

DOKTORI (PHD) ÉRTEKEZÉS

Ágoston János

Gödöllő

2021



MAGYAR AGRÁR- ÉS
ÉLETTUDOMÁNYI EGYETEM

MAGYAR AGRÁR- ÉS ÉLETTUDOMÁNYI EGYETEM

Hagymás és gumós dísznövények Potyvírus fertőzöttségének
felmérése

DOI: 10.54598/000520

Ágoston János
Gödöllő

2021

A doktori iskola

megnevezése: **Kertészettudományi Doktori Iskola**

tudományága: Növénytermesztési és kertészeti tudományok

vezetője: Zámboriné Dr. Németh Éva, egyetemi tanár, MTA Doktora
Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Kertészettudományi
Intézet, Gyógy- és Aromanövények Tanszék

Témavezető: Dr. Palkovics László egyetemi tanár, MTA doktora
Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Növényvédelmi
Intézet, Növénykórtani Tanszék

.....
Az iskolavezető jóváhagyása

.....
A témavezető jóváhagyása

TARTALOMJEGYZÉK

1	BEVEZETÉS	5
2	CÉLKITŰZÉS	6
3	IRODALMI ÁTTEKINTÉS	7
3.1	Hagymás és gumós növények díszkertészeti jelentősége.....	7
3.2	A tulipán kertészeti, gazdasági és történeti jelentősége	8
3.3	A színtöréses tulipánok megjelenése	10
3.4	A tulipán színtörés kísérő tünetei	11
3.5	A <i>Potyvirus</i> nemzetség általános jellemzése	12
3.6	A tulipán színtöréshez köthető potyvírusok taxonómiája.....	13
3.7	Egyéb fontosabb hagymásokat megbetegítő potyvírusok	14
3.7.1	Nárciszról (<i>Narcissus</i>) azonosított vírusfajok.....	14
3.7.2	Lovagcsillagot (<i>Hippeastrum</i>) megbetegítő potyvirus	14
3.7.3	Káláról (<i>Zantedeschia</i>) azonosított vírusok.....	15
3.7.4	Gyöngyikéről (<i>Muscari</i>) közölt vírusok	15
3.7.5	Vetővirágról (<i>Sternbergia</i>) leírt virustünetek	16
3.8	A vírus rekombináció jelentősége	16
3.9	A Recombination Detection Program v4.97 elvi működése	18
4	ANYAG ÉS MÓDSZER	19
4.1	Mintavételezés	19
4.2	A vizsgálatok helyszíne	20
4.3	Vizsgálati módszerek.....	20
4.3.1	Szerológiai vizsgálat	20
4.3.2	Molekuláris azonosítás, össz-nukleinsav kivonás, RT-PCR	21
4.3.3	Laboratóriumi tesztnövények mechanikai inokulálása.....	22
4.3.4	Koch posztulátumok teljesülése.....	22

4.3.5	Nukleinsav hibridizáció	22
4.3.6	Elektronmikroszkópos vizsgálat.....	23
4.3.7	Ligálás, transzformálás, nukleotid sorrend meghatározás.....	23
4.3.8	Nukleotid sorrend elemzés	24
4.3.9	Filogenetikai elemzés	24
4.3.10	Rekombinációs események feltárása.....	25
5	EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK	27
5.1	Szerológiai vizsgálatok eredményei.....	27
5.2	A kórokozók molekuláris azonosításának eredményei	28
5.3	A tulipánt fertőző vírusok eloszlása Magyarországon, fajta preferencia	29
5.4	Kísérő tünetek leírása a mintázott növényekről	30
5.4.1	Tulipánon (<i>Tulipa</i>) megfigyelt kísérő tünetek.....	30
5.4.2	Nárciszon (<i>Narcissus</i>) megfigyelt kísérő tünetek.....	35
5.4.3	Kálán (<i>Zantedeschia</i>) megfigyelt kísérő tünetek.....	36
5.4.4	Gyöngyikén (<i>Muscari</i>) megfigyelt kísérő tünetek.....	37
5.4.5	Vetővirágon (<i>Sternbergia</i>) megfigyelt kísérő tünetek.....	39
5.5	Tesztnövények mechanikai inokulálásának eredményei.....	40
5.6	Elektronmikroszkópos vizsgálat eredményei	40
5.7	Hibridizációs vizsgálat eredményei.....	41
5.8	Koch posztulátumok teljesülésének eredményei.....	41
5.8.1	Gyöngyike (<i>Muscari</i>)	42
5.8.2	Tulipán (<i>Tulipa</i>).....	43
5.9	Filogenetikai elemzés eredményei	44
5.9.1	Tulipán (<i>Tulipa</i>).....	44
5.9.2	Nárcisz (<i>Narcissus</i>)	49
5.9.3	Kála (<i>Zantedeschia</i>).....	51
5.9.4	Gyöngyike (<i>Muscari</i>)	54
5.9.5	Vetővirág (<i>Sternbergia</i>).....	57

5.10	Rekombinációs vizsgálat eredményei.....	59
5.10.1	Liliom foltosság vírusban detektált rekombinációs események	61
5.10.2	Tulipán színtörés vírusban detektált rekombinációs események.....	66
6	ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK	70
7	ÖSSZEFOGLALÁS	72
7.1	Tulipán (<i>Tulipa</i>).....	72
7.2	Nárcisz (<i>Narcissus</i>).....	73
7.3	Kála (<i>Zantedeschia</i>).....	74
7.4	Gyöngyike (<i>Muscari</i>)	74
7.5	Vetővirág (<i>Sternbergia</i>).....	74
8	SUMMARY.....	76
8.1	Tulip (<i>Tulipa</i>)	76
8.2	Daffodil (<i>Narcissus</i>)	77
8.3	Calla (<i>Zantedeschia</i>).....	77
8.4	Grape hyacinth (<i>Muscari</i>).....	78
8.5	Autumn daffodil (<i>Sternbergia</i>).....	78
9	IRODALOMJEGYZÉK	79
10	MELLÉKLETEK.....	95
11	KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	99

JELÖLÉSEK, RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

- 3' UTR – 3' Untranslated Region (3' nem transzlálódó régió)
- AICc – corrected Akaike Information Criterion (korrigált Akaike információs kritérium)
- bp – bázispár
- cDNS – komplementer DNS
- CP – capsid protein (köpenyfehérje)
- DNS – deoxiribonukleinsav
- ELISA – enzyme-linked immunosorbent assay (enzimhez kötött ellenanyag-vizsgálat)
- HiMV – *Hippeastrum mosaic virus* (lovagsillag mozaik vírus)
- ICTV – International Comitee on Taxonomy of Viruses (A Vírustaxonómia Nemzetközi Bizottsága)
- kD – kilodalton, relatív molekulatömeg
- KoMV – *Konjac mosaic virus* (lepoárd kontyvirág mozaik vírus)
- LMoV – *Lily mottle virus* (liliom foltosság vírus)
- MChMV – Muscari chlorotic mottle virus (gyöngyike klorotikus foltosság vírus)
- ML – Maximum Likelihood
- mM – millimol
- MMV – Muscari mosaic virus (gyöngyike mozaik vírus)
- mU – milliunit (milliegység)
- NJ – Neighbor-Joining
- NLSYV – *Narcissus late season yellows virus* (nárcisz késői sárgulás vírus)
- ORF – Open Reading Frame (nyílt leolvasási keret)
- PCR – Polymerase Chain Reaction (polimeráz-láncreakció)
- PVY – *Potato virus Y* (burgonya Y vírus)
- RdRp – RNA dependent RNA polymerase (RNS függő RNS polimeráz)
- ReTBV – Rembrandt tulip-breaking virus (Rembrandt tulipán színtörés vírus)
- RNS – ribonukleinsav
- ssRNA – single stranded RNA (egyszálú RNS)
- TBBV – Tulip band breaking virus (tulipán szalagos virágszíntörés vírus)
- TBV – *Tulip breaking virus* (tulipán színtörés vírus)
- TEV – *Tobacco etch virus* (dohány karcolatos vírus)
- TTBV – Tulip top reaking virus (tulipán csúcs-színtörés vírus)
- TuMV – *Turnip mosaic virus* (tarlórépa mozaik vírus)

1 BEVEZETÉS

A hagymás és gumós növények kitarató képletei botanikai szempontból a szár vagy a levél speciális módosulása, melyek elsősorban tápanyag és víz raktározására szolgálnak, másod sorban pedig a növény vegetatív szaporodását segítik (JACOB és mtsai., 1985). Rendszertani szempontból polifiletikus csoportot képeznek.

Ezek a növények az évelők fogalmkörébe tartoznak, kertészeti szempontból igen jelentősek, gyakran a külföldi szakirodalmak is az évelőknél tárgyalják őket.

A hagymás és gumós növényeket szinte kizárólag vegetatív úton szaporítják ezért a vírusos betegségek előfordulása igen gyakori, jelentős növény-egészségügyi problémát okoznak, ugyanis a fertőzött növények semmilyen növényvédő szeres kezeléssel nem gyógyíthatók.

A növényeket nyugalmi állapotban szállítják, ezért a vírusokra jellemző mozaik, levél- és virágtüneteket csak néhány hónap elteltével lehet megfigyelni, amikor a vektorok már elterjeszthetik a környező haszonnövényeken, vagy gyomokon a kórokozót. A másik fontos szempont, hogy bizonyos vírusok látens formában jelennek meg a növényekben, így még nagyobb veszélyt jelentenek, egy esetlegesen új kórokozó behurcolásában.

A Potyvírus nemzetség a legfajgazdagabb és gazdaságilag legnagyobb kárt okozó növényeket fertőző vírusok csoportja, melyeknek többsége levéltetűvel, illetve mechanikailag vihető át.

Magyarországon korábban hagymás és gumós növények vírusbetegségeivel a Kertészeti és Élelmiszeripari Egyetem Növénykórtani Tanszék adjunktusa, dr. NÉMETHY ZSUZSANNA tanárnő foglalkozott a '90-es évek elején.

Az eltelt 25 évben a közös Európai Piac megnyílásával, valamint újabb és újabb hagymás növényfajok termesztésbe vonásával megnövekedett az esélye, hogy újabb vírusfajok kerüljenek be Magyarországra.

2 CÉLKITŰZÉS

A Potyvírus nemzetség tagjai a mezőgazdasági termelés minden ágában jelentős károkat okoznak. Az elmúlt években pedig világszerte újabb és újabb fajok kerültek leírásra az új generációs szekvenálási technológiáknak köszönhetően. Dolgozatomban szeretném feltérképezni a magyarországi hagymás növények potyvírus fertőzöttségét, kutatásom témái a következők:

1. Tulipán fajták fertőzöttségének felmérése az ország több pontján kerti és köztéri kiültetésekben. Szintörést okozó vírusfajok azonosítása, a vírus fajok országos eloszlásának és fajtapreferenciájának vizsgálata. Az azonosított izolátumok molekuláris jellemzése, filogenetikai és taxonómiai helyzetének vizsgálata, rekombinációs események keresése, valamint a vírustünetek megfigyelése Darwin-hybrid 'van Eijk' tulipánfajtán. Egyes természetes úton fertőződött növények tüneteinek végigkövetése a tenyésztésidőszakban.
2. Vágott virág előállítás céljából ültetett színes kálák vírusfertőzöttségének felmérése. A kórokozó izolálása, molekuláris és taxonómiai jellemzése. A fertőzött növények esetében a tünetek végigkövetése a tenyésztésidőszakban.
3. Hajtatott cserepes nárciszok vírusfertőzöttségének felmérése. A kórokozók izolálása, molekuláris és taxonómiai jellemzése. Egyes fertőzött növények esetében a tünetek végigkövetése a tenyésztésidőszakban.
4. Gyöngyike szaporítóanyag előállító ültetvény vírusfertőzöttségének felmérése. A kórokozók izolálása, molekuláris és taxonómiai jellemzése. A fertőzött növények esetében a tünetek végigkövetése a tenyésztésidőszakban.
5. Egyéb hagymás dísnövények vírusfertőzöttségének felmérése. A kórokozók izolálása, molekuláris és taxonómiai jellemzése. Egyes fertőzött növények esetében a tünetek végigkövetése a tenyésztésidőszakban.

3 IRODALMI ÁTTEKINTÉS

3.1 Hagymás és gumós növények díszkertészeti jelentősége

Hagymás növényeken hagyma, a gumós növényeknek gumó kitartóképle van. A hagyma a levél, a gumó a hajtástengely megvastagosásával jön létre. Sem botanikailag, sem pedig filogenetikailag nem képeznek egységes csoportot. A kitartó képletek konvergens evolúció eredménye képpen alakultak ki rendszertanilag távol eső taxonokban (BAARDSE és KRABBENDAM, 1967; BRYAN, 2002, 2005; DE HERTOIGH és LE NARD, 1993a; HESSAYON, 1997; JACOB és mtsai., 1985; KAMENETSKY és OKUBO, 2013; KOMISZÁR, 2003; PILLER és BÁNHIDI, 2005).

