

0/15437

DOKTORI ÉRTEKEZÉS
(TÉZISEK)

1993. I. 21. j.

**A gabonafélék vírusbetegségei
gabonavírusok**

Írta

DR. GÁBORJÁNYI RICHARD

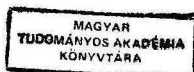
Budapest, 1992

Doktori értekezés
(Tézisek)

A GABONAFÉLÉK VÍRUSBETEGSÉGEI - GABONAVÍRUSOK

Dr. Gáborjányi Richard

Budapest, 1992



I. A GABONAVÍRUS KUTATÁS HEYZETE ÉS IRÁNYAI

A gabonafélék vírusbetegségeinek kutatása és a kórokozók tulajdonságainak vizsgálata Magyarországon hosszú ideig elhanyagolt volt. Csupán két kórokozó, az árpa sárga törpülés vírus (barley yellow dwarf virus, BYDV) és a kukorica csíkos mozaik vírus (maize dwarf virus, MDMV) előfordulása volt ismert hazánkban. Eredményeink e téren messze elmaradtak még a szomszédos országok virológiai kutatásának eredményeitől is, hiszen mintegy húsz év alatt egyetlen új gabonavírus sem került leírásra, vagy jellemzésre. Lényeges változást csak az 1980-as évek második felétől tapasztalhattunk; ekkor felismerve e téma elméleti fontosságát és gazdasági jelentőségét egymást követően jelentek meg dolgozatok új vírusbetegségek fellépéséről (Milinkó és Remete, 1984; Szirmai, 1986; Pocsai és Barabás, 1986; Gáborjányi és Nagy, 1988; Nyitrai és Gáborjányi, 1988; Gáborjányi et al., 1988; Bisztrai et al., 1989), vagy a gabonavírusokkal kapcsolatos új kísérleti eredményekről (Nagy és Milinkó, 1984; Pocsai et al., 1985; Gáborjányi és Szabolcs, 1987; Szabolcs és Gáborjányi, 1988; Nagy et al., 1989).

Ezek a kívánatos eredmények tették lehetővé, hogy már ne csak az új vírusok előfordulására, vagy a kártételére összpontosítsuk figyelmünket, hanem a kórokozók főbb tulajdonságai is leírásra kerülhessenek, s lehetőségeink szerint felkutassuk azokat a fontos részleteket is, amelyek eddig módszertani okok vagy egyéb nehézségek miatt ismeretlenek maradtak. A gabonafélék vírusbetegségeiről írt, de saját eredményeimre épített monográfia jellegű doktori értekezésemben ezt a hiányt igyekeztem pótolni. Összefoglaltam az utóbbi években a betegségekről és a kórokozókról összegyűjtött ismereteket, azért, hogy ezek kiindulópontként szolgálhassanak a további vizsgálatok számára és hiányosságaival rámutassanak a legfontosabb feladatainkra.

Napjainkra a hazánkban ismertté vált gabonapatogén vírusok száma az utóbbi években kettőtől tízre emelkedett, s igen valószínű, hogy ez a szám a közeljövőben más vírusbetegségek felismerésével, felkutatásával tovább bővül. E téren elsősorban az árpa sárga mozaik vírus előfordulásának bizonyítása és más-, főleg a kabócékkal terjedő vírusok előfordulásának megállapítása és tulajdonságainak leírása várható.

Disszertációmban részben azokat az eredményeket foglaltam össze, amelyeket az elmúlt esztendőik során elértem, s amelyeket részben egyedül, részben munkatársaimmal együtt már közöltem, de azokat az új eredményeket is, amelyek eddig még nem kerültek nyilvánosságra.

II. ANYAG ÉS MÓDSZER

Izolátumok A vírusizolátumokat minden esetben szabadöldről, rendszerint betegség tüneteket mutató növényekről gyűjtöttük. A 0,1 M Sörensen féle foszfát pufferben (pH 7,0) homogenált mintákkal mechanikai inokulációkat végeztünk tesztnövényeken normál üvegházi körülmények között. Abrazívumként karborundumot (500 mesh) vagy Cellite-t alkalmaztunk. Tesztnövényként a természetes gazdanövények magról nevelt fiatal növényeit, valamint gabonafélékből összeállított fajokat használtunk. A tüneteket általában a fertőzés után egy és két ill. három héttel értékeltük. A vírusok felszaporítása a legfogékonyabb növényfajon történt.

A gazdanövénykör vizsgálatokat általában mechanikai inokulációval végeztük, kivételt ez alól a mechanikai úton nem terjedő búza törpülés vírus jelentett, amelynek gazdanövénykörét kabócaátviteleik alapján állítottuk össze. A tüneteket szabad szemmel értékeltük, bizonytalanság esetén szerológiai ellenőrzést vagy visszafertőzést alkalmaztunk.

Átviteli kísérletek Kabócaátviteleket a búza törpülés vírussal végeztünk. Az

átvitelhez a törzskultúrában tartott vírusmentes Psammotettix alienus kifejlett imágóit és lárváit használtuk fel. A felvételi táplálkozás ideje 5-7 nap, a fertőző szívási idő 4-5 nap volt. Tesztnövényként 2-3 leveles magról nevelt tesztnövényeket használtunk.

