

AZ UBORKA MOZAIK VÍRUS NEKROTIKUS IZOLÁTUMÁNAK (CMV-N) PATOLÓGIAI JELLEMZÉSE

Salamon Pál¹, Salánki Katalin², Szilassy Dénes² és Balázs Ervin²

¹Fitoteszt Bt., Berkesz

²Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont, 2101 Gödöllő, Pf.: 411

Az uborka mozaik vírus (CMV, cucumber mosaic virus) Fulton (1953) által izolált nekrotikus törzsének gazdanövényköre és a gazdanövényeken okozott tünetei alapján a már ismert CMV-patológiai alcsoportokhoz nem sorolható. Különleges tulajdonságának bizonyult, hogy csak lokálisan fertőzte a CMV közöséges törzsével szemben szisztemikusan is fogékony Solanaceae fajok többségét (pl. *Capsicum annum*, *Nicotiana tabacum*) és teljes elhalást okozott a CMV fertőzésre mozaiktünetekkel reagáló uborkán. A *Nicotiana benthamiana* a vírusizolátum új, szisztemikusan is fogékony tesztnövényének bizonyult. A CMV-N-izolátummal szemben korábban ellenállónak talált *Nicotiana glutinosá*n ritkán lokális léziókat lehet megfigyelni, amelyből kiindulva a *N. glutinosá*t és *Nicotiana tabacum*ot szisztemikusan is fertőző CMV-vonal különíthető el. A CMV és C-patotípusaihoz tartozó ismert vírusizolátumok dohányon védeltséget adtak az CMV-N-izolátum fertőzésével szemben. Szerológiai vizsgálatok szerint a CMV-N-izolátum a CMV D-szerotípusához sorolható. A CMV-N-izolátum köpenyfehérje (CP) génjének teljes bázissorrendjét meghatároztuk. A köpenyfehérje aminosavsorrend-homológiák alapján a CMV-N-izolátum a CMV I-es alcsoportjához tartozik.

A *Bromoviridae* víruscsalád *Cucumovirus* nemzetségének típusfajaként ismert uborka mozaik vírus világszerte a legelterjedtebb és gazdasági szempontból a legjelentősebb növényvírusok közé tartozik. A többi növényvírus közül gazdanövényeink nagy számával (cf. Edwardson és Christie 1997) és különböző tulajdonságokban megnyilvánuló nagy variabilitásával (cf. Palukaitis és mtsai 1992) tűnik ki. Izolátumai kísérleti gazdanövényeken okozott tünetek alapján két nagy csoportba (patotípusok) sorolhatók, amelyeket különböző szerzők eltérő módon jelöltek (pl. I és II, B és C, N és U, cf. Hollings és mtsai 1968, Marrou és mtsai 1975, Richter 1983). Az azonos patotípusokhoz tartozó izolátumok között azonban kisebb-nagyobb szimptomatológiai különbségek mutathatók ki (Marrou és mtsai 1975, Beczner és mtsai 1978, Salamon 1989).

A CMV variabilitása a szerológiai tulajdonságokban is megnyilvánul. A két patológiai

csoport egyúttal két szerotípust (To és D) is képvisel (Devergne és Cardin 1973).

A gazdanövénykörben és/vagy a tünetekben tapasztalt patológiai variabilitás genetikai vizsgálatára az utóbbi két évtizedben a molekuláris virológia gyors fejlődése adott lehetőséget. Ismertté vált a CMV-genom szerveződése és számos CMV-izolátum genomjának teljes vagy részleges bázissorrendje. A különböző patotípusokhoz és szerológiai csoportokhoz sorolt izolátumok a nukleinsav-hibridizálási tesztek és a vírusgenomot alkotó RNS-bázissorrend-homológiák alapján a patológiai és szerológiai csoportoknak megfelelően szintén két nagy alcsoportba (I és II) tartoznak (Palukaitis és mtsai 1992).

Számos olyan CMV-izolátumot ismerünk, amelyek a fentiekben vázolt patológiai törzscsoportokhoz nem sorolhatók, szerológiai tulajdonságaikat nem tanulmányozták és genomjuk bázissorrendjét sem határozták meg.

Ezek közé tartozik többek között a CMV nekrotikus izolátuma (CMV-N), amelynek részletesebb patológiai leírásából, szerológiai jellemzéséről és bázissorrendjéről mindeddig nem jelent meg közlemény.