Ezek a növények az évelők fogalmkörébe tartoznak, kertészeti szempontból igen jelentősek, gyakran a külföldi szakirodalmak is az évelőknél tárgyalják őket (JELITTO és mtsai., 1995). Fontosabb hagymás és gumós taxonok: *Allium*, *Anemone*, *Begonia* × *tuberhybrida*, *Canna*, *Chionodoxa*, *Crocus*, *Dahlia*, *Gladiolus*, *Hippeastrum*, *Hyacinthoides*, *Hyacinthus*, *Iris*, *Lilium*, *Muscari*, *Narcissus*, *Nectaroscordum*, *Puschkinia*, *Scilla*, *Tulipa*, *Zantedeschia* fajok és ezek hibridjei (Voorlopige statistiek Gladiool 2019 per groep, 2020; Voorlopige statistiek Lelie 2019 per groep, 2019; Voorlopige statistiek voorjaarsbloeiers 2019-2020 per groep, 2020; Voorlopige statistiek *Zantedeschia* 2019 per groep, 2019).

A hagymás és gumós növények népszerűsége visszavezethető könnyű kezelhetőségükre, természetességükre, vázatartósságukra, jó időzítettségükre, valamint nyugalmi állapotban rendkívül gazdaságosan szállíthatók igen nagy távolságokra.

Sajnos Magyarországról nincs pontos és megbízható adat a hagymás és gumós növények termőterületéről, illetve nincs egységesen megállapítva, hogy mely növényi nemzetségek tekinthetők hagymás növényeknek. Magyarországon a '70-es évektől egészen a '90-es évek végéig több tíz hektáron folyt virághagyma termesztés, főként Szeged-Makó-Kistelek környékén, ám mára ez szinte teljesen megszűnt, az állomány a vírusbetegségek miatt leromlott, illetve a holland import minősége megbízhatóbb volt.

Legrészletesebb statisztikát a Hollandoknál találhatunk. A virághagyma termeszítőket felölelő termelői egyesület (Koninklijke Algemeene Vereeniging voor Bloembollencultuur (KAVB)), az őket ellenőrző hatóság (Bloembollenkeuringsdienst (BKD)) valamint a Kertészeti Termelők Nemzetközi Szövetsége (International Association of Horticultural Producers (AIPH)) által kiadott statisztikai adatok alapján 2018-ban Hollandiában körülbelül 10 milliárd darab hagymás növényt állítottak elő, több mint 21860 ha-on. Ezzel Hollandia birtokolja a világ virághagyma termőterületének 60,6%-át, így ők a világ „virághagyma nagyhatalma”. A második legnagyobb termeszítő az Egyesült Királyság 7100 ha-ral, ezt követi Kína 2640 ha-ral, USA 2510

ha-ral, és Franciaország 1130 ha-ral. Jelentős termelők még Japán, Németország, Belgium, Törökország és Dánia. Így az EU-ban közel 30530 ha-on termesztnek virághagymát, a világ hagymatermesztő területének 84,6%-a itt található (INTERNATIONAL ASSOCIATION OF HORTICULTURAL PRODUCERS (AIPH), 2018; Voorlopige statistiek Gladiool 2018 per groep, 2018; Voorlopige statistiek Lelie 2018 per groep, 2018; Voorlopige statistiek voorjaarsbloeiers 2018-2019 per groep, 2019; Voorlopige statistiek *Zantedeschia* 2018 per groep, 2018).

Ezeket a növényeket gyakorlatilag vegetatív úton szaporítják így a vírusos betegségek előfordulása igen gyakori, és jelentős növény-egészségügyi problémát okoz, ugyanis a fertőzött növények semmilyen növényvédő szeres kezeléssel nem gyógyíthatók. Egyedüli védekezési mód a megelőzés, a vektorok elleni védekezés, illetve GMO növények előállítás, ahol erre jogi lehetőség van (ÁGOSTON, 2010).

A növényeket nyugalmi állapotban szállítják, ezért a vírusokra jellemző mozaik, levél- és virágtüneteket csak néhány hónap elteltével lehet megfigyelni, amikor a vektorok már elterjeszthetik a környező haszonnövényeken, vagy gyomokon a kórokozókat. A másik fontos szempont, hogy bizonyos vírusok látens formában jelennek meg a hagymás növényekben, így még nagyobb veszélyt jelentenek, egy esetlegesen új kórokozó behurcolásában (ÁGOSTON, 2010).

Annak ellenére, hogy gazdaságilag jelentős növényekről van szó, és a szaporításmód kedvez a vírusos betegségek fellépésének és a kórokozók terjedésének, a terület kevésbé kutatott. Ez részben azzal magyarázható, hogy bár jelentős gazdasági növények, a diverzitás igen nagymértékű, jelenleg a KAVB adatbázisában 24410 hagymás növényfajta és fajta tartanak számon (KONINKLIJKE ALGEMEENE VEREENIGING VOOR BLOEMBOLLENCULTUUR (KAVB), 2021). Magyarországon a főbb hagymás növények növényvédelméről a '70-es, '80-as és '90-es években íródott irodalmak érthetők el: BÁLINT és mtsai., 1978; GLITS és FOLK, 2001; NÉMETHY, 1990, 1992, 1994a, 1994b. A szortiment bővülése miatt termesztésbe vont új nemzetségek termesztéstechnológiájával, tápanyag utánpótlásával és növényvédelmével foglalkozó magyar nyelvű irodalom nem áll rendelkezésre.

3.2 A tulipán kertészeti, gazdasági és történeti jelentősége

A tulipán gazdaságilag a legjelentősebb hagymás növény a világon (JELITTO és mtsai., 1995; MCGOVERN és ELMER, 2018; MOWAT, 1995), és Magyarországon (HONFI és mtsai., 2014; NÉMETHY, 1994b; SCHMIDT és mtsai., 2000). 2018-ban a második legkeresettebb vágott virág volt a holland virágtőzsdéken, népszerűségét csak a rózsza múlta felül (INTERNATIONAL ASSOCIATION OF HORTICULTURAL PRODUCERS (AIPH), 2018).

A tulipánt, mint dísnövényt elsőként CAROLUS CLUSIUS (1576) írta le, később LIPPAY JÁNOS Posoni Kert című munkájában említi (1753). A tulipánok a *Tulipa* nemzetségbe tartoznak

(BRYAN, 2002; JELITTO és mtsai., 1995), jelenleg 102 elfogadott faj (WCSP, 2020) és több, mint 6700 hibridje létezik (KONINKLIJKE ALGEMEENE VEREENIGING VOOR BLOEMBOLLENCULTUUR (KA VB), 2021). A fajták túlnyomó többsége a *Tulipa gesneriana* faj hibridjei (BAARDSE és KRABBENDAM, 1967; BRYAN, 2002, 2005; HESSAYON, 1997; JELITTO és mtsai., 1995; KRABBENDAM és BAARDSE, 1966). A tulipánokat – ahogyan az összes többi hagymás növényt is – vegetatívan szaporítják és szabadföldi körülmények között nevelik. Kizárólag nemesítők és gyűjtők nevelik magról őket. A csírázástól az első virág megjelenéséig általában 6 év telik el (BAARDSE és KRABBENDAM, 1967; DE HERTO GH és LE NARD, 1993b; HOP, 2018; KRABBENDAM és BAARDSE, 1966), és jellemzően csírázástól 25 év kell ahhoz, hogy egy új fajta a piacon bevezetésre kerüljön (DE HERTO GH és LE NARD, 1993b; HOP, 2018).

A hosszú juvenilis fázis, a fajták kizárólagosan vegetatív úton történő felszaporítása az egyöntetűség és fajtaazonosság miatt, valamint a viszonylag alacsony vegetatív szaporodási ráta miatt a kultúra hajlamos a kórokozók felhalmozására és így a vírusos betegségek miatti leromlásra (MCGOVERN és ELMER, 2018). A termelők szaktudása, a termesztésre optimális időjárás és talajviszonyok miatt Hollandia lett a tulipán másodlagos géncentruma (BAARDSE és KRABBENDAM, 1967; BRYAN, 2002; JELITTO és mtsai., 1995; KRABBENDAM és BAARDSE, 1966; MCGOVERN és ELMER, 2018). Magyarországon a tulipán termesztés hőskora a '70-es és '80-as években volt (HONFI és mtsai., 2014; KOMISZÁR, 2003). Ebben az időszakban a magyar termelők tulipán hagymát exportáltak Hollandiába, mert nálunk a hagymák korábban értek be, így a preparálás hamarabb elkezdődhetett, és a holland hajtató kertészetek már december elejére ki tudták virágoztatni ezeket a hagymákat. Sajnos a magyar termelők szaktudásának hiányossága miatt, – mely főként a vírusos tünetek felismerésében és a szigorú szelekció hiányában nyilvánult meg – valamint a tenyészidőszakban magas levéltetű nyomás miatt ezek az állományok hamar leromlottak, a termelés rohamosan csökkent, majd megszűnt (KOMISZÁR, 2003). Ma már minden tulipánt Hollandiából importálunk (HONFI és mtsai., 2014; SCHMIDT és mtsai., 2000), ahol a termelőknek szigorú növény-egészségügyi vizsgálatokon kell átesniük, ha EU-n kívüli harmadik országba szeretnének exportálni (Uitvoeringsrichtlijn *Tulipa* 2014, 2014). Sajnos 2018. szeptembere óta az EU-ban végfelhasználásra kerülő virághagymák szabadföldi szemléjét az ottani hatóság megszüntette. Egyedüli elvárás, hogy összesen legfeljebb 5% láthatóan penészes, legfeljebb 1%-ban uborka mozaik vírussal (*Cucumber mosaic virus*, CMV) és legfeljebb 1%-ban lehet dohány nekrosis vírussal (*Tobacco necrosis virus*, TNV) fertőzött a piacra kerülő virághagyma (Uitvoeringsrichtlijn *Tulipa* 2018, 2018).

A tulipán termesztés egyik legfontosabb mozzanata a vírusok elleni védekezés. Hollandiában a beteg tövek szelekcióját virágzás előtt és alatt 2-3 naponta végzik, virágzás után pedig heti 1-2 alkalommal. A vírustünetes növények megsemmisítését eddig csak jól képzett

dolgozók végezheték, ám ők sem találják meg a beteg növények 100%-át. Ez a leginkább munkaerőigényes feladat, hiszen a többi lépés már gépesített (DE GEUSS, 2017). Ezért vírusfertőzést felderítő önjáró robotokat kezdtek el fejleszteni. Egyelőre még csak kísérleti stádiumban vannak ezek a gépek, de már biztató eredményekről számolnak be a kutatók (VAN DER LEE, 2019; POLDER és mtsai., 2010, 2012, 2014, 2019; VAN DER VEER, 2019; ZEVENBERGEN, 2019).

3.3 A színtöréses tulipánok megjelenése

A XVII. század eleji leírásokban találkozunk először a tulipán színtöréssel. A színtöréses tulipánok leplein különféle mintázatok és színvariációk keletkeztek, melyek akkoriban nagyon népszerűek voltak. A korabeli arisztokrata osztály előszeretettel gyűjtötte ezeket a tulipánokat, mely státusszimbólummá vált (BAARDSE és KRABBENDAM, 1967; KRABBENDAM és BAARDSE, 1966), később pedig a tulipán mániát (Tulipomania) okozta (BRYAN, 2002; BYTHER és CHASTAGNER, 1993; DENNIN, 2019; HOOG, 1933; JELITTO és mtsai., 1995; LESNAW és GHABRIAL, 2000; MOELLING, 2016; MOWAT, 1995; POLLAN, 2001). A kor híres festői is szívesen örökítették meg ezeket a különleges virágokat, erre példa REMBRANDT VAN RIJN *Flora* (1634) című alkotása, magyar festők közül pedig BOGDÁN JAKAB munkája érdemel említést. Később pont REMBRANDT munkásságának hatására a színtöréses tulipánokat Rembrandt tulipánoknak nevezték el, ezáltal kronológiailag a második, de minden más szempontból a legelső jól dokumentált növényi vírusos megbetegedés lett (BOS, 1995). Akkoriban a holland termesztők még nem ismerték a tudományos hátterét a színtörésnek, de rájöttek, hogy a tünetes hagyma egy darabját ha beoltják egy egészséges, egyszínű virágú fajta hagymájába, akkor a színtörés átvihető (BOS, 1995; HOOG, 1933; LESNAW és GHABRIAL, 2000; VALVERDE és mtsai., 2012). A kutatást DOROTHY M. CAYLEY karolta fel újra 1928-ban. Megfigyelte, hogy a színtöréses fajták levelein szabálytalan vonalas mintázottság és foltosság látható, ami vírusfertőzésre utal. Cikkeiben tovább jellemzi a kísérő tüneteket: a színtöréses növények növekedésben visszamaradnak, törpülnek, gyökérzetük kevésbé fejlett, de még néhány évig vegetatívan tovább szaporíthatók, mielőtt jelentősen leromlana az állomány. Teszteli a „hagyma oltásos” módszert, ami alapján megállapítja, hogy a kórokozó fertőző (CAYLEY, 1928a, 1928b, 1932). A virológus társadalom ezt tekinti a tulipán színtörés vírus (*Tulip breaking virus*, TBV) első hivatalos leírásának (BRUNT, 1996). Később DUFRÉNOY vizsgálta a fertőzött növények leveleinek sejttani sajátosságait, és felfedezte, hogy a beteg sejtek sejtmagjának környékén vakuólumok találhatóak, ami pedig a potyvírusokra jellemző szélkerék alakú zárványtestek első leírásának számít (DUFRÉNOY, 1931).