A levéltetű átvitelüket a kukorica csíkos mozaik vírussal végeztük, üvegházi kultúrában tartott vírusmentes Acyrtosiphum pisum, a Myzus persicae, és a Rhopalosiphon padi fajokkal. A két órán át éheztetett levéltetveket 15 perces felvételi táplálkozás után egy napig taratottuk az egészséges növényeken.

A bogárátviteli kísérletekhez (rozsnoke mozaik vírus és ebír tarkulás vírus) szabadföldről gyűjtött, két napig éheztetett Oulema fajok (Oulema melanopus, O. rufocyanea, O. lychnis, O. spetentrionis) imágóit használtuk. A felvételi táplálkozás egy napig taratott, majd a bogarakat naponként helyeztük át új egészséges növényekre. Tesztnövényenként 10-10 imágót használtunk az átviteli kísérletekben.

Elektronmikroszkópos vizsgálatok A fertőzött növények metszett felületeiről "bemártásos módszerrel" (leaf dip) gyors készítményeket állítottunk elő, míg más esetekben a tisztított vírusoldatot használtunk fel. A nátrium foszforwolframáttal, vagy nátrium uranil acetáttal kontrasztosított mintákat ("negatív festés") JEOL JEM-100 C elektronmikroszkópon vizsgáltuk 25 000x és 100 000x nagyítási értékek között.

Szerológiai vizsgálatok A szerológiai vizsgálatok túlnyomó többségét kettős agar gél diffúziós tesztben végeztük el. Kisebb érzékenysége ellenére ezt a módszert tartottuk legalkalmasabbnak az egyes szerológiai típusok elkülönítésére. Az antiszérumok egy része (rozsnoke mozaik vírus, brome mosaic virus, BMV; árpa csíkos mozaik vírus, barley stripe mosaic virus, BSMV; MDV; cukornád mozaik vírus, sugarcane mosaic virus, SCMV) saját készítmény volt, míg más esetekben külföldről kapott autentikus

antiszérumokat használtunk fel a kórokozók azonosítására (búza csíkos mozaik vírus, wheat streak mosaic virus, WSMV, búza törpülés vírus, wheat dwarf virus, WDV). A BMV antiszérum előállításakor formaldehides kezelés után került sor a nyulak immunizálására, míg más esetekben a tisztított vírusoldatot Freud féle inkomplett adjuvánssal közvetlenül emulgeáltuk és így használtuk fel antiszérum készítésére. Az antiszérumok előállítása Hunter et al. (1986) alapján történt. Az immunoglobulinokat Steinbuch és Audran (1969) szerint tisztítottuk. A BSMV kvantitatív kimutatására alkalmas roket immunoelektroforézist a korábban közöltek (Gáborjányi és Tóbiás, 1984) szerint végeztük. A dot immunobinding analízis (DIA) Powell (1987) alapján került alkalmazásra. Az MDMV és az SCMV sorozatvizsgálatokra az ELISA módszert alkalmaztuk Clark és Adams 1977 szerint.

Tisztítás A vírusok tisztítása az adott kórokozónak megfelelően eltérő módszert követett. Egyes esetekben az irodalomból ismert tisztítási eljárást módosítani kellett, vagy új eljárást kellett kidolgozni. A tisztításhoz friss, vagy mélyhűtött anyagot dolgoztunk fel. Feltárás után általában a polietilén glikolos kicsapást ultracentrifugálás követte, a magas tisztaságfokú, szerológiai célú tisztításoknál cukorgrádiens centrifugálást alkalmaztunk. A WDV tisztításának új eljárását korábban közöltük (Bisztray et al., 1988). Az MDMV tisztítását Hill et al, (1976) módszerével; a WSMV-t Sherwood (1987) alapján végeztük, kis módosítással. Az AgMV tisztítás alapjául Sequeira (1982) eljárása szolgált. A BSMV tisztítás Atabekov és Novikov (1971), valamint Lane (1974) módszerét követte. A CfMV tisztítására új módszert dolgoztunk ki Sehgal (1981) ajánlásai alapján. A BMV tisztítást Hull (1985) szerint hajtottuk végre.

A vírus köpenyfehérjék vizsgálata A köpenyfehérje molekulatömegét a tisztított vírusszuspenzióból SDS poliakrilamid gélelektroforézissel állapítottuk meg Laemmli (1970) módszerével. Molekulatömeg standardként általában ismert vírusok köpenyfehérjéit használtuk.

A vírus nukleinsavak vizsgálata A nukleinsav vizsgálatok kiindulási alapjául tisztított víruskészítmények szolgáltak. A nukleinsavak kivonása SDS-kloroformos kivonási módszerrel (Swinghammer és Symons, 1977) történt, míg a poliakrilamid gélelektroforézist Maniatis et al. (1982) módszertani útmutatója alapján végeztük el. A kettősfonalú nukleinsavak tisztítására Morris és Dodds (1979) cellulóz kromatográfiás nukleinsav elválasztási eljárását követtük. A nukleinsavak elválasztása agaróz gél elektroforézissel történt Maniatis et al. (1982) szerint.