A CMV-N-izolátumot Fulton (1953) egy pontosan nem megjelölt CMV-törzsből különítette el és mint véletlen mutánst azonosította. A mutáns izolátum különleges patológiai tulajdonsága abban nyilvánult meg, hogy a közönséges CMV-törzsekkel szemben szisztemikusan fogékony számos növényfajon, így a *Solanaceae* család fajain is csak lokális léziókat okozott. Felszaporításához a legjobb szisztemikusan fogékony gazdanövények a *Catharanthus roseus* (*Vinca rosea*) bizonyult. Fulton rövid közleményében utalt arra is, hogy a CMV-N-izolátum, mint indikátortörzs, alkalmas dohányfajták és -vonalak CMV-toleranciájának előzetes laboratóriumi tesztelésére. Troutman és Fulton (1958) kísérletekkel is igazolták, hogy a CMV-N-izolátummal szemben kevésbé fogékony (egységnyi levélfelületen csak kis léziószámmal reagáló) dohányvonalak a CMV-fertőzéssel szemben szabadföldi viszonyok között is ellenállóbbnak bizonyultak.

Pochard (1977) Fulton izolátumát (CMV-F jelzéssel) paprikafajok, -fajták és vonalak CMV-toleranciájának tesztelésére alkalmazta. Módszerét a hazai paprikanemesítésben is felhasználták és továbbfejlesztették (Ruskó és Csilléry 1980). Ruskó (1994) a CMV-N-izolátumot az uborka CMV-rezisztencianemesítésben szintén mint tesztizolátumot alkalmazta eredményesen.

Wood és Coutts (1975) a CMV-N-izolátumot a különböző patotípusokat képviselő CMV-W- és CMV-P-izolátumokkal hasonlították össze. Megállapították, hogy a CMV-N-izolátum a CMV jól ismert szisztemikus gazdanövényei közül csak lokálisan fertőzi a *N. tabacum* fajtákat, nem fertőzi azonban a *N. glutinosa* dohányfajt, továbbá a másik két izolátumra jellemző mozaiktünetek helyett lokális léziókat, súlyos mozaikot és elhalást okoz az Ashley uborkafajtán. A tisztított virionokból a CMV-N- és CMV-P-izolátumok esetében négy, a CMV-W-izolátum esetében hat különböző molekulatömegű RNS-t mutat-

tak ki. A CMV-N-törzs különleges patológiai viselkedését specifikus RNS-molekula jelenlétével nem tudták magyarázni.

A CMV-izolátumok osztályozására irányuló kutatási programhoz kapcsolódva az MTA Növényvédelmi Kutatóintézetében (Beczner és mtsai 1978, Salamon 1989) a 70-es évek végén kezdtük el a törzs jellemzését. Célunk az volt, hogy a CMV-N-izolátumot már ismert hazai CMV-törzsekkel patológiai és szerológiai tulajdonságaik alapján hasonlítsuk össze, és molekuláris biológiai módszerekkel jellemezzük.

Anyag és módszer

A vírusizolátumok származása és fenntartása

A CMV-N-izolátumot 1978-ban dr. Csilléry Gábor bocsátotta rendelkezésünkre Franciaországból származó liofilezett növénypreparátumban. A Fulton nevére utaló CMV-F jelzéssel kapott izolátumot Wood és Coutts (1975) szerint CMV-N-nel jelöljük. A CMV-N-izolátumot *Catharanthus roseus* növényekben, valamint száraz preparátumban tartottuk fenn. A CMV-B-patotípusához (To szerotípus) tartozó CMV-Trk7 izolátumot, amelynek ma már teljes nukleotidsorrendje ismert (Szilassy és mtsai 1998) dr. Beczner László izolálta fehérheréből (Beczner és mtsai 1978). A C-patotípushoz tartozó CMV-SnTz2 izolátum *Solanum nigrum*ból származik (Salamon 1989). Keresztvédetség teszteléshez használtuk fel a CMV *Scopolia carniolic*ából (CMV-Sc, B-patotípus) és *Raphanus sativus* cv. *Erfurti* kerek növényből (CMV-Rs, C-patotípus) származó izolátumait. A CMV B és C-patotípusait reprezentáló négy hazai izolátumot *N. tabacum* cv. *Xanthi-nc* dohányfajtán tartottuk fenn.

A gazdanövénykör és a szimptomák tanulmányozása

A gazdanövényköri és szimptomatológiai vizsgálatokat üvegházakban végeztük. A mechanikai inokulációkhoz a vírusizolátumokat *C. roseus* vagy uborka (*Cucumis sativus* cv. *Delicatess*) növényekben (CMV-N), illetve

Xanthi-nc dohányfajtán (CMV-Trk7, -SnTz2, -Rs, -Sc) szaporítottuk fel. Az inokulomokat a donornövények szisztemikusan fertőzött leveleiből nyertük foszfátpufferben történő homogenálással. A fertőző szövetnedvet a teszt-növények leveleibe fertőtlenített mutatóujjal vagy steril üvegspatulával dörzsöltük be. A mechanikai átvitelhez abrazívumként karborundumot (500 mesh) használtunk, amelyet az inokuláció előtt a teszt-növények leveleire szórunk és/vagy az inokulumhoz adtunk. A lokális és szisztemikus tüneteket az inokulációt követően 2–4 hétig tanulmányoztuk. A vírusizolátumok jelenlétét a teszt-növények inokulált és csúcsi leveleiben a CMV-fertőzésre lokális léziókkal reagáló *Chenopodium quinoa* vagy *Ch. amaranticolor* teszt-növényekre végzett visszatesztelésekkel állapítottuk meg.