3.4 A tulipán színtörés kísérő tünetei

A növényi virológia tudományának kezdetén a vírusokat az okozott tünetek és a gazdanövények alapján csoportosították és nevezték el, ami később sok zűrzavart okozott. Ahogyan a molekuláris technikák fejlődtek és lehetővé vált a nukleotid sorrend meghatározás a zűrzavar egy része kitisztult.

A tulipán színtörés (másnéven tulipán mozaik) szabálytalan lángnyelv-, és tollszerű mintázatot okoz a virágokon, a leveleken pedig mozaik tünetek látszanak (VALVERDE és mtsai., 2012). A legtöbb angol, holland és magyar szakirodalom egyetlen egy kórokozóra, a tulipán színtörés vírusra vezeti vissza a betegséget (BAARDSE és KRABBENDAM, 1967; BÁLINT és mtsai., 1978; GLEASON és mtsai., 2009; GLITS és FOLK, 1993, 2001; HÁMORI, 2006; KRABBENDAM és BAARDSE, 1966; NÉMETHY, 1990, 1992, 1994a, 1994b).

Más tünetek, mint például a csúcs-színtörés (Tulip top breaking virus) és szalagos virág színtörés (Tulip band breaking virus) külön vírusfajként kerültek leírásra, mindkettőnek a tulipán és liliom volt a kizárólagos gazdanövénye (DEKKER és mtsai., 1993).

Minden tulipánon színtörést okozó vírus levéltetvekkkel nem perzisztens módon terjed, átvihetők még szövetnedvvel és vegetatív szaporítással is. A tünetek jellemzően virágzás előtt, vagy alatt jelennek meg, ritkán virágzás után is láthatóak. A fajták érzékenysége és a kialakult tünetek, valamint a tünetek erőssége nagyon változó. Néhány fajta csak bizonyos típusú tüneteket mutat. A tünetek a tenyészidőszaknak csak egy rövid ideje alatt jelentkeznek, melyek szárazság, meleg és párás időjárás, valamint a növények intenzív növekedése alatt maszkírozódhatnak (DE BEST és mtsai., 2000). A tenyészidőszakban megfertőződött növények csak a következő évben mutatnak tüneteket (DE BEST és mtsai., 2000; DEKKER és mtsai., 1993; VALVERDE és mtsai., 2012), hasonlóan a nárciszt megbetegítő vírusokhoz (MOWAT és mtsai., 1988). Kihajtáskor a növények levelei mereven felfelé állnak, torzulnak, vagy szivar szerűen sodródhatnak, gyakran az egészségestől kisebbek (DE BEST és mtsai., 2000; BLOEMBOLLENKEURINGSDIENST (BKD), 2010a, 2019; NÉMETHY, 1990, 1994b). Néhány fajta esetében megfigyeltek lilásbordó, vagy sötét és világos zöld csíkozást a levél szélénél a fonáki oldalon. Ezek a tünetek csak átmenetiek, hamar kifakulnak, vagy maszkírozódnak, ahogy a növények intenzíven növekedni kezdenek. A virágzás kezdetén, vagy elvirágzás után a leveleken megjelenik a tipikus csíkos, vagy gyűrűs mozaik (DE BEST és mtsai., 2000; BLOEMBOLLENKEURINGSDIENST (BKD), 2010a, 2019; NÉMETHY, 1990, 1994b, 1994a). A fertőzött növények hamarabb vonulnak nyugalomba, mint az egészségesek (DE BEST és mtsai., 2000). A Darwin-hibridek esetében és az Egyéb fajtacsoportba tartozó fajták (VAN SCHEEPEN, 1996) esetében a levéltünetek a virágzás idejére teljesen maszkírozódnak. A virágszáron virágzás előtt rövid ideig lilásbordó, világos, vagy sötétzöld elmosódott szélű

csíkozottság látható. A virágbimbók és a virágszár kisebb, a leplek nem csukódnak be szabályosan. Fehér, krém és sárga virágú fajtáknál a zöld bimbó állapot tovább tart, a bimbó sötétebb, vagy szürkésebb árnyalatú, a kinyílt virág kissé deformált. A lepel csúcsa kicsípelt, hullámos, fodros, befelé hajló, vagy görbült. A beteg növény virága felülről nézve estére nem csukódik be szabályosan (DE BEST és mtsai., 2000). A színtörés mintázata, a színváltozás típusa és kontrasztja fajtafüggő (DE BEST és mtsai., 2000; BLOEMBOLLENKEURINGSDIENST (BKD), 2010a, 2019). Fehér, krém és sárga virágú fajtáknál a lepleken nem színtörést látunk, hanem fényes foltokat, melyek szabadföldi körülmények között nehezen észrevehetőek. Ilyen fajták esetében az idegenelésnél (fajtaidegen és fertőzött tövek eltávolítása) fontos segítség a virágtorzulás és a bibe színváltozása. Zöld bibéjű fajták esetében a bibe kivilágosodik, világos bibéjűek esetében pedig kifehéredik. Piros virágú fajtáknál a zöld termőkön pirosas fedőszín alakulhat ki. Minden esetben a színváltozás a virágzás előrehaladtával erősödik. A beteg növények virágzása elnyúlik. A Holland szakirodalom szerint a tüneteket a tulipán színtörés vírus (*Tulip breaking virus*, TBV), a lilium foltosság vírus (*Lily mottle virus*, LMoV), a tarlórépa mozaik vírus (*Turnip mosaic virus*, TuMV) és a Rembrandt tulipán színtörés vírus (Rembrandt tulip-breaking virus, ReTBV) okozhatja (DE BEST és mtsai., 2000). Mind a 4 vírus jelenleg is tagja, vagy volt tagja a *Potyviridae* családnak, ezen belül pedig a *Potyvirus* nemzetségnek (DE BEST és mtsai., 2000; DEKKER és mtsai., 1993).

Egyéb vírusok, mint az *Arabid mosaic virus*, *Cucumber mosaic virus*, *Lily symptomless virus*, *Tobacco necrosis virus*, *Tobacco rattle virus*, *Tulip severe mosaic virus*, *Tulip virus X* is okozhatnak színtörést, de ezek tünetei jelentősen eltérnek a virágon és a levélen a potyvírusokétól (DE BEST és mtsai., 2000; HÁMORI, 2006; MCGOVERN és ELMER, 2018; NÉMETHY, 1990, 1992, 1994b; SASTRY és mtsai., 2019; VALVERDE és mtsai., 2012).

3.5 A *Potyvirus* nemzetség általános jellemzése

A *Potyvirus* nemzetség tagjai osztatlan genomú, pozitív értelmű (szenz) egyszálú RNS (+ssRNA) vírusok (BRUNT, 1995a, 1996; KING és mtsai., 2011). A virion burok nélküli, fonál alakú, hajlékony, 11-13 nm átmérőjű, 680-900 nm hosszúságú, kizárólag növényeket fertőznek. A vírusgenom körülbelül 10 000 bp hosszúságú, amelyet mintegy 2000 köpenyfehérje alegység (capsid protein, CP) burkol (BRUNT, 1995a; KING és mtsai., 2011; RIECHMANN és mtsai., 1992). A virionok 5% nukleinsavat és 95% fehérjét tartalmaznak (BRUNT, 1995a; VAN REGENMORTEL és mtsai., 2000). A vírus RNS 5' vége genomhoz kovalens kötéssel kapcsolt proteint (viral protein genome-linked, VPg) hordoz, a 3' vége pedig poliadenilált (PolyA). A genom két nyílt leolvasási keretet (open reading frame, ORF) tartalmaz, a nagyobb ORF-ről megközelítőleg 3000 aminosav hosszú, 340-370 kD tömegű poliprotein prekuzort kódol. Ezt a vírus által kódolt három proteináz (P1-Pro, HC-Pro és NIa-Pro) hasítja funkcionális fehérjékre (BRUNT, 1995a; KING és mtsai., 2011;

URCUQUI-INCHIMA és mtsai., 2001). A második rövidebb ORF a vírusgenom P3 fehérjét kódoló régiójába ágyazódott, a poliproteinhez képest +2 leolvasási keretben található, melyet P3N-PIPO-nak (pretty interesting *Potyviral* ORF) neveztek el, mely a *Potyviridae* családban konzerváltnak bizonyult és a vírus sejtről sejtre történő mozgásában van szerepe (CHUNG és mtsai., 2008; KING és mtsai., 2011; NIGAM és mtsai., 2019).

A potyvírusok levéltetvekkel nem perzisztens módon terjednek, de átvihetők növénynedvvel és vegetatív szaporítással is (GLITS és FOLK, 2001; KING és mtsai., 2011; NIGAM és mtsai., 2019). A nemzetség fajai körülbelül 6600-7250 éve terjedhettek el a világon, köszönhetően a mezőgazdasági növényi szaporítóanyag mozgásnak (GIBBS és mtsai., 2008; NIGAM és mtsai., 2019; OHSHIMA, 2012). Egyes kutatók azt feltételezik hogy a potyvírusok egy DNy-Európában, vagy É-Afrikában élő egyszikűeket fertőző vírustól fejlődtek ki (OHSHIMA, 2012).

A *Potyvirus* nemzetség egyes tagjai gazdaságilag a legjelentősebb vírusfajok, valamint ez a legfajgazdagabb fitopatogén vírusnemzetség (AWASTHI, 2020; GIBBS és mtsai., 2020; REVERS és GARCÍA, 2015; WARD és SHUKLA, 1991). A nemzetségbe tartozó fajok jellemzően mono-, vagy oligofágok, de például a *Bean yellow mosaic virus* és a tarlórépa mozaik vírus polifágok, egy- és kétszikű gazdanövényeket is képesek megfertőzni (BRUNT, 1995a; KING és mtsai., 2011).

3.6 A tulipán színtöréshez köthető potyvírusok taxonómiája

A lilium foltosság vírust (LMoV) először 1993-ban, majd 1996-ban említik ezen a néven (BRUNT, 1996; DEKKER és mtsai., 1993), faj szintre 2000-ben emelték (VAN REGENMORTEL és mtsai., 2000).

A Rembrandt tulipán színtörés vírust (ReTBV) először 1995-ben emelték faj szintre (MURPHY és mtsai., 1995), de az ICTV FT2003.021P.01. gyorsított javaslata alapján feltételesen fogadták be a nemzetségbe, mert csak egy részleges köpenyfehérje gén nukleotid sorrend állt akkor rendelkezésre (ICTV REPORT CONSORTIUM, 2003), melyet 2004-ben ratifikáltak (MAYO, 2005).

A tulipán szalagos színtörés vírust (TBBV) 1995-ben emelték faj szintre (MURPHY és mtsai., 1995), melyet 2000-ben eltöröltek (VAN REGENMORTEL és mtsai., 2000), a lilium foltosság vírus szinonimája lett az FT2003.020P.01. (ICTV REPORT CONSORTIUM, 2003) gyors javaslat alapján. A javaslat szerint nem jogosult a faj minősítésre, mert nagyon magas a nukleotid sorrend azonosság a lilium foltosság vírussal. Más irodalmak a tulipán színtörés vírus lilium törzseként is említik (HORST, 2013), helytelenül.

A tulipán színtörés vírus (TBV) (BRUNT, 1996; MOWAT, 1995) mechanikailag (MCGOVERN és ELMER, 2018) és levéltetvekkel nem perzisztens módon átvihető (ADAMS, 2006; BRIERLEY és MCKAY, 1938; BRUNT, 1996; GLITS és FOLK, 1993, 2001; MCKAY és mtsai., 1929;

MOWAT, 1995; VALVERDE és mtsai., 2012). Fajként 1976-ban fogadták el (FENNER, 1976), de az első teljes köpenyfehérje gén nukleotid sorrendet csak 1994-ben publikálták (OHIRA és mtsai., 1994).

A tulipán klorotikus folt vírust (Tulip chlorotic blotch virus) (BRUNT, 1996; MOWAT, 1995) 2000-ben beolvasztották a tarlórépa mozaik vírusba (VAN REGENMORTEL és mtsai., 2000).

A tulipán mozaik vírust (*Tulip mosaic virus*) (BRUNT, 1996) 2005-ben emelték faj szintre (FAUQUET és mtsai., 2005).

A tulipán csúcs-szintörés vírust (Tulip top breaking virus) faj szintről az újabb információk alapján 1993-ban a tarlórépa mozaik vírus törzsévé nyilvánították (DEKKER és mtsai., 1993). Tulipánban nem gyakori. 2002-ben Hollandiában egy 'Arma' táblában találta meg a holland hatóság. A virágokon nem a tipikus csúcs-szintörést okozta, hanem fehér csíkozottságot, a lombon keskeny, világos és sötétzöld csíkos mozaik látszott. A tábla mellett brokkolit termesztettek, ami tarlórépa mozaik vírussal volt fertőződve. Feltételezések szerint levéltetvek vitték át a vírust a brokkoliról a tulipánra (BLOEMBOLLENKEURINGSDIENST (BKD), 2010b).