Az antivirális anyagok vizsgálata árpa és búza növények felhasználásával történt. Az anyagokat levélpermet formájában juttatuk a levelek felületére az inokulációt megelőző, és azt követő időszakokban. A közvetlen, in vitro gátlás kimutatására a vírusinokulumhoz kevertük a vizsgálandó anyagokat. A fertőzésfogékonyság változásainak méréséhez féllével módszert használtunk és a dohány mozaik vírus (tobacco mosaic virus, TMV) lokális lézióinak számát értékeltük, míg az in vivo antivirális hatás kimutatására a köpenyfehérje mennyiségének változásait mértük rocket immunoelektroforézissel.

III. A GABONAFÉLÉK VÍRUSBETEGSÉGEI - GABONAVÍRUSOK

1. A hazánkban eddig előforduló gabonavírusok jelenleg használatos, konzervatív víruscsoportosítása szerint hét rendszertani egységbe sorolhatók. Egy vírus esetében a vírusgenom két egyszálú DNS-t tartalmaz. Ez a geminivírus csoport képviselőjeként ismert búza törpülés vírus. A többi gabonavírus genomja mind egyszálú RNS.

Az egykomponensű RNS vírusok között a legismertebb a kukorica csíkos mozaik vírus, vagy más néven kukorica törpe mozaik vírus, mint a jelenleg ismert egyetlen gabonapatogén potyvirus. Utóbbi évek kutatásai eredménye, hogy kimutattuk, hogy azánkban a kukoricát a cukornád mozaik vírus két törzse (SCMV-MB és SCMV-A) is fertőzi.

A potyvirusok egy új rendszertani csoportjába azok a vírusok tartoznak, amelyek eriofid levélatkákkal terjednek. A wheat streak mosaic virus csoportba három olyan vírus is tartozik, amelyek Magyarországon is előfordulnak, ezek: a búza csíkos mozaik vírus; a tarackbúza mozaik vírus (agropyron mosaic virus, AgMV); és a vadóc mozaik vírus (ryegrass mosaic virus, RYMV).

Az osztott genomú vírusok közül hazánkban a hordeivírusok típus tagja az árpa csíkos mozaik vírus fordul elő, míg az árpa sárga mozaik vírus (barley yellow mosaic virus, BYMV) jelenlétének bizonyítása még további vizsgálatokat igényel.

Az izometrikus vírusok közül egykomponensű a már korán felismert luteovírus, az árpa sárga törpülés vírus (barley yellow dwarf vírus, BYDV). Ugyancsak egykomponensű a sobemovírusokhoz sorolható ebír tarkulás vírus is. Az izometrikus rozsnok mozaik vírus az osztott genomú vírusok egyetlen gabonapatogén képviselője.

A felsoroltakból kitűnik, hogy a gabonavírusok szinte mindegyik fontosabb rendszertani csoportban képviseltetik magukat.

2. A hazánkban újonnan felismert vírus eredetű kórokozók közül első helyen a búza törpülés vírust kell említeni. E mechanikai úton nem terjedő kórokozó felismerésével és vektorátvitelével elsőként sikerült hazánkban hitelt érdemlően igazolni geminivírusok jelenlétét. Eredményeinket alátámasztja az elektronmikroszkópos felvétel, illetve a nukleinsav DNS jellegének bizonyítása is. Ez az első kabócákkal tejedő vírus kórokozó, amellyel Magyarországon eddig átviteli kísérleteket végeztek. Korábbi kísérletünk, amelyek kabócavektorokkal történő átvitelekre vonatkoztak, mind mikoplazma kórokozók voltak kapcsolatosak.

A kórokozó által előidézett tünetek igen hasonlóak más, vírusfertőzések okozta tünetekhez, így elsősorban az árpa sárga törpülés betegség szimptomáival összetéveszthetők. E körülmény, valamint a mechanikai átvitel hiánya megnehezíti a gyakorlatban a kórokozó azonosítását, elterjedésének megállapítását és az okozott kár felmérését is. Vektorátviteli kísérleteink rámutattak azokra a különbségekre is, amelyek a búza- és az árpa törpülés között voltak, feltételezve azt a ma már valószínűsíthető tényt, hogy a kórokozónak két eltérő biotípusa (törzse) is van. A búza törpülés vírus mechanikailag nehezen (vagy nem) vihető át árpára, míg a vírus árpa törzse csak az árpát fertőzi. Ez utóbbi törzs előfordulását is bizonyítottuk Magyarországon. A geminivírus(ok) megismerése azért jelentős, mert általa olyan, mesterségesen kifejleszthető génvektorhoz juthatunk, amelyet az egyszerű növények biotechnológiai megváltoztatásához lehet felhasználni.