Keresztvédetség tesztjei

A keresztvédetség tesztjeihez a CMV-Trk7-, CMV-Sc- és CMV-Rs-izolátumokkal külön-külön fiatal *N. tabacum* cv. *Xanthi-nc* dohány-növények két-két alsó levelét inokuláltuk. Kontrollként egészséges növények leveleit csak pufferrel dörzsöltük be. Az előfertőzést követő 7. napon a inokulált levelek egyik felét a CMV-N-izolátummal inokuláltuk. A keresztvédezésre a CMV-N-izolátumra jellemző lokális léziók megjelenése vagy azok hiánya alapján következtettünk.

Vírus tisztítás

A vírus tisztításhoz a CMV-N-izolátumot *C. sativus* cv. *Delicatess* és *N. benthamiana*, a többi CMV-izolátumot *N. tabacum* cv. *Xanthi-nc* növényekben szaporítottuk fel. A tisztítást Lot és mtsai (1972) módszerét követve végeztük. A tisztított virionpreparátumokat -20°C -on tároltuk. A víruskoncentrációt spektrofotométer segítségével határoztuk meg.

Szerológiai vizsgálatok

A szerológiai vizsgálatokhoz a CMV To és D-szerotípusainak poliklonális nyúl antiszérumait (titerérték 1: 512–1024) dr. J. Devergne

állította elő és dr. Beczner László bocsátotta rendelkezésünkre 1978-ban. A vizsgálatokhoz Petri-csészében végzett kettős agargél immun-diffúziós módszert alkalmaztunk.

A CMV-N-izolátum köpenyfehérje (CP) gén bázissorrendjének meghatározása és összehasonlítása ismert CMV-köpenyfehérje gének elsődleges szerkezetében

A CMV-N izolátum tisztított preparátumból a genomi RNS-molekulákat a következő módszerrel tisztítottuk: 30 μg viriont 0,4 ml pufferben (40 mM Tris pH=8,5, 400 mM EDTA, 0,4% SDS) vettünk fel és azonos térfogatú fenollal, majd fenol-kloroformmal extraháltuk. Ezt követően az RNS-t 2,5-szeres térfogat etanollal kicsaptuk, 20-ad térfogat 5M Na-acetát hozzáadásával. A cDNS-szintézishez, illetve a PCR-reakcióhoz az I-es CMV-alcsoportra jellemző 5' véggel megegyező, valamint a 3' véggel komplementer oligonukleotid primereket terveztünk.

A PCR-terméket pUC19-es vektor Smal helyére klónoztuk Sambrook és mtsai (1989) módszerét követve. A cDNS-klón elsődleges szerkezetének meghatározásához annak 600 bázispár (bp) hosszúságú Hpal-Hind III, illetve 700 bp hosszúságú Hind III–Hind III fragmentjét tovább klónoztuk. A bázisszekvencia meghatározása Sanger és mtsai (1977) módszere szerint történt. A számítógépes szekvencia-analízis a GCG-programcsomag (Wisconsin Package Version 9.1) felhasználásával történt. A CP-aminosavszekvenciák homológiájának számításakor a proteinek hasonlósági értékeit (nem az aminosavak azonosságát) vettük alapul.

Eredmények és megvitatás

Gazdanövénykör és szimptomatológia

A CMV-N-izolátummal nyolc növény-családba tartozó növényfajok egyedeit inokuláltuk. Fogékonyságuk, illetve ellenállóságuk alapján a különböző növényfajok az alábbiak szerint osztályozhatók:

Immúnis növények: **Cruciferae:** *Brassica rapa*, **Leguminosae:** *Phaseolus vulgaris* cv.