3.7 Egyéb fontosabb hagymásokat megbetegítő potyvírusok

3.7.1 Nárciszlól (*Narcissus*) azonosított vírusfajok

Nárciszlól több, mint 20 vírusfajt írtak le eddig a kutatók (BRUNT, 1995b; HANKS és CHASTAGNER, 2018; SASTRY és mtsai., 2019). Ezek közül a termésbiztonságot leginkább veszélyeztetők a potyvírusok: *Onion yellow dwarf virus* (BRUNT, 1995b; HANKS és CHASTAGNER, 2018), *Narcissus degeneration virus* (BRUNT, 1995b; CHEN és mtsai., 2007; HANKS és CHASTAGNER, 2018; OHSHIMA és mtsai., 2016; WARD és mtsai., 2009; WYLIE és JONES, 2012), nárcisz késői sárgulás vírus (*Narcissus late season yellows virus*, NLSYV) (BRUNT, 1995b; CHEN és mtsai., 2003; CHEN, J. és mtsai., 2006; HANKS és CHASTAGNER, 2018; HE és mtsai., 2019; MOWAT és mtsai., 1988), *Narcissus yellow stripe virus* (BRUNT, 1995b; CHEN és mtsai., 2003; CHEN, J. és mtsai., 2006; HANKS és CHASTAGNER, 2018; OHSHIMA és mtsai., 2016, 2018; WYLIE és JONES, 2012) és a *Vallota speciosa virus* (WYLIE és JONES, 2012).

3.7.2 Lovagsillagot (*Hippeastrum*) megbetegítő potyvírus

Lovagsillagról, vagy ismertebb nevééről amarilliszlól eddig egyetlen egy potyvírus írtak le a lovagsillag mozaik vírust (*Hippeastrum mosaic virus*, HiMV) (BAKARDJIEVA és DENKOVA, 1996; DERKS, 1995; PEARSON és mtsai., 2009; RUBLEVA és mtsai., 1990; WYLIE és JONES, 2012). DERKS szerint ezt a vírust nem lehet kimutatni a monoklonális MAb PTY1 (JORDAN és HAMMOND, 1991) antitest alapú ELISA kit-tel (1992). Ez a vírus valószínűleg oligofág, mert más trópusi

Amarillidaceae családkhoz tartozó fajról is leírták, mint például *Eucharis*-ről (ALEXANDRE és mtsai., 2011; JAYASHINGHE és DIJKSTRA, 1979; SASTRY és mtsai., 2019).

3.7.3 Káláról (*Zantedeschia*) azonosított vírusok

Káláról eddig 11 vírusfajt írtak le, ezek közül 6 a potyvírus nemzetségbe tartozik: *Calla lily latent virus* (CHEN, C. C. és mtsai., 2006a), *Dasheen mosaic virus* (CHEN, C. C. és mtsai., 2006b; GLEASON és mtsai., 2009; HU és mtsai., 2010; LESEMANN és WINTER, 2002; LUVISI és mtsai., 2016; PHAM és mtsai., 2002; VAN RIJN és mtsai., 1995; ZETTLER és HARTMAN, 1995), lepoárd kontyvirág mozaik vírus (*Konjac mosaic virus* syn. *Zantedeschia mosaic virus*) (CHEN, C. C. és mtsai., 2006b; HU és mtsai., 2010; LESEMANN és WINTER, 2002; PHAM és mtsai., 2002), lilium foltosság vírus (*Lily mottle virus*, LMoV) (LUVISI és mtsai., 2016), tarlórépa mozaik vírus (TuMV) (CHEN, C. C. és mtsai., 2006b; HU és mtsai., 2010) és *Zantedeschia mild mosaic virus* (CHEN, C. C. és mtsai., 2006b; HU és mtsai., 2010; HUANG és mtsai., 2007; LUVISI és mtsai., 2016). A tünetek nagyon változatosak, a növény törpülésétől, a levelek és a spátha torzulásán át a színtörésig széles palettán mozognak a kísérő tünetek. Egyetlen egy közös jellemzőjük a fenti vírusoknak, hogy mindegyik a levélen mozaik tünetet okoz.

3.7.4 Gyöngyikéről (*Muscari*) közölt vírusok

Jelenleg a tudomány egyetlen potyvírust ismer el, ami gyöngyikéket képes fertőzni, a jácint mozaik vírust (*Hyacinth mosaic virus*, HyaMV) (ALEXANDRE és mtsai., 2017; DE BEST és mtsai., 2000; DERKS és VINK-VAN DEN ABEELE, 1980; PHAM és mtsai., 2011). A kísérő tünetek világos, vagy sötét zöld mozaikként, vagy flekként jelentkeznek. A fajták néha csak rövid ideig mutatnak tünetet a tenyészidőszakban (DE BEST és mtsai., 2000).

2001-ben Litvániából írtak le egy újabb potyvírust, a gyöngyike mozaik vírust (*Muscari mosaic virus*), melyet a következő kísérő tünetekkel jellemeztek: sárgászöld foltok és csíkozottság a levélen, a levél középvezetékében nekrosis, a levél keskenyedek, torzul. A vírust *Muscari armeniacum*-ról, *M. botryoides*-ről, *M. aucheri*-ről (syn. *M. tubergenianum*) és *Pseudomuscari pallens*-ről (syn. *M. pallens*, *Hyacinthella pallens*, *Bellevalia pallens*) írták le. Fertőzési kísérleteik alapján *Chenopodium murale*-n, *C. quinoa*-n és *Tetragonia expansa*-n klorotikus lokális léziókat figyeltek meg, elektronmikroszkópos vizsgálataik alapján a víruspartikulumok 710 nm hosszúak, fonál alakúak, hajlékonyak (NAVALINSKIENÉ és SAMUITIENÉ, 2001). Szerológiai vizsgálatot nem végeztek, valamint nukleotid sorrendet sem közöltek, így az ICTV 8. jelentésében a faj semmilyen formában nem szerepel (FAUQUET és mtsai., 2005).

Később, 2011-ben egy újabb említése történik a vírusnak, egy potenciálisan új potyvírus fajként, ami gyöngyikét képes fertőzni, de csak nukleotid sorrend áll rendelkezésre a GenBank-ban (továbbiakban adatbázis) (EU042752) (PHAM és mtsai., 2011). Ideiglenesen a *Muscari mosaic*

vírus (gyöngyike mozaik vírus) tudományos nevet adták neki, melyet az ICTV 9. jelentésében feltételesen fogadott el (KING és mtsai., 2011). Ugyan ebben az évben CHIANG és CHEN újabb nukleotid sorrendet tett elérhetővé az adatbázisban (HQ400612), ami 98,99% azonosságot mutat az EU042752 azonosítójú gyöngyike mozaik vírussal (CHIANG és CHEN, 2011).

3.7.5 Vetővirágról (*Sternbergia*) leírt vírustünetek

Összesen egy irodalmi említés található *Sternbergia lutea* vírusfertőzöttségéről, melyet feltételezhetően potyvírus okozott.

A beteg növény levele zöld – sárga csíkos mozaikot mutatott. A beteg növény leveléből és a fertőzött, tünetes *Chenopodium quinoa* tesztnövényekből préselt szövetnedv transzmissziós elektronmikroszkópos vizsgálata során 700-830 nm hosszúságú, fonál alakú, hajlékony virionokat figyelt meg a kutató. Az eredeti növény és a fertőzött tünetes tesztnövény leveleit elektronmikroszkóposan vizsgálva szélkerék fehérjére utaló zárványokat figyelt meg, így potyvírus fertőzöttségre gyanakodott (PLEŠE, 1993). További vizsgálatokat nem végzett, így nukleotid sorrend sem áll rendelkezésre az adatbázisban.

3.8 A vírus rekombináció jelentősége

Több elképzelés is született az RNS vírusok rekombinációjának magyarázatával kapcsolatban. A legtámogatottabb hipotézisek egyike a polimeráz ugrása (LAI, 1992), illetve a templát váltás (NAGY, 2008). Mindkét esetben szükség van az RNS függő RNS polimeráz (RdRp) enzimre és a vírus RNS-ekre egyazon sejtben. A rekombináció gyakoriságát az RdRp RNS-hez történő affinitása, és az RNS molekula másod- és harmadlagos szerkezete határozza meg. Leggyakoribb a templát váltás (NAGY, 2008), amikor az RdRp az affinitása miatt, illetve az RNS másod és harmadlagos szerkezete miatt templátot vált. Ezen kívül genomi és szubgenomi promóter elemek, a nukleinsavak homológiája is szerepet játszanak a rekombinációs forrópontok kialakulásánál, melyek az interspecifikus rekombinációt segíthetik elő (NAGY, 2008). A rekombináció létre jöhet egyazon faj különböző izolátumai között, különböző fajok izolátumai között, valamint egy vírusfaj és a gazdaszervezet RNS molekulái között. A rekombináció okozhat bizonyos gének duplikálódását, gének vagy RNS darabok elvesztését, illetve a gének sorrendjének megváltozását (LAI, 1992). *In vitro* vírus rekombinációt humán-, állati- (retrovírusok, koronavírusok, pikornavírusok), és növényi vírusok (*Bromovirus*, *Carmovirus*, *Cucumovirus*, *Potyvirus*, *Tombusvirus* nemzetségek) esetében is megfigyeltek. A rekombináció során a defektív vírus részek működőképes részekre cserélődhetnek, új gazdanövény kör megfertőzésére lehet képes a rekombináns, levéltetűvel nem átvihető izolátum azzá válhat, valamint új vírusfajjá válhat az új gazdanövényben a szelekció révén (LAI, 1992; NAGY, 2008).

A potyvírusoknál a fajon belüli és fajok közötti rekombináció nagyon fontos szerepet játszik a nemzetség taxonómiájában és a fajok evolúciójában (GIBBS és OHSHIMA, 2010; REVERS és mtsai., 1996). A potyvírusoknál leírt rekombinációs eseményekről, valamint rekombináns izolátumokról összefoglalást az 1. táblázatban közlök.

1. táblázat: Potyvírus fajoknál leírt rekombináns izolátumok

Faj tudományos neve	Szerző, év
<i>Bean yellow mosaic virus</i>	WYLIE és JONES, 2009
<i>Canna yellow streak virus</i>	ZAKUBANSKIY és mtsai., 2018
<i>Lettuce mosaic virus</i>	KRAUSE-SAKATE és mtsai., 2003
<i>Lily mottle virus</i>	RIVAS és mtsai., 2016
<i>Narcissus yellow stripe virus</i>	OHSHIMA és mtsai., 2018
<i>Pea seed-borne mosaic virus</i>	NAVRÁTIL és ŠAFÁŘOVÁ, 2019
<i>Plum pox virus</i>	ÁDÁM, 2019 CERVERA és mtsai., 1993 CHIRKOV és mtsai., 2017 CHIRKOV és mtsai., 2018 GARCÍA és mtsai., 2014 GLASA és CANDRESSE, 2005 GLASA és mtsai., 2001 GLASA és mtsai., 2004 GÜRÇAN és mtsai., 2019 JELKMANN és mtsai., 2018 SERÇE és mtsai., 2009 ŠUBR és mtsai., 2004 ŠUBR és mtsai., 2015 SZATHMÁRY és PALKOVICS, 2009
<i>Potato virus Y</i>	GREEN és mtsai., 2017 XIMBA és mtsai., 2017
<i>Soybean mosaic virus</i>	GAGARINOVA és mtsai., 2008
<i>Turnip mosaic virus</i>	YASAKA és mtsai., 2017
<i>Watermelon mosaic virus</i>	DESBIEZ és LECOQ, 2004
<i>Zucchini tigre mosaic virus</i>	ABDALLA és ALI, 2018,
<i>Zucchini yellow mosaic virus</i>	MAINA és mtsai., 2017 MAINA és mtsai., 2019

Az 1. táblázatban felsorolt hivatkozások túlnyomó többségénél a Recombination Detection Program (RDP) (MARTIN és mtsai., 2015) jelenlegi, vagy korábbi verzióit használták a rekombináció kimutatására.

3.9 A Recombination Detection Program v4.97 elvi működése

A rekombinációk kimutatására a program az összehasonlított szekvenciákat minden létező variációban triplettekbe osztja, majd a tripletben meghatározott méretű ablakokat hoz létre melyben többféle, különböző statisztikai módszerrel vizsgálja a nukleotid sorrend azonosságát. Ezt az ablakot a teljes összehasonlítás hosszán végiglépteti. Az első ilyen rekombinációs felderítés után az összes találatot újra vizsgálja a program az összes statisztikai módszerrel, javaslatot tesz a rekombináns szekvencia két szülő szekvenciájára, majd a szekvenciákat szétbontja szülő szerinti darabokra, a keletkezett darabokból pedig filogenetikai törzsfát épít. A rekombináció valódisága annál bizonyosabb, minél több módszer ismeri fel a rekombinációs eseményt, valamint a szülő és az utód (rekombináns) szekvencia darabok a két törzsfán – rekombináció nélküli és rekombinációt tartalmazó törzsfákon – topológiailag minél jobban elkülönülnek (MARTIN, 2015).

Amikor a program rekombinációs eseményt detektál, a töréspontok közötti rekombináns részt, valamint a két szülőtől származó szülői darabot kiemeli a további vizsgálatokból. Amikor a felhasználó egy rekombinációs eseményt elfogad, a program a rekombináns szakaszt törli a további rekombinációs vizsgálatokból, a szülői szakaszok viszont visszakerülnek a vizsgálatokba (MARTIN, 2015).

A rekombinációs eseményhez tartozó töréspontok meghatározásakor szintén meghatározásra kerülnek a szülői szekvenciák és ezek töréspontjai a legszignifikánsabb statisztikai módszer szerint. Ezek a szekvenciák a modell alapján kikövetkeztetett szülők, nem feltétlenül a rekombináns valós szülei, hanem a vizsgálat során megadott szekvenciák közül statisztikailag a legvalószínűbb szülők (MARTIN, 2015).