3. A kukorica csíkos mozaik vírus az egyik legelterjedtebb gabonapatogén vírus Magyarországon. Szinte mindenütt megtalálható szántóföldi kórokozó. Elterjedtsége ellenére a kórokozó tulajdonságairól korábban alig volt ismeretünk. Az utóbbi években a gabonapatogén potyvírusoknak új szerológiai csoportosítása vált ismertté. Kukorica, cirok és fenyércirok szabadföldről származó mintáinak vizsgálata során megállapítást nyert, hogy a hazai kukoricát fertőző- és eddig kukorica csíkos mozaik vírusként számoltartott izolátumok három szerológiaiailag eltérő csoportba lettek sorolhatók.

Kukoricán a legközönségesebb és egyben legfontosabb a kukorica csíkos mozaik vírus A törzse, amely fertőzi a Sorghum halepense-t, további természetes gazdanövénye az Echinochloa crus-galli és a termesztett cirok fajok (Sorghum dochna, S. bicolor stb.). A kakaslábű, mint természetes vírusforrás járványtani szerepe eddig még nem tisztázott. A vírus gazdanövénykörében azonban több olyan évelő fajt találtunk (Dactylis glomerata, Paragmites communis), amelyek biztosíthatják a kórokozó áttelelését.

A második, szerológiaiailag rokon, de az MDMV-vel nem azonos típus a cukornád

mozaik vírussal volt azonosítható. Tesztnövényein okozott tünetei az MDMV-hez igen hasonlóak, azzal a kivétellel, hogy a Sorghum halepense-t és a kakaslábfüvet nem fertőzte. Utóbbi években végzett gazdanövénykör vizsgálataink során megállapítottuk, hogy ez a kórokozó a cukornád mozaik vírus MB törzsével azonosítható, amely korábban az MDMV-B törzseként volt ismert. Az MDMV-MB az országban mindenütt elterjedt, de eddig elsősorban az Északnyugati kukoricatermesztő területekről izoláltuk.

A kukoricapatogén potyvirusok közül a legkülönösebb az un. "D" szerotípus előfordulása volt, amely ugyan szerológiailag eltért a korábbi típusoktól, de nagyfokú tüneti hasonlóságot mutatott a másik két kórokozó típussal. Tüneti elkülönítésre legalkalmasabb a Sorghum halepense volt, valamint egyes Sorghum fajok. E ritkább szerotípus kukoricán okozott tünetei alapján nem volt azonosítható, de a nemzetközileg ismert cirok fajták és beltenyésztett nemesítési vonalak segítségével meghatározható lett. A kukoricapatogén potyvirusok rendszertani felosztásában ez a vírus a cukornád mozaik vírus A törzsével volt azonosítható. További megoldandó kérdést jelentett a levéltetű vektorok szerepének, és vírusspecifikusságának, epidemiológiai szerepének bizonyítása de ezek az eredmények csak a disszertáció leadása után megjelent közleményekben olvashatók. Valószínűsíthető a genomban a segítő (helper) fehérjék jelenléte is, amelynek kísérletes kimutatása, és siker esetén a megfelelő nukleinsav szakasz biotechnológiai felhasználása új feladatokat jelent. A kukoricapatogén potyvirusok között részleges keresztvédettség volt kimutatható.

Az MDMV csoport összetett volta részben magyarázatot adott azokra az eltérésekre is, amelyeket a nemesítők korábbi kísérleteikben tapasztaltak, részben pedig ösztönzést adtak a rezisztencianemesítésben közös feladatok megoldására is. Beltenyésztett kukorica vonalak és termesztett cirok fajták mesterséges fertőzéssel a hazai kukoricapatogén potyvirusok jól jellemezhetőek voltak, a nemesítési anyagból az ellenálló vonalak, fajtajelöltek és fajták jól kiválaszthatók lettek. Ezeknek az eredményeknek

ismertetésére csak a disszertáció beadása óta megjelent munkáinkban került sor. Jelenleg nemesítési vonalak és hibridjeik rezisztencia-vizsgálatával kísérleteket folytatunk az ellenállóképeség öröklődési viszonyainak feltárására.

4. A potyvirusok-tól elválasztott új rendszertani egység tipikus képviselője a búza csíkos mozaik vírus, először a nemesítő telepek üvegházaiban fordult elő. A kórokozó pontos meghatározására azonban nem került sor. Szabadföldi előfordulását búzán és árpán bizonyítottuk. A szabadföldről gyűjtött mintákból tesztnövény vizsgálatokkal, szerológiai módszerrel és elektronmikroszkópos vizsgálatokkal azonosítottuk, és jellemeztük a kórokozót. A búza csíkos mozaik vírust eddig csak két helyről izoláltuk. Ez nem jelenti előfordulásának korlátozott voltát, hanem csupán arra utal, hogy tünetek alapján más vírusokkal (elsősorban a rozsnok mozaik vírussal) könnyen összetéveszthető. A vírus elterjedésének pontos felmérésére van szükség. Üvegházi kísérletekben a hazai búzafajták nagyfokú fogékonyságot mutattak; ezek a megfigyelések nem mindig azonosak a szabadföldi megfigyelésekkel. Ennek az eltérésnek oka elsősorban a szántóföldi (atka) rezisztenciában keresendő. Az Agropyron repens vírussal szembeni extrém rezisztenciája (immunitása), igen jelentős lehet a növénynemesítésben. Erre utalnak a kedvező külföldi tapasztalatok. A hazai búzafajták WSMV ellenállóképeségének kialakításához szükséges a természetes rezisztenciaforrások felkutatása és nemesítési célú alkalmazása, mint távlati kutatási cél.

