

Virológia vizsgálatok étkezési és fűszerpaprikán előforduló uborka mozaik vírussal

Tóbiás István¹, Almási Asztéria¹, Csilléry Gábor², Timár Zoltán³, Nemes Katalin¹ és Salánki Katalin¹

¹MTA Agrártudományi Kutatóközpont Növényvédelmi Intézete, 1022 Budapest, Herman Ottó u. 15.

²Budakert Kft., 1114 Budapest, Bartók Béla út 41.

³Univer Product Zrt., 6000 Kecskemét, Szolnoki út 35.

Összefoglalás

Az idei évben jelentős vírusfertőzöttséget tapasztaltunk számos paprikatermesztő körzetben. A hajtásból és a szabadföldről származó minták uborka mozaik vírus fertőzést mutattak. A korábbi tapasztalattól (a CMV II csoportba tartozó izolátumok domináltak) eltérően c. egyforma arányban fordultak elő a CMV I. és II. csoportjába tartozó izolátumok. Vizsgálatunk során megállapítottuk, hogy egy újabban termesztésbe kerülő CMV rezisztens fajta és az ismert, de rezisztenciával nem rendelkező étkezési fajta között nem találtunk lényegi különbséget a CMV tolerancia tekintetében sem a tünetek megjelenésében, sem a víruskoncentrációban. Azt tapasztaltuk, hogy a CMV rezisztens fajtát idősebb korban fertőzve a növényben a vírus lassabban szisztemizálódik. Érdekes tapasztalat volt, hogy a tobamovírus rezisztencia gént tartalmazó fűszerpaprika fajták érzékenyebbek voltak az uborka mozaik vírus fertőzésével szemben, mint a rezisztencia gént nem tartalmazó fajták.

Kulcsszavak: uborka mozaik vírus fertőzöttség, paprikafajták, CMV I és II. típus, tolerancia

Abstract

In 2016 severe virus infection was observed in several pepper growing district. From virus infected samples originated from greenhouse and field *Cucumber mosaic virus* was detected. According to our earlier studies (late 70 and early 80 years) isolates belonged to CMV II. group, but this year CMV isolates equally belonged to CMV I and II. groups. CMV tolerance was studied in two pepper varieties, but no substantial differences were observed in symptom

appearance and severity and virus concentration, although in one of the variety infected in later developmental stage the virus movement was delayed. Interesting observation was that spicy pepper varieties containing tobamovirus resistance gene were more susceptible to CMV infection than pepper varieties without tobamovirus resistance gene.

Keywords: *Cucumber mosaic virus* infection, pepper varieties, CMV I and II groups, tolerance

Bevezetés

Az étkezési paprika hazánk egyik legfontosabb zöldségnövénye, melynek gazdaságos termesztését sok esetben vírusbetegségek akadályozzák (Tóbiás és mtsai 1978, Tóbiás és Molnár 1981 és 1983). A szabadföldi termesztésben a legnagyobb gondot az uborka mozaik vírus (*Cucumber mosaic virus*, CMV) és a burgonya Y vírus (*Potato virus Y*, PVY) jelentették, addig hajtásban a tobamovírusok [(dohány mozaik vírus (*Tobacco mosaic virus*, TMV, paprika enyhe tarkulás vírus (*Pepper mild mottle virus*, PMMV) Óbuda paprika vírus, (*Obuda pepper virus*, ObPV), dohány enyhe zöld mozaik vírus (*Tobacco mild green mosaic virus*, TMGMV)] és a paradicsom foltos hervadás vírus (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV) okozzák (Tóbiás és mtsai 1982a,b, Tóbiás 1984, Csilléry és Tóbiás 1983, Csilléry és mtsai 1995, Gáborjányi és mtsai 1995, Nemes és mtsai 2015). Az idei évben számos paprikatermesztő körzetben jelentős uborka mozaik vírus fertőzöttséget figyeltünk meg hajtatási és szabadföldi körülmények között. A korábbi években végzett virológiai vizsgálatok szerint paprikán szinte kizárólagosan a CMV II. csoportba tartozó izolátumok fordultak elő 1970-es évek végén és a 80-as évek elején (Tóbiás et al. 1982a, Tóbiás 1984). A jelenlegi helyzet felmérése céljából hajtatási és szabadföldi paprikáról gyűjtöttünk CMV fertőzés gyanús mintákat víruscsoport meghatározás céljából. Összehasonlítottuk egy újabban forgalomba kerülő CMV rezisztens fajta és kontrollként egy ismert, de rezisztenciával nem rendelkező étkezési fajtát CMV tolerancia szempontjából. Megvizsgáltuk továbbá a különböző tobamovírus rezisztenciával rendelkező fűszerpaprikafajtákat CMV fogékonyság szempontjából.