Abban az esetben, ha a betáplált szekvenciák között a program nem találja meg a valós szülőt, a program képes kikövetkeztetni a modell alapján épített filogenetikai törzsfán a rekombináns és egy valós szülő elhelyezkedése alapján a statisztikailag legvalószínűbb szülőt, amelyet az eredmények között ismeretlen szülőként tüntet fel (MARTIN, 2015).

A tudományos publikációkban általában 3, vagy ennél több módszerrel igazolt rekombinációt fogadnak el valósnak.

4 ANYAG ÉS MÓDSZER

4.1 Mintavételezés

A mintavételeket 2014-ben Hollandiában, valamint 2017-2018-ban Magyarországon végeztem munkatársaimmal. A *Sternbergia lutea* (648), *Tulipa* Fringed 'Lambada' (704) és *Tulipa* Fringed 'Crystal Beauty' (705) minták a Budai Arborétumból kerültek begyűjtésre. Minden minta tünetes levélből származott, 1-5 g tömegű volt. A mintavétel után a minta hűtve, vagy fagyasztva (-20 °C) került beszállításra a laboratóriumba, ahol -70 °C-on tároltuk további felhasználásig. A vizsgálatokhoz gyűjtött minták fontosabb adatait a 2. táblázatban tüntetem fel.

2. táblázat: A vizsgálatba vont minták adatai

Kódszám	Gazdanövény tudományos neve	Tünetek		Dátum	Település
		Levélen	Virágon*		
536	<i>Tulipa</i> Rembrandt 'Zomerschoon' 1620	+	+	2014-04-26	Limmen
642	<i>Tulipa</i> Rembrandt 'Absalon' 1780	+	+	2018-01-15	Budapest
644	<i>Narcissus</i> Miscellaneous 'Tête-à-Tête'	+	-	2018-01-22	Kecskemét
645	<i>Tulipa</i> Rembrandt 'Zomerschoon' 1620	+	+	2018-01-24	Budapest
646	<i>Tulipa</i> Rembrandt 'Insulinde' <1915	+	+	2018-01-24	Budapest
648	<i>Sternbergia lutea</i>	+	-	2018-01-24	Budapest
660	<i>Narcissus</i> Trumpet 'Dutch Master'	+	-	2018-03-02	Kecskemét
661	<i>Narcissus</i> Trumpet 'Dutch Master'	+	-	2018-03-02	Kecskemét
675	<i>Tulipa</i> Fringed 'Barbados'	+	+	2018-03-25	Nyársapát
681	<i>Muscari</i> 'Helena'	+	-	2018-03-28	Nyársapát
683	<i>Muscari</i> 'Pink Sunrise'	+	-	2018-03-28	Nyársapát
696	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	+	+	2018-04-01	Püspökladány
699	<i>Zantedeschia</i> 'Picasso'	+	+	2018-04-06	Nyársapát
704	<i>Tulipa</i> Fringed 'Lambada'	+	+	2018-04-16	Budapest
705	<i>Tulipa</i> Fringed 'Crystal Beauty'	+	+	2018-04-16	Budapest
707	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	+	+	2018-04-16	Balatonalmádi
712	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	+	+	2018-04-18	Deszk
713	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	+	+	2018-04-18	Murony
714	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	+	+	2018-04-22	Törökszentmiklós
716	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	+	+	2018-04-19	Miskolc
717	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	+	+	2018-04-19	Felsőtárkány
718	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	+	+	2018-04-19	Bátönyterenye
719	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	+	+	2018-04-20	Nemesböd
720	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	+	+	2018-04-20	Győrújbarát
721	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	+	+	2018-04-20	Komárom
722	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	+	+	2018-04-21	Szada
723	<i>Tulipa</i> Triumph 'Oscar'	+	+	2018-04-21	Szada
725	<i>Tulipa</i> Triumph 'First Class'	+	+	2018-04-21	Szada
726	<i>Tulipa</i> Double Late 'Blue Diamond'	+	+	2018-04-21	Szada

727	<i>Tulipa</i> Parrot 'Blue Parrot'	+	+	2018-04-21	Szada
728	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Gudoshnik'	+	+	2018-04-21	Szada
731	<i>Tulipa</i> Fosteriana 'Purissima'	+	+	2018-04-21	Szada
732	<i>Tulipa</i> Parrot 'Texas Gold'	+	+	2018-04-21	Szada
734	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	+	+	2018-04-21	Gárdony
735	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	+	+	2018-04-22	Tolna-Mözs
736	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	+	+	2018-04-22	Pécs
738	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	+	+	2018-04-22	Zalaegerszeg
739	<i>Tulipa</i> Lily-flowered 'Claudia'	+	+	2018-05-02	Mátraszentimre
A1	<i>Tulipa</i> Viridiflora 'Groenland'	+	+	2017-05-06	Gödöllő
36/3	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	+	+	2017-04-18	Gödöllő

*: ide értve botanikai értelemben a virágzatot is

A tulipánok fajtacsoportba történő besorolása VAN SCHEEPEN nyomán történt (1996).

A 707 mintát SÁRAY RÉKA, 722-732 mintákat ALMÁSI ASZTÉRIA, A1 és 36/3 mintákat SALÁNKI KATALIN gyűjtötte.

Tekintettel a minták nagy mennyiségére a taxonok bemutatásától eltekintek.

4.2 A vizsgálatok helyszíne

A vizsgálatokat a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Növényvédelmi Intézet, Növénykórtani Tanszékének Laboratóriumában, valamint az Eötvös Lóránd Kutatási Hálózat Agrártudományi Kutatóközpont Növényvédelmi Intézetének Virologiai Laboratóriumában végeztem. Az elektronmikroszkópos vizsgálatokat az ELTE Növény szerkezettani Tanszékén VÁGI PÁL 2017-ben végezte.

4.3 Vizsgálati módszerek

A megszedett mintákat először szerológiai vizsgálatoknak vettem alá. A pozitív mintákat tovább vizsgáltam molekuláris módszerekkel, ezzel párhuzamosan laboratóriumi tesztnövényeket fertőztem, illetve próbáltam végig vinni a Koch posztulátumokat. Egyes minták esetében nukleinsav hibridizációt, vagy elektronmikroszkópos vizsgálatot is végeztünk, végül nukleotid sorrend- és filogenetikai elemzést végeztem, majd rekombinációkat kerestem.

4.3.1 Szerológiai vizsgálat

A potyvírus specifikus ELISA kit-et – amely MAb PTY1 monoklonális detektáló antitesten alapul (JORDAN és HAMMOND, 1991) – az Agdia-tól vásároltuk. Az elsődleges antitest egérben előállított anti PTY1 (potyvírus köpenyfehérje klón) IgG, míg a másodlagos antitest az alkalikus foszfatáz enzimmel (AP) konjugált nyúlból származó egér IgG-t felismerő poliklonális antitest. A pozitív kontrollt az előállító cég biztosította (burgonya Y vírus), a negatív kontroll vektormentes üvegházban nevelt *Chenopodium amaranticolor* magonc növényből származott. A mintákat két

ismétlésben vizsgáltam, a gyártó utasításai szerint eljárva. Mindkét antitest 1:100 történő hígításban került felhasználásra. Az abszorbancia értékeket Labsystems Multiskan MS spektrofotométeren detektáltam 405 nm-en az 1 mg/ml 4-nitro-fenil-foszfátot (PNPP) tartalmazó szubsztrát oldat hozzáadása után 15, 30 és 60 perc inkubációs idő elteltével. Az abszorbancia értékeket a csak puffert tartalmazó (blank) minta OD értékével korrigáltam. Pozitív eredménynek a negatív kontrollok OD értékének háromszorosát, illetve az azt meghaladó értéket tekintettem.

4.3.2 Molekuláris azonosítás, össz-nukleinsav kivonás, RT-PCR

Az össz-nukleinsav kivonást WHITE és KAPER módszere alapján végeztem (1989). A kapott nukleinsavakat -70 °C-on tároltam további felhasználásig.

A cDNS szintézis 10 µl végtérfogaton történt. Első lépésként 2 µl össz-nukleinsavat mértem ki, majd 2 µl steril nukleáz mentes H₂O-t adtam hozzá, végül 1 µl 100 mM poly T₂ reverz primert (5'-CGGGGATCCTCGAGAAGCTTTTTTTTTTTTTTTTTTTT-3') mértem az oldatba (SALAMON és PALKOVICS, 2005). A keveréket 5 percig 65 °C-on inkubáltam, majd 2 percre jégre állítottam. Ez után a következő vegyszereket mértem hozzá: 1 µl 10 mM dNTPs, 1 µl nukleáz mentes steril H₂O, 2 µl 5× RT puffer (250 mM Tris-HCl (pH 8,3, 25 °C-on), 250 mM KCl, 20 mM MgCl₂, 50 mM DTT) (Thermo Scientific), 0,5 µl RiboLock RNase Inhibitor (Thermo Scientific), 0,5 µl RevertAid Reverse Transcriptase (Thermo Scientific), majd 1 órán át 42 °C-on inkubáltam, végül 2 percre jégre helyeztem, hogy a szintézis megálljon. A cDNS-t -20 °C-on tároltam felhasználásig.

A PCR reakció 50 µl végtérfogaton folyt a következő összetevőkkel: 2 µl cDNS, 5 µl 10× Taq puffer + KCl (100 mM Tris-HCl (pH 8,8, 25 °C-on), 500 mM KCl, 0,8% (v/v) Nonidet P40) (Thermo Scientific), 3 µl 25 mM MgCl₂, 2 µl 10 mM dNTPs, 1 µl poty7941 forward primer (5'-GGAATTCCC GCGNAAYAAAYAGYGGNCARCC-3') (SALAMON és PALKOVICS, 2005), 1 µl poly T₂ reverz primer, 1 µl Taq DNA Polymerase (rekombináns) (Thermo Scientific), és 35 µl steril nukleáz mentes H₂O.

A PCR program 3 perc 94 °C-os denaturálással kezdődött, majd a ciklus 30 másodperc 94 °C-os denaturálással folytatódott, amit 30 másodperc 50 °C-os anelláció követett, végül 2 perc 72 °C-os polimerizációval folytatódott. A ciklus 40× ismétlődött, amit végül 10 perces 72 °C-os végső polimerizáció követett, majd 4 °C-ra hűtéssel zárult.

A keletkezett specifikus PCR terméket etídium-bromidos 1%-os TBE agaróz gélen tettem láthatóvá.

A fenti primerpár a potyvírus nemzetség tagjainál az RNS függő RNS polimerázának (RdRp, NIb) C-terminális végéből az ultra-konzervatív GNNSGQP motívumtól kezdődően a teljes köpenyfehérje régiót, a teljes 3' nem transzlálódó régiót (3'UTR), valamint a polyA vég első

néhány bázisát szaporította fel. Vírusfajtól függően 1400-1800 bp közötti PCR termék keletkezett. A specifikus PCR terméket a gélből kivágtam, majd High Pure PCR Product Purification Kit-tel (Roche) tisztítottam ki a gyártó utasításait követve.

A molekuláris azonosításnál pozitív kontrollként a burgonya Y vírus O törzsét használtam (BASKY és ALMÁSI, 2005), melyet cecei típusú paprikán (*Capsicum annuum* 'Cecei') tartottunk fenn.

4.3.3 Laboratóriumi tesztnövények mechanikai inokulálása

Az inokuláláshoz 25-50 mg fertőzött levélszövetet dörzsöltem el 200 µl 2 mM SÖRENSEN-féle foszfát pufferben (pH 7,0), cellit jelenlétében (HORVÁTH és GÁBORJÁNYI, 1999), majd a keverékkel inokuláltam a következő tesztnövényeket: *Chenopodium foetidum*, *Ch. murale*, *Nicotiana benthamiana*, *N. tabacum* 'Xanthi'. Az inokulált növények vektormentes üvegházban kerültek elhelyezésre 18-24 °C közötti hőmérsékleten. A tünetek megjelenését 5 héten keresztül követtem figyelemmel, a megjelenő tüneteket feljegyeztem.

4.3.4 Koch posztulátumok teljesülése

A kontroll, vírusmentes növényeket desztillált vízzel inokuláltam. Tulipánt és gyöngyikét fertőző vírusok esetében a vírusmentes növények a Laboratóriumi tesztnövények mechanikai inokulálása részben ismertetett módszer szerint fertőztem meg.

A tünetek megjelenése az inokulációs és az azt követő tenyésztőszakban kerültek feljegyzésre. Tulipán esetében a vírus fajok *Tulipa* Darwin-hybrid 'van Eijk' hagymái önmagukban, kettesével, és hármasával is inokulálva lettek, gyöngyike esetében minden izolátum csak önmagában került fertőzésre *Muscari armeniacum* és *M. comosum* gazdanövények leveleire. A *Lilium* OT hybrid 'Robina' fajta csak liliom foltosság vírussal lett inokulálva levélre, spárga fenológiai állapotban (a levelek nem nyíltak szét, a hajtás vizuálisan spárga sípra emlékeztet).