5. A tarackbúza mozaik vírus (agropyron mosaic virus) és a vadóc mozaik vírus (ryegrass mosaic virus) két olyan gabonapatogén kórokozó, amelynek előfordulása Magyarországon még nem volt ismert. Mindkét vírust a wheat streak mosaic virus csoport tagjaként tartják számon. Gyakori előfordulásuk fő gazdanövényeiken (Agropyron repens és Lolium perenne ill. L. multiflorum) igen feltűnő tünetekben nyilvánul meg. Gazdasági kártételük pontosan nem ismert, meghatározásra szorul. Az AgMV azonban fertőzi a búzát és egyes árpa

és rozs fajtákat is, a RyMV szűk gazdanövényköre ellenére a zabon okoz szisztemikus megbetegedést, ennek kártételét nem ismerjük. Mindkét vírusbetegség tünetei lassan fejlődnek ki, és fő gazdanövényeiken okozott tüneteik alapján nem különíthetők el más fertőzésektől. Mindkét kórokozó morfológiailag hasonló, meghatározásuk csak a szűk gazdanövénykör alapján lehetséges. Mindkét kórokozó gazdanövénykörét új fajokkal egészítettük ki. Fontosabb gazdanövényeik közül kiemelendő a Dactylis glomerata, amely mint évelő növény nemcsak az említett vírusok, hanem a CfMV és a BMV természetes gazdanövénye, rezervoár növénye is.

6. A helikális, többkomponensű vírusoknak Magyarországon egyetlen képviselője fordul elő bizonyítottan, ez az árpa csíkos mozaik vírus. A régebben két-, három-, illetve négy komponensűnek megismert vírus törzseinek nemzetközi összehasonlítása bebizonyította a törzsek hasonlóságát és a komponensek számának eredetét. A hazai BSMV izolátumok - eltérően a nemzetközi irodalomban ismertektől - több új tulajdonságukkal is kitűnnek az összehasonlító törzsek közül. A magyar törzs (BSMV-H) tünetei enyhék, ennek ellenére nagyobb mennyiségben halmozódnak fel a beteg növényekben, mint a többi (pl. BSMV-Br) törzs. A magyar törzs patogenitása szélesebb spektrumú, eredményesen fertőzi pl. a kukoricát is, amelyet a hasonló orosz törzs nem fertőz. A maggal és mechanikai úton terjedő kórokozót tesztnövény kísérletekkel, szerológiai módszerekkel és elektronmikroszkópos vizsgálatokkal azonosítottuk és jellemeztük. Az egyszálú nukleinsavak összetétele alapján a magyar törzs háromkomponensű. A három nukleinsav komponens mellett a növényekben még egy negyedik, szubgenomikus eredetű nukleinsav frakció is kimutatható volt. A kettősfonalú RNS-ek elválasztása során a replikatív formák is kimutathatók voltak. A magyar törzs köpenyfehérje molekulatömege egyezett más (pl. az orosz) törzs köpenyfehérje molekulatömegével, míg a Braunschweig-i izolátumnál e téren eltéréseket tapasztaltunk. Vizsgálataink azt bizonyítják, hogy a hazai izolátum új törzset képvisel. E törzs jelentősége szintén biotechnológiai felhasználhatóságában rejlik, ugyanis a kórokozó a sejtmagban replikálódik,

alkalmas lehet egyszíkiúek génátvitelére. Az a tény, hogy a magyar törzs fertőzi a kukoricát alkalmassá teheti arra, hogy génevktorként lehessen alkalmazni kukoricán is.

7. Az ebír tarkulás vírus szintén azok közé a vírusok közé tartozik, amelyek által előidézett betegség előfordulását ugyan leírták hazánkban, de a kórokozó jellemzésére nem került sor. A kórokozó a Dactylis glomerata-ról származó több gazdanövény- és elektronmikroszkópos vizsgálat alapján jellemezhetővé vált. A vírus hatékony vektoraként ismert Oulema melanopus-sal és Oulema lichenissal is eredményes átviteli kísérleteket végeztünk, kiegészítve az aktív vektorok sorát két másik vetésfehérítő bogárfajjal, az Oulema septentrionis-sal és a O. rufocyanea-val is. A virion magas nukleinsav tartalma lehetővé tette az egyszálú nukleinsav jellemzését is. A CfMV nukleinsava egykomponensű, az egyes sobemovirusokra jellemző viroidszerű nukleinsav feltételezett jelenléte előzetes kísérleteinkben nem volt bizonyítható.