1. ábra. A CMV-N-izolátum által okozott lokális léziók a *Nicotiana tabacum* cv. Xanthi-nc dohányfajtán

Red Kidney Solanaceae: *Nicotiana glutinosa*, *Solanum glaucophyllum*;

Lokálisan fogékony növények: **Amaranthaceae:** *Gomphrena globosa*, **Chenopodiaceae:** *Chenopodium amaranticolor*, *Ch. murale*, *Ch. quinoa*, **Leguminosae:** *Pisum sativum*, *Vicia faba*, *Vigna sinensis*, **Solanaceae:** *Atropa belladonna*, *Capsicum annum* cv. Javított Cecei, *C. chacoense*, *Cyphomandra abutiloides*, *Datura stramonium*, *D. innoxia*, *Hyoscyamus niger*, *Lycopersicon esculentum* cv. Primset, *Nicotiana mega-*



2. ábra. A CMV-N-izolátummal inokulált a *N. glutinosa*n ritkán előforduló nekrotikus léziók

losiphon, *N. debneyi*, *N. glutinosa* X *N. clevelandii*, *N. rustica*, *N. sylvestris*, *N. tabacum* cvs. Samsun, Xanthi-nc, *Petunia hybrida*, *Physalis alkekengi*, *Solanum giganteum*, *S. nigrum*, *S. dulcamara*; **Umbelliferae:** *Ammi majus*;

Lokálisan és szisztemikusan fogékony növények: **Chenopodiaceae:** *Spinacea oleracea*, **Cucurbitaceae:** *Cucumis sativus* L. cvs. Delicatess, Perez F1, **Apocynaceae:** *Cathartus roseus*, **Solanaceae:** *N. benthamiana*, *N. clevelandii*.

A CMV-N-izolátummal szemben csak lokálisan fogékony növények általában nekrotikus lokális léziókkal reagáltak (1. ábra). A léziók különösen gyorsan és nagy számban jelentek meg a *Nicotiana debney* és *N. rustica* dohányfajokon, a *D. stramonium*on, valamint a *G. globosán*. Az inokulált paprika- és paradicsomnövényeken lokális léziók nem minden esetben alakultak ki. A *Chenopodium* fajokon kialakuló léziók a CMV közönséges törzsei által okozott lézióknál nagyobb méretűek voltak.

A CMV-N-izolátummal szemben Wood és Coutts (1975) által ellenállónak talált *N. glutinosa* dohányfaj egyedeinek többsége az inokulációt követően tünetmentes maradt, annak ellenére, hogy azonos inokulációval bedörzsölt *N. debney* vagy *N. tabacum* növények levelein több száz lézió képződött. Néhány esetben azonban megfigyeltük, hogy a *N.*

glutinosa bedörzsölt levelein kis számban lassan kialakuló, majd fokozatosan elhaló léziók jelentek meg (2. ábra). Egy ilyen léziót a levélszövetből kivágtunk, 20 µl pufferrel homogenizáltuk és az inokulációval különböző teszt-növények leveleit dörzsöltük be. A *N. glutinosán* lokális léziót okozó vírusvonal az első passzálást követően a *N. glutinosa* és *N. tabacum* cv. Xanthi-nc növényeken nekrotikus és klorotikus léziókat, majd hosszabb inkubációs idő (2–3 hét) elteltével szisztemikus sárga mozaik tüneteket okozott.

A CMV-N-izolátumból származó vírusvonal tesztnövényeken a CMV-C-patotípusára emlékeztető tüneteket okozott.

A lokálisan és szisztemikusan fogékony növények többségén lokális léziók megjelenését, majd ezt követően súlyos, általában letális nekrotizist figyeltünk meg. Ez a típusú reakció különösen gyors volt a *N. benthamiana*-n. A *N. clevelandii* egyedei a csúcsnekrotizist gyakran túléltek, és új leveleik erős mozaikosodást és levéllekeskenyedést mutattak. Esetenként szár- és csúcsnekrotizist tapasztaltunk a *P. hybridán* is.

A CMV-vel szemben közismerten fogékony Delicatess uborkafajta jellegzetes reakciója a lokális léziókkal reagáló sziklevelek alatti szár gyors sárgulása és hervadása, a fiatal növény hipokotil részének spontán megtörése, a csúcsi levelek súlyos mozaikosodása, majd az egész növény elhalása volt. A CMV-vel szemben toleráns Perez F1 uborkahibriden ezzel szemben a lokális léziók kisebbek voltak, hipokotilelhalást nem tapasztaltunk, és a csúcsi leveleken a mozaiktünetek lényegesen enyhébbek voltak, mint a fogékony Delicatess fajtán.

A *Catharanthus roseus* inokulált levelein a CMV-N-izolátum lokális tüneteket a téli időszakban okozott (nekrotikus vonalak), szisztemikusan világoszöld-sötétzöld mozaikfoltos-

ságot idézett elő. A mozaiktünetek a nyári időszakban erősen maszkírozódtak.

A CMV-N-izolátum, valamint a CMV-B és CMV-C-patotípusaihoz tartozó korábban már identifikált izolátumok között jelentős szimptomatológiai különbségeket találtunk (1. táblázat).