A tünetes növényekből a vírusok visszaizolálásra kerültek. A többi vizsgált növényfaj esetén nem lehetett a Koch posztulátumokat teljesíteni, mert nem állt rendelkezésre vírusmentes gazdanövény.

4.3.5 Nukleinsav hibridizáció

Az ún. "dot-blot" hibridizációt NEMES KATALIN az ELKH Agrártudományi Kutatóközpont Növényvédelmi Intézetének Virologiai Laboratóriumában végezte. Teljes nukleinsav kivonásból 100 ng-ot (5 µl) 5 µl denaturáló pufferrel összekevertünk (5 µl formamid, 1 µl 200 mM HEPES, 1 µl 10 mM EDTA, 1,64 µl 35% formaldehid, 0,36 µl H₂O, 1 µl 10× FDE festék), majd 5 percig 65 °C-on denaturáltuk, utána pedig jégre helyeztük. A denaturált mintákat közvetlenül Whatman Nytran N blotting membránra csöpögtettük és beszárítottuk, majd UV fényel keresztkötöttük a

membránra. A hibridizációt Northern hibridizációval megegyező módon végeztük (SAMBROOK és RUSSELL, 2001). Próbának és a pozitív kontrollnak a nárcisz késői sárgulás vírus és lovagcsillag mozaik vírusból származó tisztított PCR termékeket használtuk. A tisztított PCR termékeket Random Primed DNA Labelling Kit (Roche) felhasználásával Digoxigenin-11-dUTP jelenlétében jelöltük a gyártó utasításainak megfelelően. A próba hibridizálása után a membránt mostuk, majd előkészítettük a detektálást. A detektálást Anti-DIG-AP detektáló antitesttel végeztük – juhban előállított alkalikus foszfatázzal jelölt Anti-Digoxigenin IgG – 150 mU/ml detektáló antitest, 100 mM almasav, 150 mM NaCl (pH 7,5) jelenlétében. Az abszorbancia értékeket iBright CL 1000 géppel detektáltuk 405 nm-en az 1 mg/ml 4-nitro-fenil-foszfátot (PNPP) tartalmazó szubsztrát oldat hozzáadása után 15 perc inkubációs idő elteltével.

4.3.6 Elektronmikroszkópos vizsgálat

A 36/3 és A1 jelű tulipánból származó mintákat negatív festéssel transzmissziós elektronmikroszkópos vizsgálatnak vetettük alá. A vizsgálatokat VÁGI PÁL végezte az ELTE Növényiszervezettani Tanszékén 2017-ben. A növényi szövetnedvet azonos térfogatú 2%-os uranil-acetáttal (pH 4,5) elegyítettük, majd a szenezett 400 mesh rácsméretű grid-re cseppentve beszárítottuk (HORVÁTH és GÁBORJÁNYI, 1999). Ez után került a grid behelyezésre az elektronmikroszkópba.

4.3.7 Ligálás, transzformálás, nukleotid sorrend meghatározás

A tisztított PCR termékek ligálása 10 µl végtérfogaton történt. A keverék a következő összetevőkből állt: 3 µl tisztított PCR termék, 1 µl 10× T4 DNA Ligase puffer (300 mM Tris-HCL (pH 7,8), 100 mM MgCl₂, 100 mM DTT, 10 mM ATP) (Promega), 0,2 µl pGEM®-T Easy vektor (Promega), 1 µl T4 DNA Ligase (Promega), 4,8 µl nukleáz mentes steril H₂O. A ligálás 4 °C-on, overnight történt.

Másnap reggel 100 µl *Escherichia coli* DH5α (SAMBROOK és RUSSELL, 2001) sejtet 10 percre jégre tettem, hogy kiolvadjon. A teljes ligátumot hozzámértem a kompetens sejtekhez és további 20 percen át jégen tartottam, majd 1 percre 42 °C-on inkubáltam, és 5 percig ismét jégen tartottam. Ez után 400 µl LURIA-BERTANI (LB) táplevest (ATLAS, 2010) mértem hozzá, és 1 órán át 37 °C-on rázatva inkubáltam. 150 µl baktérium szuszpenziót szélesztettem ampicillines (100 mg/l) LB lemezre (1000 ml LB tápleves + 20 g/l bakteriológiai agar) kiegészítve 10 µl IPTG-vel (100 mM/ml), 40 µl X-Gal-al (20 mg/ml). A kolóniákat overnight 37 °C-on növesztettem, majd 1 órára 4 °C-ra helyeztem a kék-fehér szelekció előtt. A fehér kolóniákat 3-5 ml ampicillines (100 mg/l) LB táplevesbe oltottam le, majd overnight 37 °C-on rázattam. A plazmidokat GeneJET Plasmid miniprep kit-tel nyertem ki (Thermo Scientific). Az inzertek nukleotid sorrendjének meghatározását szolgáltató cégek végezték SANGER módszere alapján (SANGER és COULSON,

1975; WALKER és LORSCH, 2013). A nukleotid sorrend meghatározáshoz kezdetben az M13 primereket használtam M13-for (5'-GTAAAACGACGGCCAGT-3'), M13-rev (5'-GGAAACAGCTATGACCATG-3'), de később áttértem az általam tervezett sqGMTZ-for (5'-GGGCGAATTGGGCCCCGACG-3') és sqGMTZ-rev (5'-CCAACGCGTTGGGAGCTCTCCC-3') primerekre, melyek 75-77 bázissal közelebb helyezkednek el a vektor klónozó helyéhez (Multiple Cloning Site, MCS), így a kromatogramok illesztése jobb volt.

4.3.8 Nukleotid sorrend elemzés

A szolgáltatóktól megkapott kromatogramok nukleotid sorrendjét az NCBI GenBank megaBLAST (MORGULIS és mtsai., 2008) programjával vizsgáltam, a fajmeghatározás végett (ADAMS és mtsai., 2005b; WYLIE és mtsai., 2017). Minden vírusfaj esetében – ami az adatbázisban szerepelt – egy referencia szekvencia került kiválasztásra. Ha nem volt 76%-nál nagyobb nukleotid sorrend egyezés az adatbázisban található szekvenciákkal, akkor a kromatogramokat a CLC Sequence Viewer 8.0 verziójába töltöttem be és a „less accurate” opcióval hasonlítottam össze. Ez után a keletkezett összehasonlítás konszenzus szekvenciája lett a referencia. A kromatogramok ez után a megfelelően homológ referenciához lettek illesztve az Unipro Ugene v1.30 (OKONECHNIKOV és mtsai., 2012) programmal. A “trimming quality threshold” 0, a “mapping minimum similarity” 50%-nak állítottam be. Minden egyes illesztést ellenőriztem, a bizonytalan bázisok a kromatogram peak-jei alapján kézzel kijavítottam, a kromatogramok javított konszenzus szekvenciáit GenBank fájlformátumba mentettem el. A szekvenciák annotációja, a kódoló régió, a poliprotein hasító helyek bejelölése, valamint a primerek adapter régióinak (5'-GGAATTCCCCG-3' poty7941 esetében, és 5'-CGGGGATCCTCGAGAAGC-3' poly T₂ esetében) eltávolítása után a teljes köpenyfehérje régiót ismételtelen ellenőriztem az adatbázisban megaBLAST programmal. A keletkezett és ellenőrzött nukleotid sorrendek feltöltésre kerültek az adatbázisba.

4.3.9 Filogenetikai elemzés

Filogenetikai elemzéshez minden esetben a MEGA X programcsomagot használtam (KUMAR és mtsai., 2018).

Először ClustalW módszerrel (LARKIN és mtsai., 2007; THOMPSON és mtsai., 1994) összehasonlítást végeztem gazdanövényenként azokkal az adatbázisban szereplő vírusokkal, melyek legnagyobb nukleotid sorrend azonosságot mutattak az általam izolált vírusok teljes köpenyfehérje régiójával. Az összehasonlításnál a program alapbeállításait használtam, egy kivétellel, a súlyozási mátrixnál a ClustalW 1.6 verzióját választottam ki.

Az összehasonlítás után megkeresttem a programmal a legjobban illeszkedő DNS nukleotid helyettesítési modellt. Legjobban illeszkedő modellként a legkisebb korigált Akaike Information Criterion (AICc) értékű modellt választottam ki (NEI és KUMAR, 2000) majd ezzel a

modellel Maximum Likelihood (ML) filogenetikei törzsfát építettem (FELSENSTEIN, 1981; GUINDON és GASCUEL, 2003). A törzsfá megbízhatóságát Bootstrap módszerrel ellenőriztem (FELSENSTEIN, 1985) 1000×-es ismétlésben. Outgroupnak minden esetben a dohány karcolatós vírust (*Tobacco etch virus*, RefSeq: NC_001555) választottam, a törzsfákat ehhez az izolátumhoz „root”-oltam.

Tulipán vírusok esetében a köpenyfehérje régión felül még a primerpár által kiemelt teljes régióra is végeztem összehasonlítást. A lehetséges evolúciós scenáriók jobb megismerése érdekében az összehasonlítás eredményét a SplitsTree 4.15.1 (HUSON és BRYANT, 2006) programmal vizsgáltam tovább, alapbeállításokkal. A program a lehetséges filogenetikai törzsfák alapján filogenetikai törzshálót készít.

Tulipán vírusok esetében az N1b és CP régiók közötti aminosav hasítási helyeket is vizsgáltam – ahol ez elérhető volt –, további bizonyítékot szolgáltatva a fajok taxonómiai helyzetére. A hasítási helyek aminosav sorrendjét a P4 – P1’ pozíciókban vizsgáltam (ADAMS és mtsai., 2005a).

Gyöngyike és tulipán vírusok esetében meghatározásra került a vírusok köpenyfehérje régiójának páronkénti nukleotid sorrend azonossága is, mely %-ban lett kifejezve. Ehhez a MEGA X program p-distances eredménytáblázatát használtam, és a következő egyenlettel számoltam ki az azonosság %-ot: $(1 - (p\text{-distance})) * 100$.

Kála esetében az azonosítás után a köpenyfehérje nukleotid sorrendjéből ML törzsfát készítettem a korábban ismertett outgroup szekvenciával. Ezen felül a vírus teljes köpenyfehérje régiójának aminosav sorrendjével, valamint a hozzá legmagasabb szintű nukleotid sorrend azonosságot mutató 15 vírus teljes köpenyfehérje régiójának aminosav sorrendjével és egy burgonya Y vírus (RefSeq: NC_001616) teljes köpenyfehérje régiójának aminosav sorrendjével is összehasonlítást végeztem a MAFFT programmal (KATOH és mtsai., 2002; ROZEWICKI és mtsai., 2019). Az elkészült összehasonlításból Neighbor-Joining (NJ) (SAITOU és NEI, 1987) filogenetikai törzsfát szerkesztettem a legjobban illeszkedő aminosav szubsztitúciós modell alkalmazásával. A törzsfánkat a GraphAn (ASNICAR és mtsai., 2015) programcsomaggal annotáltam és ábrázoltam.

4.3.10 Rekombinációs események feltárása

A rekombinációs események vizsgálatához az RDP program 4.97 verzióját használtam (MARTIN és mtsai., 2015, 2017) a következő beállításokkal: szignifikancia szint 5% ($p < 0,05$; Bonferroni korrigált), automatikus maszkolás, lineáris szekvenciák. Az automatikus felderítést RDP (MARTIN és RYBICKI, 2000), Chimaera (POSADA és CRANDALL, 2001), Bootscan/Recscan (MARTIN és mtsai., 2005), 3Seq (LAM és mtsai., 2018), GENECONV (PADIDAM és mtsai., 1999), MaxChi (SMITH, 1992) és SiScan (GIBBS és mtsai., 2000) módszerekkel végeztem. Az automatikus

felderítés után a következő beállításokkal folyt tovább a kezdeti vizsgálat: Bootscan/ReSCAN módszernél a JIN ÉS NEI szubsztitúciós modellt használtam (1990). A MaxChi és Chimaera módszereknél az ablak méretét változóra állítottam, a változó rész frakciója ablakonként 0,1. SiScan esetében a P érték permutációs száma 447, PhylPro (WEILLER, 1998) esetében önmagával való összehasonlítás nem történt. A LARD módszernél (HOLMES és mtsai., 1999) Reverzibilis szubsztitúciós mátrix lett kiválasztva (TAVARÉ, 1986) mozgó partíciós kereséssel. A TOPAL (MCGUIRE és WRIGHT, 2000) esetében szintén a JIN ÉS NEI szubsztitúciós modellt használtam a tranzíciós:transzverziós hányados 0,5 volt. A távolság ábrázoláshoz és a Neighbor-Joining (NJ) törzsfák esetében (FELSENSTEIN, 1989) is a JIN ÉS NEI szubsztitúciós modellt használtam, 100×-os Bootstrap ismétlés mellett (FELSENSTEIN, 1985), a random mag-szám 3 volt. SCHEMA (VOIGT és mtsai., 2002) esetében az interakciós távolság 4, a hőmérséklet 20 °C, a szekvencia típusa RNS volt. A többi beállítás értékén nem változtattam. A kezdeti vizsgálat végén minden rekombinációs eseményt újra ellenőriztettem minden elérhető módszerrel. Ezek után minden rekombinációs eseményt manuálisan is ellenőriztem, hogy a szülői darabokból származó és utód UPGMA (SOKAL és MICHENER, 1958) és NJ (FELSENSTEIN, 1989) törzsfák topológiailag is különböznek-e, valamint a különböző módszerek által talált töréspontok konszenzusban vannak-e, amennyiben szükséges volt a töréspontok javításra kerültek.