8. Egyik legelterjedtebb és gazdasági szempontból is egyre jelentősebb hazai gabonavírus a rozsnok mozaik vírus. Ez az izometrikus, többkomponensű vírus 1986 óta ismert hazánkban, jellemzésére azonban eddig nem került sor. Az egyes izolátumok tesztnövény vizsgálata, szerológiai jellemzése és elektronmikroszkópos vizsgálata lehetővé tette a kórokozó pontos leírását, a nukleinsavak elválasztását és jellemzését, a kettősfonalú nukleinsav formák kimutatását. Vektorátviteli kísérleteinkben igazoltuk az Oulema melanopus és az O. lichenis vetésfehérítő bogarak vírusvektor szerepét, és először sikerült eredményes átviteli kísérleteket végezni az O. rufocyanea és az O. septentrionis fajokkal is. Megállapítottuk, hogy a CfMV és a BMV vírus perzisztencia szempontjából különbözik egymástól, ami aktív vírus-vektor kapcsolatra utal. Ismereteink szerint a vetésfehérítő bogarakkal végzett kísérleteink az első eredményes hazai bogár-vektor - átviteli kísérletek voltak.

III. A GABONAVÍRUSOK ELLENI KÉMIAI VÉDEKEZÉS LEHETŐSÉGEI

A vírusbetegségek ellen kémiai úton elvileg két formában is védekezhetünk. Vagy a fertőzés folyamatát gátoljuk, vagy a kórokozó replikációját akadályozzuk meg. Ennek megfelelően a vírusellenes anyagokat úgy is csoportosíthatjuk, hogy azok vagy a vírusfertőzést közvetlen (in vitro) inhibitorai vagy, a fertőzést in vivo gátló anyagok, míg a vírus replikációt gátló anyagok indukált antivirális anyagokra, illetve kemoterápiás szerekre csoportosíthatók.

Ez az új felosztás felvetette annak szükségét, hogy egyes, eddig antivirálisnak ismert anyagokról kiderítsük hatásuk módját, és lehetőség szerint alkalmazzuk azokat a gabonavírusok elleni kémiai védekezésben.

Az antivirális szerek között legismertebbek a triazinok. Ezek egyik fontos képviselője az 5-azadihidouracil (2,4-dioxo-hexahidroxo-1,3,4 triazin, DHT), amely jelentős mértékben, de nem teljesen gátolta a vírusreplikációt. Eddig csak kétszikű növényeken alkalmazták. Az ún. "antivirális anyagok" másik, jelentős csoportját a guanidin származékok képviselik. E vegyületcsoportból a cianoguanidint alkalmaztuk először gabonavírusok elleni védekezésben. Kísérleteinket kiegészítettük az L333 jelű (védett) ugyancsak antivirális hatásáról ismert anyaggal. Az említett vegyületek fertőzésfogékonyságra gyakorolt in vitro és in vivo gátló hatását (lokális tüneteket okozó gabonavírus hiányában) dohány mozaik vírus ellen vizsgáltuk (inkompatibilis gazda-parazita kapcsolatban). A fertőzésfogékonyság változásait a dohányon fejlődött lokális léziók számával jellemeztük. Az antivirális - tehát vírus replikációt gátló hatást - BSMV-vel fertőzött árpa leveleken mértük (kompatibilis gazda-parazita kapcsolatban).

Megállapítottuk, hogy mindhárom anyagnak közvetlen vírusgátló hatása van. Hasonlóan in vivo fertőzésfogékonyságot csökkentő hatás is kimutatható volt

mindhárom kezelés esetén. Az L333 és a DHT kezelések a köpenyfehérje felhalmozódását is csökkentették. Mindezek ellenére az árpa - BSMV gazda parazita kapcsolatban tapasztalt antivirális hatás inkább a közvetlen inhibitor jelleggel és a fertőzésfogékonyság csökkentésével magyarázható, mintsem a replikációt gátló in vivo hatással.

A virazolhoz hasonló kémiai szerkezetű tiazofurin (2- β -D-ribofuranoziltiazol-4-karboxamid) a humánpatológiából ismert antivirális anyag, amit eddig csak egy növényi vírus (tomato spotted wilt virus) ellen alkalmaztak. A tiazofurin BSMV szaporodás gátlását bizonyítottuk árpa növényeken. Vizsgálatainkban a tiazofurin jelentős - de nem teljes - vírusreplikációt gátló hatást mutatott. A gátló hatás mértéke a kezelés idejétől is függött, de a fertőzés után alkalmazva is kimutatható volt a replikáció gátlása. A BSMV-H és -Br törzs között az antivirális hatás mértékében is különbségeket tapasztaltunk. E hatás ugyanakkor csak időleges, és csak a kezelt levelekre terjed ki.

Kísérleteink, annak ellenére, hogy gyakorlati célra használható antivirális anyagot nem szolgáltatottak, rámutattak az antivirálisnak ismert anyagok hatásának módjára. Ezek a kísérletek tudásunk szerint az első-, a gabonavírusokkal kapcsolatos kémiai védekezési kísérletek.

