélszöveit használtuk (1. táblázat).

A carlavírus fajokkal inokulált fokhagyma növények esetében a fertőzés a minták 55%-ában alakult ki (CarlaAS 3, 5, 6, 7, 8, 11, 13, 15, 17, 18, 20). A sikeresen fertőzött minták 54,5%-ában a GarCLV fertőzés alakult ki (CarlaAS 3, 5, 7, 11, 15, 20), míg 45,5%-ában az SLV fertőzés (CarlaAS 6, 8, 13, 17, 18). Kevert fertőzést a provokációs fertőzési kísérletünkkel nem tudunk létrehozni. A GarCLV vírusfajra jellemző PCR termék 800 bp, míg az SLV esetében 700 bp tartományban látható. Pozitív kontrollként az inokuláláskor is használt fokhagyma mintákat alkalmaztuk (2. táblázat).

1. táblázat A *PotyAP1-8* és a *PotyAS1-8* sorozat mesterséges fertőzésének eredményei. M = Marker, - ctrl = negatív kontroll, + ctrl = pozitív kontroll, bp = bázispár

Inokulált minta neve	Fertőzés sikeressége	Gépképek
PotyAP 1	×	
PotyAP 2	×	
PotyAP 3	×	
PotyAP 4	×	
PotyAP 5	+	
PotyAP 6	×	
PotyAP 7	+	
PotyAP 8	×	
PotyAS 1	×	
PotyAS 2	+	
PotyAS 3	+	
PotyAS 4	+	
PotyAS 5	+	
PotyAS 6	+	
PotyAS 7	+	
PotyAS 8	+	

2. táblázat A CarlaAS1-20 sorozat mesterséges fertőzésének eredményei. M = Marker, - ctrl = negatív kontroll, + ctrl = pozitív kontroll, bp = bázispár

Inokulált minta neve	Fertőzés sikeressége	Gépképek
CarlaAS 1	×	
CarlaAS 2	×	
CarlaAS 3	GarCLV	
CarlaAS 4	×	
CarlaAS 5	GarCLV	
CarlaAS 6	SLV	
CarlaAS 7	GarCLV	
CarlaAS 8	SLV	
CarlaAS 9	×	
CarlaAS 10	×	
CarlaAS 11	GarCLV	
CarlaAS 12	×	
CarlaAS 13	SLV	
CarlaAS 14	×	
CarlaAS 15	GarCLV	
CarlaAS 16	×	
CarlaAS 17	SLV	
CarlaAS 18	SLV	
CarlaAS 19	×	
CarlaAS 20	GarCLV	

Eredmények értékelése

A fokhagymát fertőző potyvírusok gazdanövény preferenciájának vizsgálata alapján az általunk azonosított hazai izolátum látszólag nem, vagy csak kis mértékben volt képes fertőzni a póréhagymát, míg a fokhagymát jelentős mértékben fertőzte. A szakirodalom említést tesz a LYSV-G és az OYDV-G fokhagymát fertőző vírustörzseiről (Lot és mtsai., 1998). Az izolátum vírusátviteli tulajdonságainak további jellemzése a jövőben a rokonsági viszonyok részletesebb feltárását teszik szükségessé.

A carlavírusok esetében nem sikerült mesterséges úton kevert fertőzést létrehozni. A szakirodalom szerint a két vírus nem volt egyidejűleg jelen a gazdanövényben (Dovas és Vovlas 2003), más esetben, viszont sikerült a két fajt azonos gazdanövényből kimutatni (Pauzi és mtsai., 2018). További vizsgálatok szükségesek a kevert fertőzések azonosításához, ugyanis a szakirodalom szerint a nemzetség fajai nem okozhatnak egymással szembeni keresztvédettséget (King és mtsai., 2011).

Irodalom

- Diekmann, M. 1997. *Allium* spp. Bioversity International, Prague. 19-35.
- Lot, H., Chovelon, V., Souche, S. and Delecolle, B. 1998. Effects of onion yellow dwarf and leek yellow stripe viruses on symptomatology and yield loss of three French garlic cultivars. *Plant Disease* 82(12). 1381-1385.
- Lunello, P., Di Rienzo, J. and Conci, V. C. 2007. Yield loss in garlic caused by Leek yellow stripe virus Argentinean isolate. *Plant Disease* 91(2). 153-158.
- Chen, J., Chen, J. and Adams, M. J. 2001. A universal PCR primer to detect members of the Potyviridae and its use to examine the taxonomic status of several members of the family. *Archives of Virology* 146(4). 757-766.

Dovas, C. I. and Vovlas, C. 2003. Viruses infecting *Allium spp.* in southern Italy. *Journal of Plant Pathology* 85(2). 135.

Pauzi, Y., Lestari, S. and Hidayat, S. 2018. Variations of Garlic Common Latent Virus and Shallot Latent Virus Concentration on Shallot and Garlic. p: 012045. *In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. IOP Publishing,

King, A. M., Lefkowitz, E., Adams, M. J. and Carstens, E. B. 2011. Virus taxonomy: IX report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Elsevier Academic Press, S.I. 903-907, 924-927, 1072-1079.