Egy statisztikai vizsgálati módszer eredménye akkor pozitív, ha a módszer alapján kiszámolt p-érték (Bonferroni korrigált p-érték) $< 0,05$. Azok az események, melyek 3-nál kevesebb módszerrel történt az azonosítás elvetésre kerültek.

5 EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

5.1 Szerológiai vizsgálatok eredményei

A szerológiai vizsgálatok eredményeinek ismertetésekor eltekintek a kontrollok és a minták abszorbancia eredményeinek részletes közlésétől, csak a negatív kontrollok és a minták átlagának hányadosát közlöm. A szerológiai vizsgálatok eredményeit a 3. táblázatban foglalom össze.

3. táblázat: ELISA eredmények

Kódszám	Gazdanövény	A negatív kontroll és a minta hányadosa
536	<i>Tulipa</i> Rembrandt 'Zomerschoon' 1620	11,400
642	<i>Tulipa</i> Rembrandt 'Absalon' 1780	13,400
644	<i>Narcissus</i> Miscellaneous 'Tête-à-Tête'	49,418
645	<i>Tulipa</i> Rembrandt 'Zomerschoon' 1620	4,200
646	<i>Tulipa</i> Rembrandt 'Insulinde' <1915	11,600
648	<i>Sternbergia lutea</i>	32,567
660	<i>Narcissus</i> Trumpet 'Dutch Master'	32,776
661	<i>Narcissus</i> Trumpet 'Dutch Master'	22,940
675	<i>Tulipa</i> Fringed 'Barbados'	29,642
681	<i>Muscari</i> 'Helena'	36,597
683	<i>Muscari</i> 'Pink Sunrise'	51,701
696	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	7,605
699	<i>Zantedeschia</i> 'Picasso'	51,567
704	<i>Tulipa</i> Fringed 'Lambada'	51,164
705	<i>Tulipa</i> Fringed 'Crystal Beauty'	30,200
707	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	50,970
712	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	4,984
713	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	11,000
714	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	10,200
716	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	15,600
717	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	22,200
718	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	6,200
719	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	6,600
720	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	4,600
721	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	11,030
722	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	4,700
723	<i>Tulipa</i> Triumph 'Oscar'	37,400
725	<i>Tulipa</i> Triumph 'First Class'	26,400
726	<i>Tulipa</i> Double Late 'Blue Diamond'	50,910
727	<i>Tulipa</i> Parrot 'Blue Parrot'	51,313
728	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Gudoshnik'	51,746

731	<i>Tulipa Fosteriana</i> 'Purissima'	8,800
732	<i>Tulipa</i> Parrot 'Texas Gold'	27,500
734	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	3,900
735	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	7,800
736	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	3,500
738	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	5,300
739	<i>Tulipa</i> Lily-flowered 'Claudia'	68,100
A1	<i>Tulipa</i> Viridiflora 'Groenland'	5,300
36/3	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	4,100

Mivel minden hányados 3-nál magasabb, így az eredmények alapján minden vizsgált minta pozitív. Tehát minden növényt valamilyen potyvírus faj fertőzött meg.

5.2 A kórokozók molekuláris azonosításának eredményei

Minden tesztelt növényből sikerült potyvírust kimutatnom. Mintánként csak 1 potyvírus fajt tudtam azonosítani, viszont előfordult, hogy több variáns is megtalálható volt egy növényben, ami megerősíti, hogy a vírusok kvázi fajok (DOMINGO és mtsai., 2008). Eredményeimet a 4. táblázatban ismertetem.

4. táblázat: A vizsgálatba vont mintákban azonosított vírusok, és azok GenBank azonosítói

Kódszám	Gazdanövény	Azonosított vírusok tudományos nevei	GenBank azonosító
536	<i>Tulipa</i> Rembrandt 'Zomerschoon' 1620	Rembrandt tulip-breaking virus	MG637051
642	<i>Tulipa</i> Rembrandt 'Absalon' 1780	Rembrandt tulip-breaking virus	MK368780
644	<i>Narcissus</i> Miscellaneous 'Tête-à-Tête'	<i>Hippeastrum mosaic virus</i> ⁺	MK132192, MN068006
645	<i>Tulipa</i> Rembrandt 'Zomerschoon' 1620	Rembrandt tulip-breaking virus	MK368781
646	<i>Tulipa</i> Rembrandt 'Insulinde' <1915	Rembrandt tulip-breaking virus	MK368782
648	<i>Sternbergia lutea</i>	<i>Narcissus late season yellows virus</i>	MK783944
660	<i>Narcissus</i> Trumpet 'Dutch Master'	<i>Narcissus late season yellows virus</i>	MK132193
661	<i>Narcissus</i> Trumpet 'Dutch Master'	<i>Narcissus late season yellows virus</i>	MK132194
675	<i>Tulipa</i> Fringed 'Barbados'	<i>Tulip breaking virus</i>	MK368783
681	<i>Muscari</i> 'Helena'	Muscari mosaic virus	MK642311
683	<i>Muscari</i> 'Pink Sunrise'	Muscari chlorotic mottle virus *	MK642312, MK642313
696	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	<i>Lily mottle virus</i>	MK368784
699	<i>Zantedeschia</i> 'Picasso'	Konjac mosaic virus	MH979038
704	<i>Tulipa</i> Fringed 'Lambada'	<i>Tulip breaking virus</i>	MK368785
705	<i>Tulipa</i> Fringed 'Crystal Beauty'	<i>Tulip breaking virus</i>	MK368786
707	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	<i>Tulip breaking virus</i>	MK368787
712	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	<i>Lily mottle virus</i>	MK368788
713	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	<i>Tulip breaking virus</i>	MK368789

714	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	<i>Lily mottle virus</i>	MK368790
716	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	<i>Tulip breaking virus</i>	MK368791
717	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	<i>Lily mottle virus</i>	MK368792
718	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	<i>Lily mottle virus</i>	MK368793
719	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	<i>Lily mottle virus</i>	MK368794
720	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	<i>Tulip breaking virus</i>	MK368795
721	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	<i>Tulip breaking virus</i>	MK368796
722	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	<i>Tulip breaking virus</i>	MK368797
723	<i>Tulipa</i> Triumph 'Oscar'	<i>Tulip breaking virus</i>	MK368798
725	<i>Tulipa</i> Triumph 'First Class'	<i>Tulip breaking virus</i>	MK368799
726	<i>Tulipa</i> Double Late 'Blue Diamond'	<i>Tulip breaking virus</i>	MK368800
727	<i>Tulipa</i> Parrot 'Blue Parrot'	<i>Lily mottle virus</i>	MK368801
728	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Gudoshnik'	<i>Lily mottle virus</i>	MK368802
731	<i>Tulipa</i> Fosteriana 'Purissima'	<i>Lily mottle virus</i>	MK368803
732	<i>Tulipa</i> Parrot 'Texas Gold'	<i>Lily mottle virus</i>	MK368804
734	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	<i>Tulip breaking virus</i>	MK368805
735	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	<i>Lily mottle virus</i>	MK368806
736	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	<i>Tulip breaking virus</i>	MK368807
738	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	<i>Tulip breaking virus</i>	MK368808
739	<i>Tulipa</i> Lily-flowered 'Claudia'	<i>Lily mottle virus</i>	MK368809
A1	<i>Tulipa</i> Viridiflora 'Groenland'	<i>Tulip breaking virus</i>	MF983710
36/3	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	<i>Lily mottle virus</i>	MF983709

*: A tudomány számára új faj.

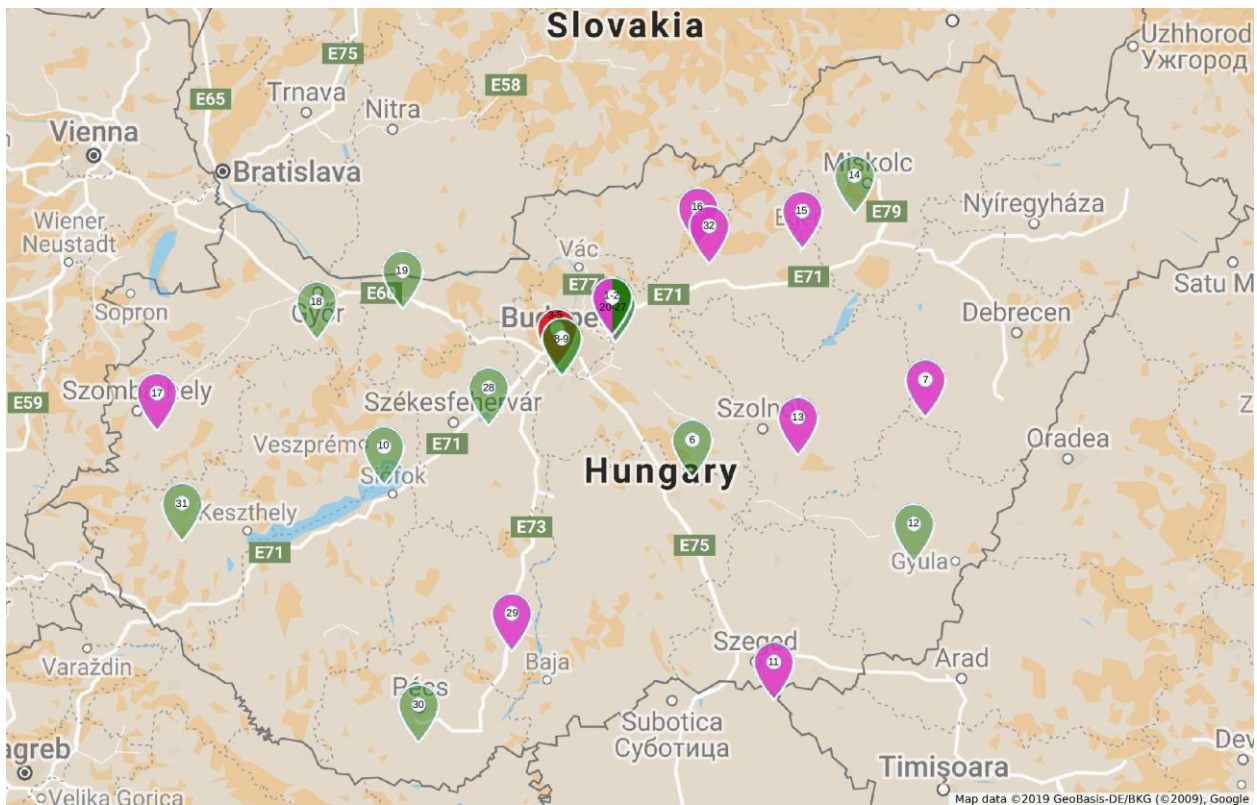
+: Új gazda-vírus kapcsolat.

Félkövér: Magyarországról eddig nem azonosított vírus.

Aláhúzott: Magyarországról már leírt vírus, de Magyarországon újnak számító gazdanövény.

5.3 A tulipánt fertőző vírusok eloszlása Magyarországon, fajta preferencia

A 4. táblázatban ismertetett eredmények alapján, összevetve a minták származási helyével (2. táblázat) elmondható, hogy a Rembrandt tulipán színtörés vírus csak Rembrandt tulipánokon fordult elő Magyarországon. A lilium foltosság vírus és a tulipán színtörés vírus az ország minden régiójában előfordult (1. ábra), sőt egyazon tulipán populáción belül a kórokozók gyakorisága megegyezett. Gazdanövényük a vizsgált minták alapján tulipán, a lilium foltosság vírus esetében tulipán és lilium, valamint egyik vírusfaj sem mutatott tulipánfajta, vagy -fajtacsoport preferenciát.



1. ábra. Tulipánt fertőző vírusfajok magyarországi előfordulása.

Pirossal jelölve a Rembrandt tulipán szintörés vírus , lilával a liliom foltosság vírus, zölddel a tulipán szintörés vírus, lila-zöld színnel a liliom foltosság vírus és tulipán szintörés vírus egy gazdanövény populációban való közös előfordulását jelöltem. (Forrás: Google Maps, ÁGOSTON JÁNOS szerkesztésével)

5.4 Kísérő tünetek leírása a mintázott növényekről

5.4.1 Tulipánon (*Tulipa*) megfigyelt kísérő tünetek

Mindhárom vírusfaj kihajtáskor a leveleken jellegetes felfelé álló, merev, szivarszerűen sodródó, a fonáki részen liluló tünetegyüttest okozott (2. ábra A; 3. ábra A-C, J; 4. ábra A). Ezek a tünetek a hőmérséklet emelkedésével és a levelek növekedésével maszkírozódtak.

A levéltünetek legmarkánsabban liliom foltosság vírus esetében jelentkeztek a nem virágzó növényeken (4. ábra B és D), amely leginkább áteső fényben volt látható. Virágzó növényeknél mindhárom vírusfaj esetében inkább a virágzás vége felé kezdtek erősödni a levéltünetek (4. ábra J), míg zöldbimbós állapottól teljes virágzás állapotig a tünetek halványak, a levél viaszossága miatt nehezen észrevehetőek (2. ábra B-C; 3. ábra D-F; 4. ábra C, G, H).