Keresztvédetség

A CMV-Trk7- és CMV-Sc-izolátumok a Xanthi-nc dohány inokulált levelein a CMV-B-patotípusára jellemző pontozottan karcolatos koncentrikus nekrotikus gyűrűket, a CMV-Rs-izolátum a C-patotípusra jellemző klorotikus foltokat idéztek elő. A levelek felületének CMV-N-izolátummal történt ismételt inokulációja után lokális léziók csak az előzőleg vírussal nem inokulált kontrollnövények levelein alakultak ki (3. ábra).

Szerológiai vizsgálatok

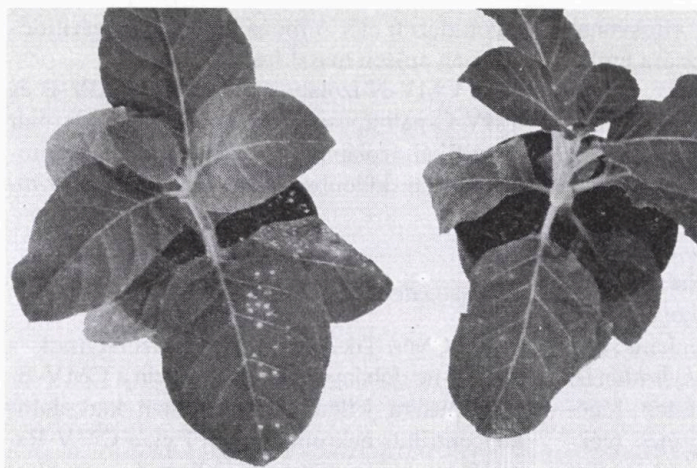
A CMV-N-izolátum kettős agargél immun-diffúziós tesztben a CMV-To és CMV-D-szerotípusai ellen készült antiszérumokkal egyaránt reagált. Kontroll antigének bevonásával (CMV-Trk7 és CMV-SnTz2) megállapítottuk, hogy a CMV-N a D-szerotípusba tartozik.

1. táblázat

Az uborka mozaik vírus (CMV) két fő törzscsoportjához tartozó izolátumai és a CMV-N-izolátum által különböző növényfajokon okozott tünetek

Növényfaj és -fajta	Vírusizolátumok		
	CMV-Trk7	CMV-SnTz2	CMV-N
<i>Capsicum annum</i>	kf/mo,lk*	kf/mo,lk	nll/o
<i>Chenopodium quinoa</i>	nll/o	nll/o	nll/o
<i>Cucumis sativus</i>	kf/mo	kf/mo	nll/smo,te
<i>Datura stramonium</i>	kf/mo,lk	kf/mo,lk	nll/o
<i>Lycopersicon esculentum</i>	o/mo,lk	kf/mo,lk	(nll)/o
<i>Nicotiana benthamiana</i>	kf/mo,lk	kf/mo,lk	nll/h,te
<i>N. clevelandii</i>	kf/mo,lk	kf/mo	nll/te(gy)
<i>N. glutinosa</i>	kf/mo,d	kf/mo	o/o (nf/mo)
<i>N. tabacum</i> cv. Xanthi-nc	ngy/ek,re	kf/ek,mo	nll/o
<i>Catharanthus roseus</i>	o/emo	o/emo	nsp/mo

Jelmagyarázat: / = a dőlt vonal előtt a lokális, utána a szisztemikus tüneteket tüntettük fel, () = ritkán előforduló tünetek, o = tünetmentes, kf = klorotikus foltok, mo = mozaik, lk = levéllekeskenyedés, nll = nekrotikus lokális léziók, ek = érkvilágosodás, te = teljes elhalás, gy = gyógyulás, d = deformációk, smo = súlyos mozaik, h = hervadás, ngy = nekrotikus gyűrűk, emo = enyhe mozaik



3. ábra. Keresztvédetség a CMV-N-izolátummal szemben a CMV-Sc-izolátummal inokulált dohányon. Lokális léziók csak a kontroll (pufferrel bedörzsölt) növény levelén alakulnak ki

A CMV-N köpenyfehérje gén bázis- és aminosavsorrendje

A CMV-N-izolátum RNS-3 genomi RNS-éről készült cDNS-klón bázisszekvenciáját a HpaI hasítóhelytől a 3' végéig a 4. ábra ismerteti. Ez a klón tartalmazza a 3a gén és a köpenyfehérje (CP) gén közötti intercisztronikus régiót, a köpenyfehérje (CP) gént és a 3' végen található nem transzlálódó régiót. A CP aminosavsorrendje átlagosan 98%-os homológiát mutat a CMV-I-es alcsoportjához tartozó, összesen 31 ismert (a génbankokban nyilvánított) CP-szekvenciájú izolátummal. A II-es alcsoportba tartozó izolátumokkal, melyek közül összesen 9-nek ismert a CP-aminosavsorrendje, az átlagos homológia 88%.