Az értekezés témaköréből megjelent publikációk

- Ádám, A., Gáborjányi, R., Tóbiás, I. és Király, Z. (1986): A nitrogén táplálás hatása az árpa csíkos mozaik vírussal fertőzött árpa növények vírustartalmára és galaktolipid összetételére. *Növénytermelés* 35: 139-145.
- Ádám, A., Gáborjányi, R., Király, Z. and Tóbiás, I. (1987): Effect of nitrogen fertilization on the concentration of viruses, phospholipids and galactolipids of barley leaves infected with barley stripe mosaic virus (BSMV). *Ann. appl. Biol.* 110: 313-319.
- Bisztray, Gy., Gáborjányi, R. és Vacke, J. (1988): Búza törpülés vírus: Új gabonapatogén kórokozó Magyarországon. *Növényvéd. Tud. Napok, Budapest*, p. 47.
- Bisztray, Gy., Gáborjányi, R., and Vacke, J. (1989): Isolation and characterisation of wheat dwarf virus found for the first time in Hungary. *Z. Pflkrankh. Pflanzenschutz* 96: 449-454.
- Bisztray, G., J. Vacke, and Gáborjányi, R. (1988): Wheat dwarf virus in Hungary. 5th Conf. Virus Dis. of Gramineae in Europe. Budapest, Abstr. p. 45.
- Gáborjányi, R. (1986): Biológiai védekezés a növényi vírusok ellen: Elméleti lehetőségek és gyakorlati eredmények. *Növénytermelés* 35: 561-567.
- Gáborjányi, R., Bisztrai, Gy. és Vacke, J. (1988): Búza törpülés vírus: Új gabonapatogén Magyarországon. *Növénytermelés* 37: 495-500.
- Gáborjányi, R. és Nagy, P.D. (1988): A búza csíkos mozaik vírusbetegség Magyarországon. *Növénytermelés* 37: 391-395.
- Gáborjányi, R., Vacke, J. és Bisztrai, Gy. (1988): Búza törpülés vírus: új gabonapatogén Magyarországon. *Növénytermelés* 37: 495-500.
- Gáborjányi, R. and Szabolcs, J. (1987): Brome mosaic virus transmission by cereal leaf beetle (*Oulema melanopus*, Coleoptera, Chrysomelidae.) *Cereal Res. Commun.* 15: 259-264.
- Gáborjányi, R. és Szabolcs, J. (1990): A vetésfehérítő bogarak szerepe a gabonapatogén vírusok terjesztésében. Szántóföldi Növényetermesztés VII. Orsz. Növényvéd. és Agrok. Tanácskozása., Budapest, Abstr. p. 75-78.
- Gáborjányi, R. and Tóbiás, I. (1984): Rocket immunoelectrophoresis: a novel

method for quantitative detection of barley stripe mosaic virus from infected barley and wheat plants. *Cereal. Res. Commun.* 12: 263-264.

Gáborjányi, R. és Tóbiás, I. (1986): A vírusfertőzés inhibitorai és a vírusbioszintézist gátló anyagok. *Növénytermelés* 35: 139-145.

Gáborjányi, R. és Tóbiás, I. (1986): Indukált antivirális anyagok és kemoterápiás szerek. *Növénytermelés* 35: 341-350.

Gáborjányi, Tyihák, E. und Tóbiás, I. (1984): Vergleich der Wirkung antiviraler Substanzen in kompatiblen und inkompatiblen Virus - Wirt Beziehungen. *Biotechnologiesymposium '84. Leipzig.* p. 86.

Nagy, P.D. and Gáborjányi, R. (1988): Characterization of barley stripe mosaic virus Hungarian strain. 5th Conf. Virus Dis. of Gramineae in Europe. Budapest. Abstr. p. 42.

Nagy, P. és Gáborjányi, R. (1988): Az árpa csíkos mozaik vírus magyar izolátumainak jellemzése. *Növényvéd. Tud. Napok, Budapest,* p. 65.

Nagy, P.D. és Gáborjányi R. (1990): Az árpa csíkos mozaik vírus két különleges törzsének jellemzése. *Növénytermelés* 39: 235-243.

Nagy, P.D., Gáborjányi, R., Kovács, L. és Farkas, I. (1988): A tiazofurin antivirális hatása az árpa csíkos mozaik vírusra. *Növénytermelés* 37: 313-319.

Nagy, D.P., Gáborjányi, R., Kovács, L. and Farkas, I. (1989): Antiviral activity of tiazofurine against barley stripe mosaic virus. *Antiviral Research* 11: 41-46.

Ngoc H. Duong és Gáborjányi R. (1990): Szerológiai és tesztnövény vizsgálatok a kukorica csíkos mozaik vírus hazai izolátumaival. *Növényvéd. Tud. Napok, Budapest.* p.

Nyitrai, Á. and Gáborjányi, R. (1988): Wheat streak mosaic a new virus disease of wheats in Hungary. *Cereal Res. Commun.* 16: 261-263.

Szabolcs, J. and Gáborjányi, R. (1988): Brome mosaic virus transmission by cereal leaf beetle (*Oulema melanopus*, Col. *Chrysomelidae*). 5th Conf. Virus Dis. of Gramineae in Europe. Budapest. Abstr. p. 36.

Szabolcs, J. és Gáborjányi, R. (1988): A rozsnok mozaik vírus átvitele vetésfehérítő bogarakkal. *Növényvéd. Tud. Napok, Budapest,* p. 74.