Anyag és módszer

Vírusűnetek, tesztnövény vizsgálatok

A dél-alföldi paprikatermesztő régióban üvegházban, őszi ültetésű, hosszú kultúrában termesztett étkezési paprikafajtán gyenge növekedésgátlást és alig látható mozaikos

levéltüneteket figyeltünk meg. Szabadföldön termesztett TMV rezisztens és fogékony fűszerpaprika fajtákon tünettan vizsgálatokat végeztünk Túrkeve és Zákányszék körzetében és több helyről gyűjtöttünk reprezentatív mintákat. A virológiai vizsgálatokban ELISA szerológiai módszerrel és tesztnövény módszerrel határoztuk meg a kórokozókat. Ez utóbbihoz *Nicotiana tabacum* cv. Xanthi-nc, *N. benthamiana*, *Capsicum annuum* cv. Brendon F1, cv. Fehérözön növényeket használtunk.

CMV-tolerancia vizsgálatok

A CMV rezisztens és fogékony paprikafajtákat különböző fejlettségi állapotban (4-6 lomblevelés, 12-14 lomblevelés) inokuláltuk uborka mozaik vírussal. Vizuális értékelés mellett ELISA módszerrel mértük a víruskoncentrációt 4 héttel az inokulációt követően. A koncentráció méréshez Loewe CMV kitet (Cat. No.07108) használtunk az előírás szerint.

RT-PCR vizsgálatok

Az össznukleinsav kivonást a fertőzött növéymintákból White és Kaper módszerével (1989) végeztük. Az RT-PCR-hez a két CMV csoport elválasztására alkalmas indító szekvencia szakaszokat használtunk. Az oligonukleotidok a következők voltak:

1. alcsoport CMV-RS RNS3, 1374forw 5'-TTCGCGACTTAATAAGACGTTAGCAGC-3'
CMV SG. I reverse 5'-GCGGATCCTGGTCTCCTTTTGGAGGCC-3'
2. alcsoport Trk3-1274 forw 5'-CGTCGTCGCCCCGCGTAGAGG-3'
Trk 3' PstI rev 5'-GGCTGCAGTGGTCTCCTTATGGAGAACCTGTGG-3'

A PCR termékeket High Pure PCR Purification Kittel (Roche) tisztítottuk, majd meghatároztuk a nukleinsav sorrendjüket. A kísérleteinkben kapott és a Génbankból származó cucumovírus szekvenciákat az NCBI Blast program segítségével hasonlítottuk össze.

Eredmények

2016 áprilisban Szentes környéki üvegházi hosszúkultúrák (őszi kiültetés) paprikán észleltünk nagyon enyhe mozaik tüneteket, melyeknél a bogyók mérete enyhén csökkent. Tesztnövény módszerrel és RT-PCR technikával az uborka mozaik vírust mutattuk ki, majd a szekvencia meghatározás alapján ezt az izolátumot a CMV II. csoportjába soroltuk be. Ezzel a CMV izolátummal inokuláltunk egy CMV rezisztens fajtát és kontrollként egy CMV fogékony paprikafajtát. A vizsgálatok során vizuálisan értékeltük a növényeket, valamint ELISA módszerrel megmértük a víruskoncentrációt, melynek eredményeit az 1. táblázat tartalmazza. A fertőzött növényeken nagyon enyhe mozaik tünetek voltak megfigyelhetők, de különbséget nem találtunk a két paprikafajta között sem a tünetek megjelenésében sem annak erősségében.

1. táblázat. A paprika levélmintákból ELISA módszerrel mért OD értékek 1 hónappal az inokulációt követően. Az egészséges paprikánál mért OD 0,006 és 0,008 volt, míg a CMV fertőzött dohány leveléből kapott OD érték 0,296 és 0,384 volt.

Fajta	Fejlődési állapot	Mintavételi hely	1. ismétlés	2. ismétlés
CMV rezisztens étkezési paprika fajta	4-6 lomblevél	Csúcsi levelek	0,224	0,298
		Középső levélszint	0,161	0,160
	12-14 lomblevél	Csúcsi levelek	0,072	0,097
		Középső levélszint	0,882	0,613
CMV fogékony étkezési paprika fajta	4-6 lomblevél	Csúcsi levelek	0,089	0,078
		Középső levélszint	0,316	0,506
	12-14 lomblevél	Csúcsi levelek	0,325	0,221
		Középső levélszint	0,722	0,535

Túrkeve és Zákányszék körzeteiben TMV rezisztens (*L3*), *Xanthomonas* baktérium rezisztens (*Bs2*), valamint TMV és *Xanthomonas* baktérium rezisztenciát együttesen tartalmazó (*L3*, *Bs2*) fűszerpaprika fajtákat értékeltünk. Az *L3* rezisztencia gént tartalmazó fajtáknál 50-70 %-os vírusfertőzöttséget állapítottunk meg, míg a TMV fogékony (*L+*), de *Bs2* rezisztencia gént tartalmazó fajtánál csak elvétve találtunk vírusfertőzés tüneteit mutató növényeket. Amint ismert az uborka mozaik vírus fertőzés jellemző tünetei a mozaikos elkeskenyedő levél, rövid ízközök, növekedésgátlás és az apró bogycsokrok. Az ELISA vizsgálatok minden esetben a CMV jelenlétét bizonyították. A begyűjtött minta RT-PCR vizsgálata szerint a CMV-I csoportba tartozik.