A CMV-N-izolátumnak vizsgálataink szerint, Fulton (1953), Wood és Coutts (1975), valamint más szerzők korábbi adataival egyezően, különleges patológiai tulajdonságai vannak. Gazdanövényköre eltér a CMV közönséges törzseinek gazdanövénykörtétől abban, hogy csak lokálisan fertőz számos, a közönséges törzsekkel szemben szisztemikusan is fogékony növényfajt (pl. *G. globosa*, *C. annuum*, *N. tabacum*). A lokálisan fogékony növények hiperszenzitív, nekrotikus lokális léziókkal reagáltak. *N. benthamiana* dohányfajon azonban, amelynek reakcióit a CMV-N-

izolátummal szemben eddig nem tanulmányozták, a nekrotikus léziók gyors megjelenése ellenére a CMV-N-izolátum következetes szisztemikus megbetegedést okozott. Vizsgálataink szerint a *N. clevelandii* a CMV-N-izolátummal szemben különösen fogékony, lokális léziókkal és szisztemikus csúcselhalással reagáló tesztnövény. Wood és Coutts (1975) a *N. glutinosát* a CMV-N-izolátummal szemben ellenállóknak találta. Kísérleteinkben a *C. roseus*-ban felszaporított vírusizolátum ritkán a *N. glutinosán* is lokális léziókat okozott, amelyekből kiindulva többszöri passzálás után e növényfajt, valamint a *N. tabacum* fajtákat is szisztemiku-

san fertőző vírust izoláltunk.

A CMV-B és CMV-C-patotípusokat reprezentáló két hazai CMV-izolátummal, valamint az irodalomban ismert más izolátumokkal is összehasonlítva (Pl. Hollings 1968, Marrou és mtsai 1975) a CMV-N-izolátum patológiai törzscsoportba nem sorolható. Fulton (1953) rövid közleményéből nem állapítható meg, hogy a CMV-N-izolátumot mint mutáns vírust melyik CMV-patotípushoz tartozó törzsből szelektálhatta. Nem tartjuk kizártnak, hogy a CMV-N-izolátumból általunk elkülönített, *N. glutinosát* és *N. tabacumot* fertőző víruskomponens a CMV-N szülőizolátumához közel álló vírusmutáns lehet.

A CMV-N-izolátummal szemben vizsgálataink szerint a CMV mindkét patotípusához tartozó izolátumok védelemet adtak a dohányon. A keresztvédelegési tesztek megerősítik Fulton (1953) eredményét, amely számára nyilvánvaló segítséget nyújtott a CMV-N-izolátum CMV-ként történő azonosításában.

A szerológiai vizsgálatok szerint a CMV-N-izolátum a CMV-D-szerotípussal közelebbi szerológiai rokonságot mutat, mint a CMV-To szerotípusához tartozó izolátummal. Az agar-gél immundiffúziós módszerrel végzett tesztek alapján a CMV-N-izolátum a CMV-D-szerotípusához (Devergne és Cardin 1973) tartozik.