- Szabolcs, J. és Gáborjányi, R. (1988): A rozsok mozaik vírus átvitele vetésfehérítő bogarakkal. Növényvéd. Tud. Napok, Budapest, p. 74.
- Szirmai, J. Beczner, L. Nagy, P. and Gáborjányi R. (1988): Virus diseases of Gramineae in Hungary. 5th Conf. Virus Dis. of Gramineae in Europe. Budapest, Abstr. p. 13.
- Tallóczy, Zs. és Gáborjányi, R. (1990): Az azadihidouracil és a cianoguanidin vírusgátló hatása. Növénytermelés 39: 245-253.

Az értekezés beadása óta a témakörben írt dolgozatok

- Gáborjányi, R. (1990): Két új gabonapatogén vírus Magyarországon: A tarackbúza mozaik vírus (agropyron mosaic virus, AgMV) és a vadóc mozaik vírus (ryegrass mosaic virus, RyMV). Kórtani és rezisztenciaproblémák a búzában és a kukoricában. Szeged, Abstr. p.4.
- Gáborjányi, R. and Hoang, N.D. (1991): Complexity of potyviruses infecting maize in Hungary. Cereal Res. Commun. 19: 337-344.
- Gáborjányi, R. (1991): Két új gabonapatogén vírus Magyarországon: a tarackbúza mozaik vírus (AgMV) és az angolperje mozaik vírus (RyMV). Növénytermelés 40: 219-225.
- Gáborjányi, R., Szirmai, J. Beczner, L. and Nagy, P.D. (1991): Virus diseases of Gramineae in Hungary. Acta Phytopathol. Hung. 26: 83-86.
- Gáborjányi, R. és Hoang, N.D. (1992): Kukoricapatogén potyvirusok részleges keresztvédtettsége. Növényvédelem 28: (in press).
- Gáborjányi, R. Hoang, N.D. and Kovács, G. (1992): Resistance of maize inbred lines and sorghum species to potyviruses found in Hungary. Cereal Res. Commun. (in press).
- Gáborjányi, R., Hoang, N.D. és Vasdinyei, R. (1992): A nitrogénellátás kapcsolata a kukorica növények vírusfogékonyságával. Növénytermelés 41: (in press).
- Hoang, N.D. és Gáborjányi, R. (1992): A kukoricapatogén potyvirusok (kukorica csíkos mozaik vírus és cukornád mozaik vírus) és törzseinek meghatározása cirok fajtákon és nemesítési vonalakon. Növénytermesztés 41: (in press).

- Hoang, N.D. és Gáborjányi, R. (1991): Kukoricapatogén potyvirusok előfordulása Magyarországon. *Növénytermelés* 40: 105-110.
- Hoang, N. D., Vidosné Rakk, Zs., Kozma, E, és Gáborjányi R. (1991): Kukoricapatogén potyvirusok levéltetű átvitelének összehasonlító vizsgálata. *Növényvédelem*, 27: 517-520.
- Hoang, N.D., Siklósiné Rajki, E. és Gáborjányi R. (1991): Hazai nemesítésű cirok fajok és fajták ellenállóképessége a kukorica csíkos mozaikvírussal és a cukornád mozaikvírussal szemben. *Növényvédelem* 27: 445-447.
- Kovács, Gy., Hoang, N.D. és Gáborjányi, R. (1990): Nemzetközileg ismert beltenyésztett kukorica vonalak ellenállósága hazai kukoricapatogén vírusokkal szemben. *Kórtani és rezisztenciaproblémák búzában és kukoricában*. Szeged, Abstr. p.20.
- Kovács, Gy., Hoang, N.D. és Gáborjányi, R. (1991): Beltenyésztett kukorica vonalak és cirok fajták ellenállósága hazai kukoricapatogén potyvirusokkal szemben. *Növénytermelés* 40: 289-294.
- Kovács, Gy., Milinkó, I. Gyulavári, O. Hoang, N.D. and Gáborjányi, R. (1991): Damage caused by potyvirus infection in maize seed production. 6th. Conf. on Virus Diseases of Gramineae in Europe. Torino. Abstr. 28.
- Kovács, Gy., Milinkó, I., Gyulavári, O. Hoang, N.D. és Gáborjányi R. (1992): Kukoricapatogén potyvirusok kártétele a hibridkukorica vetőmagtermesztésben. *Növénytermelés* 41: (in press).
- Nagy, P.D. and Gáborjányi, R. (1991): Characterization of barley stripe visus Hungarian strain. *Acta Phytopathol. Hung.* 26: 187-192.
- Nagy, P.D. and Gáborjányi, R. (1991): Evidence for cross protection between strains of barley stripe mosaic virus. *Acta Phytopathol. Hung.* 26: 193-197.
- Szabolcs, J. and Gáborjányi, R. (1991): Brome mosaic virus transmission by cereal leaf beetle (*Oulema melanopus*, Coleoptera, Chrysomelidae). *Acta Phytopathol. Hung.* 26: 203-206.