Megvitatás

A korábban végzett vizsgálatok szerint paprikát jellemzően a CMV II csoportjába tartozó izolátumok fertőzték, addig az ideai vizsgálatok alapján a CMV I csoportba tartozó izolátumok előfordulása is gyakori volt. További vizsgálatokat igényel, hogy ez a változás mivel magyarázható.

A CMV rezisztens és CMV fogékony paprikafajták tolerancia vizsgálata szerint a tünetek kialakulásában nem találtunk különbséget, és megállapítottuk, hogy lényeges eltérés nem volt a víruskoncentrációban sem. A CMV rezisztens fajta az idősebb növények fertőzésénél csúcsi leveleiből kimutatható alacsony víruskoncentráció arra utal, hogy a vírus később szisztemizálódik, de annak mértéke (0,882 és 0,613) később nem különbözik a CMV fogékony (0,722 és 0,535) fajtánál mért értéktől.

Érdekes tapasztalat volt, hogy az *L3* rezisztencia gént tartalmazó fűszerpaprika fajták szabadföldön érzékenyebbnek bizonyultak a CMV fertőzéssel szemben (50-70 %-os fertőzöttség), mint a tobamovírus elleni rezisztencia gént nem tartalmazó fajta (sporadikus fertőzés).

Hivatkozások

- Csilléry G., Tóbiás I. 1983. Magyar és külföldi paprikafajták fenológiai jellemzése és a természetes vírusfertőzöttségének mértéke Nagyszénáson. *Kertgazdaság*, 17: 79-87.
- Csilléry G., Tóbiás I., Ruskó J. 1983. New pepper strains of tomato mosaic virus. *Acta Phytopath. Acad. Sci. Hung.* 18: 195- 200.
- Csilléry G., Gáborjányi R., Tóbiás I., Jenser G. 1995. Új paprika és paradicsom kórokozó. Paradicsom foltos hervadás vírus. *Kertészet és Szőlészet*, 29:8-9.
- Gáborjányi R., Csilléry G., Tóbiás I., Jenser G. 1995. Tomato spotted wilt virus: A new threat for pepper production in Hungary. 10th Eucarpia Meeting, Budapest, pp. 159-160
- Nemes K., Csilléry G., Almási A., Salánki K. Tóbiás I. 2016: Virologiai vizsgálatok a Dél-alföldi régióban termesztett paprika fajtákon. A dohány enyhe tarkulás mozaik vírus (*Tobacco mild green mosaic virus*, TMGMV) molekuláris azonosítása. *Georgikon for Agriculture*, 20: 27-33.
- Tóbiás I., Molnár A., Salamon P., Beczner L. 1978. A paprika-patogén vírusok hatása néhány étkezési paprikafajtára. *Növényvédelem*, 10: 51-60.
- Tóbiás I., Molnár A. 1981. A szabadföldi paprika vírusai. *Kertészeti Egyetem Zöldségtermesztési Intézet Tanácsadója*, 9: 26-27.
- Tóbiás I., Maat, D.Z., Huttinga H. 1982. Two Hungarian strains of cucumber mosaic virus isolated from sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) and melon (*Cucumis melo* L.) : identification and antiserum preparation. *Neth. J. Pl. Path.* 88: 171-183.
- Tóbiás, I., Rast, A. Th. B, Maat D.Z. 1982. Tobamoviruses from pepper and eggplant: a comparison with tobacco mosaic virus (TMV) by test plants and serology. *Neth. J. Pl. Path.* 88:257-268.
- Tóbiás I., Csilléry G. 1982. New strains of tomato mosaic virus occurred in resistant varieties of pepper (*Capsicum annuum* L.). *Capsicum Newsletter*, No. 1: 46.
- Tóbiás I., Molnár A. 1983. Az étkezési paprikán előforduló vírustünetek és víruskórokozók Magyarországon. *Kertgazdaság*, 15: 49-55.
- Tóbiás I., Csilléry G. 1983. Virus diseases of pepper in greenhouse and plastic tunnel in Hungary. *Eucarpia Capsicum and Eggplants*, Vth Meeting, Plovdiv, 4-7. July. pp. 148-150.

Tóbiás I. 1984. Az étkezési paprikán előforduló két legfontosabb víruskórokozó jellemzése és csoportosítása. Növ. Tud. Napok. Budapest, p. 65.

White J.L., Kaper J.M. 1989. A simple method for detection of viral satellite RNAs in small tissue samples. J. Virol. Meth. 23:83–94.