949 ACGGTCCTTTAGCACTTTGGTGCGTATTAGTATATAAGTATTTGTGAGTCTGTACATAATA
 1009 CTATATCTATAGTTCCTGTGTGAGTTGATACAGTAGACATCTGTGACGCGATGCCGTGT
 1069 TGAGAAGGGAACACATCTGGTTTTAGTAAGCCTACATCATAGTTTTGAGGTTCAATTCCT
 1129 CTTACTCCCTGTTGAGTCCCTTACTTTCTCATGGATGCTTCTCCGCGAGATTGCGTTAT
 1189 TGTCTACTGACTATATAGAGAGTGTGTGTGCTGTGTTTTCTCTTTTGTGTCTGAGAATTG
 1249 AGTCGAGTCATGGACAAATCTGAATCAACCAGTGTGGTCGTAACCGACGTCGTCGTCGG
 M D K S E S T S A G R N R R R R P
 1309 CGTCGTGGTTCGCCCTCCGCCCTCTCCGCGGATGCTAACTTTAGAGTCTTGTGCGAG
 R R G S R S A P S S A D A N F R V L S Q
 1369 CAGCTTCGCGACTTAATAAGACGTAG...CTGGTTCGTCCTAACTATTAACCCACCAAC
 Q L S R L N K T L A A G R P T I N H P T
 1429 TTTGTAGGAGTGAACGCTGTAGACCTGGGTACACGTTACATCTATTACCCTAAAGCCA
 F V G S E R C R P G Y T F T S I T L K P
 1489 CCAAAAATAGACCGTGGGTCTTATTACGGTAAAAGGTTGTACTACCTGATTGAGTCAGC
 P K I D R G S Y Y G K R L L L P D S V T
 1549 GAATATGATAAGAAGCTTGTTCGCGCATTCAAATTCGAGTTAATCCTTTGCCGAAATTT
 E Y D K K L V S R I Q I R V N P L P K F
 1609 GATTCTACCGTGTGGGTGACAGTCCGTAAGTTCCTGCTCCTCGGACTTATCCGTTGCC
 D S T V W V T V R K V P A S S D L S V A
 1669 GCCATCTCTGCTATGTTTCGCGGACGGAGCCTCACCGTACTGGTTTATCAGTATGCCGCA
 A I S A M F A D G A S P V L V Y Q Y A A
 1729 TCTGGAGTCCAAGCCAACAACAACACTGTTGATGATCTTTCGGCGATGCGCGCTGATATA
 S G V Q A N N K L L Y D L S A M R A D I
 1789 GGTGATATGAGAAAAGTACGCCCTCCTCGTATTCAAAGACGATGCACTCGAGACGGAC
 G D M R K Y A V L V Y S K D D A L E T D
 1849 GAGCTAGTACTTCATGTTGACATCGAGCACCACCTATTCCCACATCTGGAGTGTCCCA
 E L V L H V D I E H Q R I P T S G V L P
 1909 GTCTGATCCGTGTTCCAGAAATCCTCCCTCCGATTTCTGTGGCGGACGTGAGTTGGCA
 V *
 1969 GTTCTGCTATAAAGTCTCTGAAGTCACTAAACGTTTTTTACGGTGAACGGGTTGTCCATC
 2029 CAGCTTACGGCTAAAATGGTCAGTCGTGGAGAAATCCACGCCAGCAGATTTACAAATCTC
 2089 TGAGGCGCCTTTGAAACCATCTCCTAGGTTTCTTCGGAAGGACTTCGGTCCGTGTACTCT
 2149 TAGCACAATGTCTAGTTTCAGGGTACGGGTGCCCCCCCACTTTCTGTGGGGTCTCCATA
 2209 AGGAGACCA

4. ábra. A CMV-N-izolátum köpenyfehérje gén bázissorrendje és a köpenyfehérje aminosavsorrendje

A CMV-N-izolátum köpenyfehérjéjén bázissorrendje és ennek alapján megállapított aminosavsorrend-homológiai alapján a vírus-izolátum a CMV I-es alcsoportba sorolható (Palukaitis és mstai 1992). E helyen szeretnénk utalni arra, hogy a tisztított CMV-N-virionból kivont RNS-molekulák között szatellit RNS jelenlétére utaló kis molekulatömegű RNS-t

nem találtunk. Ennek alapján kizárható, hogy különleges patológiai viselkedését a tüneteket befolyásoló szatellit RNS-ek jelenléte okozná. Jelenleg folyamatban vannak azok a vizsgálatok, amelyek pszeudorekombinációs vírusizolátumok előállítását követően tisztázhatják, hogy a különleges patológiai tulajdonságok a vírusgenomon melyik gén(ek)hez kapcsolhatók.

IRODALOM

- Beczner L., Salamon P., Molnár A. és Vassányi R.** (1978): Néhány cucumovírus hazai izolátumának szimptomatológiai és szerológiai jellemzése. Agrártudományi Közlemények, 38: 94.
- Devergne, J. C. et Cardin, L.** (1973): Contribution à l'étude du virus de la mosaïque concombre (CMV). IV. Essai de la classification du plusieurs isolats sur la base de leur structure antigenique. Ann. Phytopathol., 5: 409–430.
- Edvardson, J. R. and Christie, R. G.** (1997): Viruses Infecting Peppers and Other Solanaceous Crops. University of Florida. Monograph 18-I and II.
- Fulton, R. W.** (1953): Resistance in tobacco to cucumber mosaic virus infection. Phytopathology, 43: 472.
- Hollings, M., Stone, O. M. and Brunt, A. A.** (1968): Cucumber mosaic virus. In: Virology. Glasshouse Crops Res. Inst. Annu. Rep. for 1967. 95–97.
- Lot, R., Marrou, J., Quiot, J. B. and Esvan, J.** (1972): Contribution à l'étude de la virus de la mosaïque du concombre. (VMC). Méthodes de purification rapide du virus. Ann. Phytopathol., 4: 25–38.
- Marrou, J., Quiot, J. B., Marchoux, G. et Duteil, M.** (1975): Caractérisation par la symptomatologie de quatorze souches du virus de la mosaïque du concombre et de deux autres cucumovirus: tentative de classification. Meded. Fac. Landbouw. Rijksuniv. Gent, 40: 107–121.
- Palukaitis, P., Roosinck, M. J., Dietzgen, R. G. and Francki, R. I. B.** (1992): Cucumber mosaic virus. Adv. Virus Res., 282–348.
- Pochard, E.** (1979): Méthodes pour l'étude de la résistance partielle au virus du concombre chez le Piment. IIIrd Eucarpia Capsicum Meeting, Montfavet, France. 93–104.
- Richter, J.** (1983): Differenzierung von Stämmen des Gurkenmosaik-Virus (cucumber mosaic virus). Arch. Phytopathol. u. Pflanzenschutz, 19: 77–79.
- Ruskó, J.** (1994): Testing CMV resistance in cucumber varieties using a CMV-Fulton strain. Bull. of the Vegetable Crops Res. Inst. Kecskemét, 26: 111–114.
- Ruskó, J. and Csilléry, G.** (1980): Selection for CMV resistance in pepper by the method developed by Pochard. IVth Eucarpia Capsicum Meeting. Wageningen, 37–39.
- Salamon P.** (1989): Termesztett és vadon élő burgonyafélék vírusbetegségei és vírusai Magyarországon. II. Az uborka mozaik vírus (CMV) természetes gazdája a Solanaceae fajok körében. Növényvédelem, 25: 97–109.
- Sambrook, J. Fritsch, E. F. and Maniatis, T.** (1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual. 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY.
- Sanger, F., Niklen, S. and Coulson, A. R.** (1977): DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 74: 5463–5467.
- Szilassy, D., Salánki, K. and Balázs, E.** (1998): Molecular evidence for the existence of two distinct subgroups in cucumber mosaic cucumovirus. Submitted.
- Troutman, J. L. and Fulton, R. W.** (1958): Resistance in tobacco cucumber mosaic virus. Virology, 6: 303–316.
- Wood, K. R. and Coutts, R. H.** (1975): Preliminary studies on the RNA components of three strains of cucumber mosaic virus. Physiological Plant Pathol., 7: 139–145.

CHARACTERIZATION OF A NECROTIC STRAIN OF CUCUMBER MOSAIC VIRUS (CMV-N)

P. Salamon¹, Katalin Salánki², D. Szilassy² and E. Balázs²

¹Fitoteszt, Berkesz

²Agricultural Biotechnology Center, Gödöllő

A necrotic strain of cucumber mosaic virus (CMV-N), originally isolated as a chance mutant by Fulton (1953), was partially characterized by pathological and serological methods and by the nucleotide sequence of the coat protein gene. This isolate showed unusual pathological properties. Unlike the common B and C pathotypes of CMV, it infected a wide range of the *Solanaceae* species (viz. *Atropa*, *Capsicum*, *Datura*, *Nicotiana*, *Physalis* spp.) causing only necrotic lesions. *Nicotiana benthamiana* and *N. clevelandii* proved susceptible both locally and systemically. CMV-N caused large necrotic lesions on the cotyledon of the cucumber cultivar Delicatess (susceptible to the common strains of CMV), followed by hypocotyl necrosis, strong mosaic and death of the plants. On the CMV tolerant Hungarian hybrid, Perez F1, it induces small lesions and mosaic

symptoms. Rarely, the stock culture of CMV-N caused lesions on *N. glutinosa* plants, which were found earlier to be resistant to this isolate. From these lesions, a CMV strain probably a mutant of CMV-N- was isolated. This strain induced local and systemic symptoms on *N. tabacum* and *N. glutinosa*, similar to those caused by the common C pathotypes of CMV. Tobacco plants inoculated by the Hungarian isolates of CMV (CMV-Trk5,- Sc and Rs) were found to be protected against the infection of CMV-N.

According to the results of the double-gel immunodiffusion tests CMV-N was classified as member of the D serotype. The coat protein gene of CMV-N strain was sequenced and its primary structure was compared with all known CP sequences. This molecular study confirmed that the strain belongs to the subgroup I.

Érkezett: 1998. szeptember 25.

A Bayer Hungaria Kft. Növényvédőszer Főosztálya

dinamikusan fejlődő csapatába

NÖVÉNYVÉDELMI FEJLESZTŐ MÉRNÖKÖT

keres a Dunántúlra a következő feltételekkel:

- növényvédelmi szakmérnöki végzettség
- jó kapcsolatteremtő és kapcsolattartó képesség
- önálló munkavégzés
- B kategóriás jogosítvány
- kísérletek beállításában, értékelésében szerzett tapasztalat
- angol nyelvtudás
- számítógépes gyakorlat előny
- dunántúli állandó lakhely
- max. 40 éves kor

Fényképes, magyar és angol nyelvű önéletrajzát **1998. december 15-ig** az alábbi címre küldje:



Bayer Hungaria Kft. Növényvédőszer Főosztály

1012 Budapest, Pálya u. 4-6.