A virágokon a sötét és világosabb csíkos flekk tünetek (2. ábra E, F, I), lángszerű rajzolat (2. ábra H, J, K, M; 4. ábra F, G), valamint lángszerű rajzolat és erős szintörés (2. ábra G, L, N; 3. ábra G, H, I, L, M, N, O és 4. ábra E, H) jelentkezett. Érdekes, hogy a hollandiai mintavétel során Rembrandt tulipán szintörés vírussal fertőződött fajták esetében fajtánként több ezer beteg növény

esetén sem talákoztam azonos rajzolattal, a flekk és lángszerű rajzolat minden növényen egyedi volt (3. ábra M, N, O).

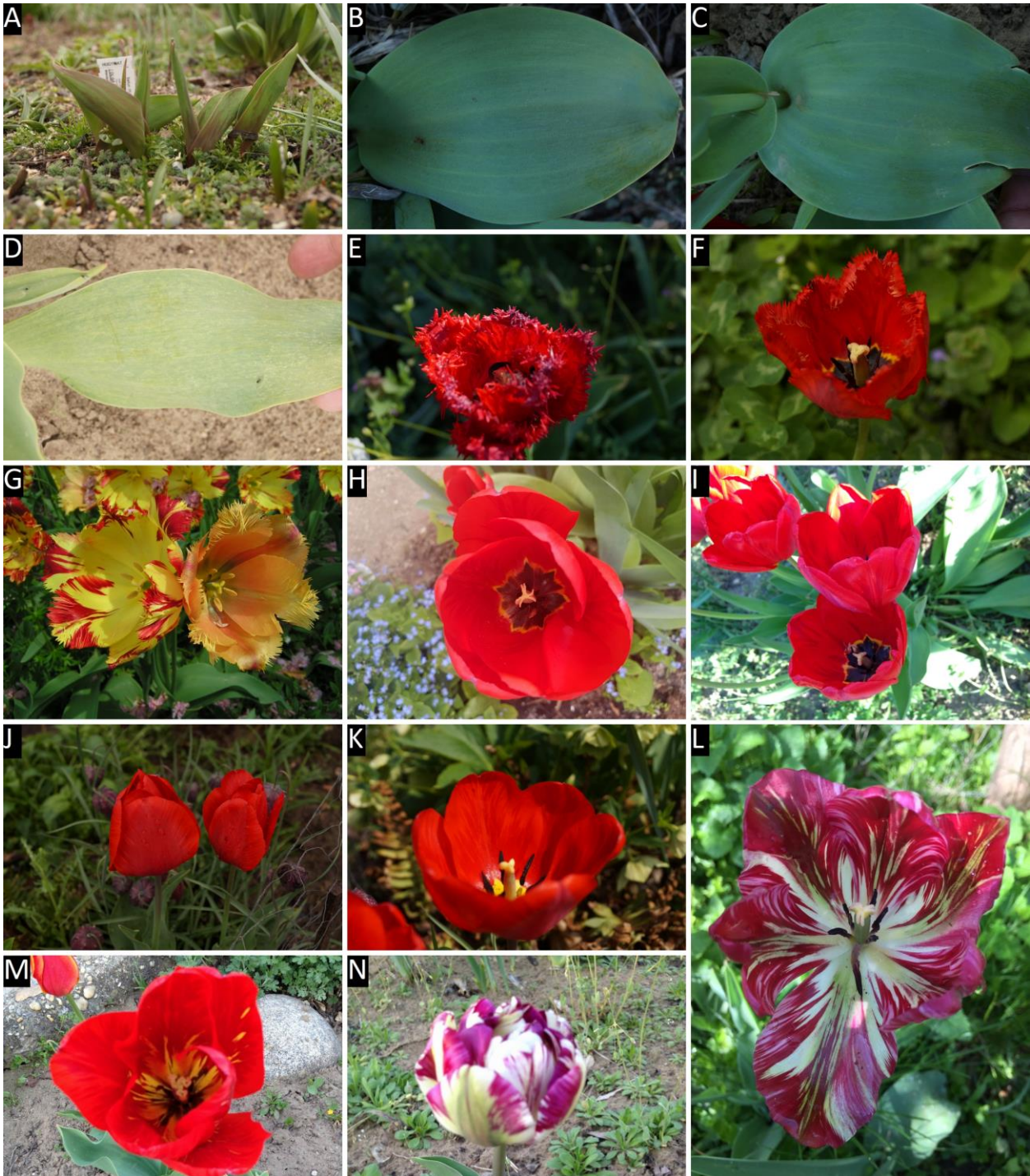
A virágszáron a virágzás alatt lila csíkozottságot csak a Rembrandt tulipán szintörés vírussal fertőzött 'Insulinde' fajta esetén figyeltem meg (3. ábra K). Fehér virágú fajta esetében szintörés nem, csak virágtorzulás fordult elő (4. ábra I). Virágzás után minden növény levelén megjelent a sárgás flekk, illetve gyűrűs foltos mozaik (2. ábra D).

Fentiek alapján a három Magyarországról azonosított tulipánt fertőző vírusfaj csupán tünetek alapján nem különíthető el. Egy vírusfaj egyazon fajtán a tenyészdőszak alatt többféle tünetet tud okozni (tulipán szintörés vírus – 2. ábra B, C, D, H, I, J, K; liliom foltosság vírus – 4. ábra A, B, C, E, F), valamint különböző vírusfajok különböző fajtákon is tudnak azonos típusú tüneteket okozni, például szintörés és lángszerű rajzolat (tulipán szintörés vírus – 2. ábra G, H, J, K, L, M, N; Rembrandt tulipán szintörés vírus – 3. ábra G, H, I, L, M, N, O; liliom foltosság vírus – 4. ábra E, F, H). Ezek alapján helyesebb, ha a betegséget tulipán szintörés szindrómának hívják. A fajták részletes felsorolását és a hozzájuk tartozó ábra jelét az 5. táblázatban mutatom be.

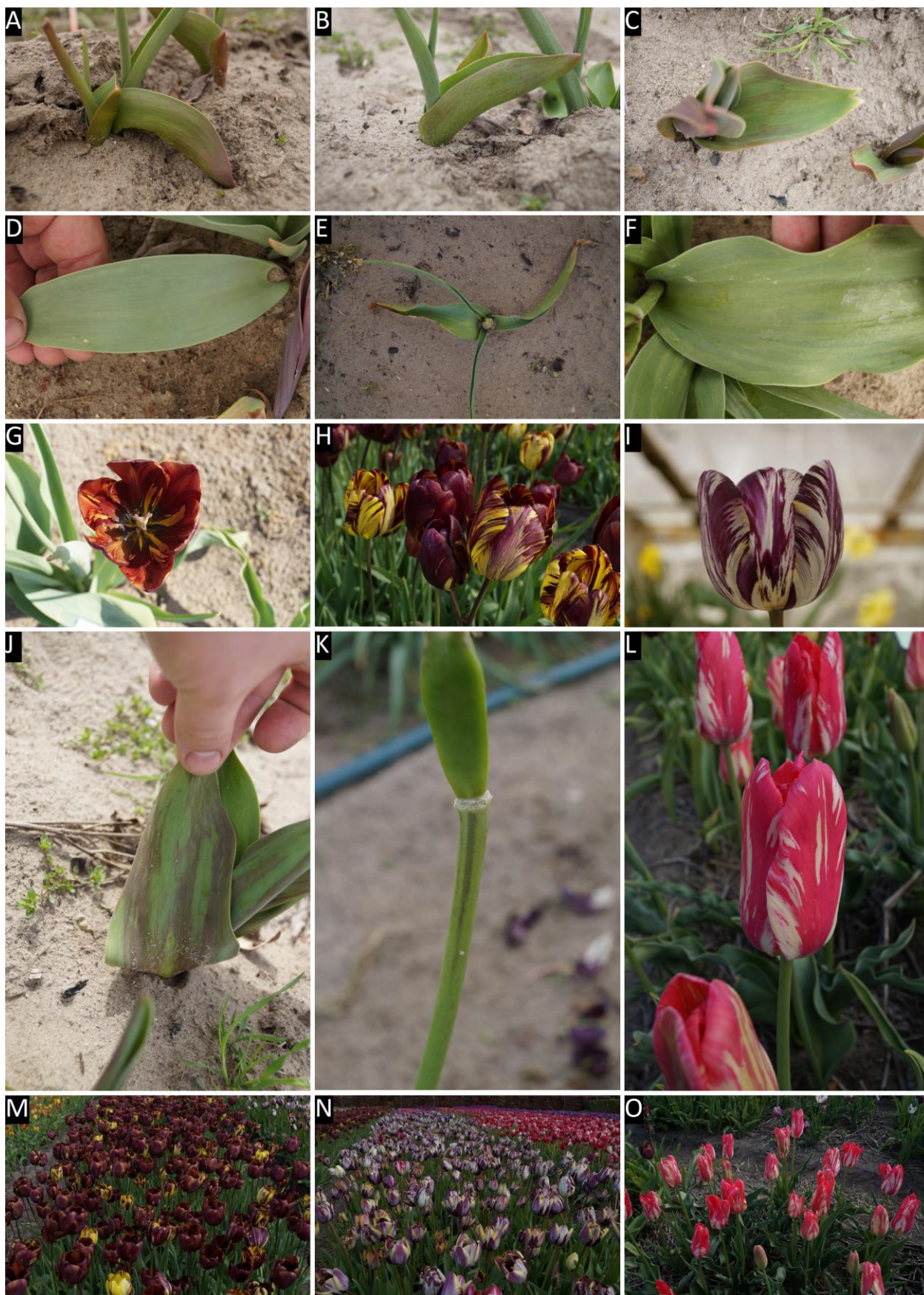
5. táblázat: Tulipán mintákhoz tartozó ábrák összefoglalása

Kódszám	Tudományos név	Azonosított vírus rövidítése*	Ábra
536	<i>Tulipa</i> Rembrandt 'Zomerschoon' 1620	ReTBV	3. ábra O
642	<i>Tulipa</i> Rembrandt 'Absalon' 1780	ReTBV	3. ábra A, D, G, H, M
645	<i>Tulipa</i> Rembrandt 'Zomerschoon' 1620	ReTBV	3. ábra B, F, L
646	<i>Tulipa</i> Rembrandt 'Insulinde' <1915	ReTBV	3. ábra C, E, I, J, K, N
675	<i>Tulipa</i> Fringed 'Barbados'	TBV	2. ábra A, E
696	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	LMoV	4. ábra A, E
704	<i>Tulipa</i> Fringed 'Lambada'	TBV	2. ábra G
705	<i>Tulipa</i> Fringed 'Crystal Beauty'	TBV	2. ábra F
707	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	TBV	2. ábra H
712	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	LMoV	4. ábra F
713	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	TBV	2. ábra B, K
714	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	LMoV	4. ábra C
717	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	LMoV	4. ábra B
721	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	TBV	2. ábra J
722	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	TBV	2. ábra I
723	<i>Tulipa</i> Triumph 'Oscar'	TBV	2. ábra M
726	<i>Tulipa</i> Double Late 'Blue Diamond'	TBV	2. ábra N
728	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Gudoshnik'	LMoV	4. ábra G, J
731	<i>Tulipa</i> Fosteriana 'Purissima'	LMoV	4. ábra I
732	<i>Tulipa</i> Parrot 'Texas Gold'	LMoV	4. ábra D
738	<i>Tulipa</i> Darwin-hybrid 'Apeldoorn'	TBV	2. ábra C
739	<i>Tulipa</i> Lily-flowered 'Claudia'	LMoV	4. ábra H
A1	<i>Tulipa</i> Viridiflora 'Groenland'	TBV	2. ábra D, L

*: BRUNT nyomán (1996).



2. ábra. Tulipán színtörés vírus által okozott tünetek tulipánon (Fotó: A-G, J, K - ÁGOSTON J.; H - SÁRAY R.; I, M, N - ALMÁSI A.; L - SALÁNKI K.)



3. ábra. Rembrandt tulipán színtörés vírus által okozott tünetek tulipánon (Fotó: A - O -
 ÁGOSTON J.)



4. ábra. Liliom foltosság vírus által okozott tünetek (Fotó: A-F, H, K, L - ÁGOSTON J.; G, I, J - ALMÁSI A.)

5.4.2 Nárciszon (*Narcissus*) megfigyelt kísérő tünetek

A 'Tête-à-Tête' fajta esetében kezdetben sárgás csíkozottság volt megfigyelhető a levél csúcsi részén (5. ábra A), később a tünetek erősödtek (5. ábra B). A virágzás után a levél alapi részére húzódott a sárgás csíkozottság, a csúcsi részen pedig a csíkozottság nekrotizálódott (5. ábra C).



5. ábra. *Narcissus* Miscellaneous 'Tête-à-Tête'-n jelentkező kísérő tünetek zöld bimbós (A) és virágzó (B) állapotban, valamint elvirágzás után szabadföldön (C) (Fotó: ÁGOSTON J.)

Narcissus Trumpet 'Dutch Master' esetében mind a két mintánál azonos tüneteket figyeltem meg. Kezdetben a levél teljes hosszában világos és sötétzöld keskeny csíkozottság volt látható (6. ábra A), mely a tenyésztés végére annyiban módosult, hogy a levél csúcsi részén 1-2 mm széles és 2-4 mm hosszú kezdetben élénk sárga csíkozottság volt látható, később a csíkok barnán nekrotizálódtak (6. ábra B).

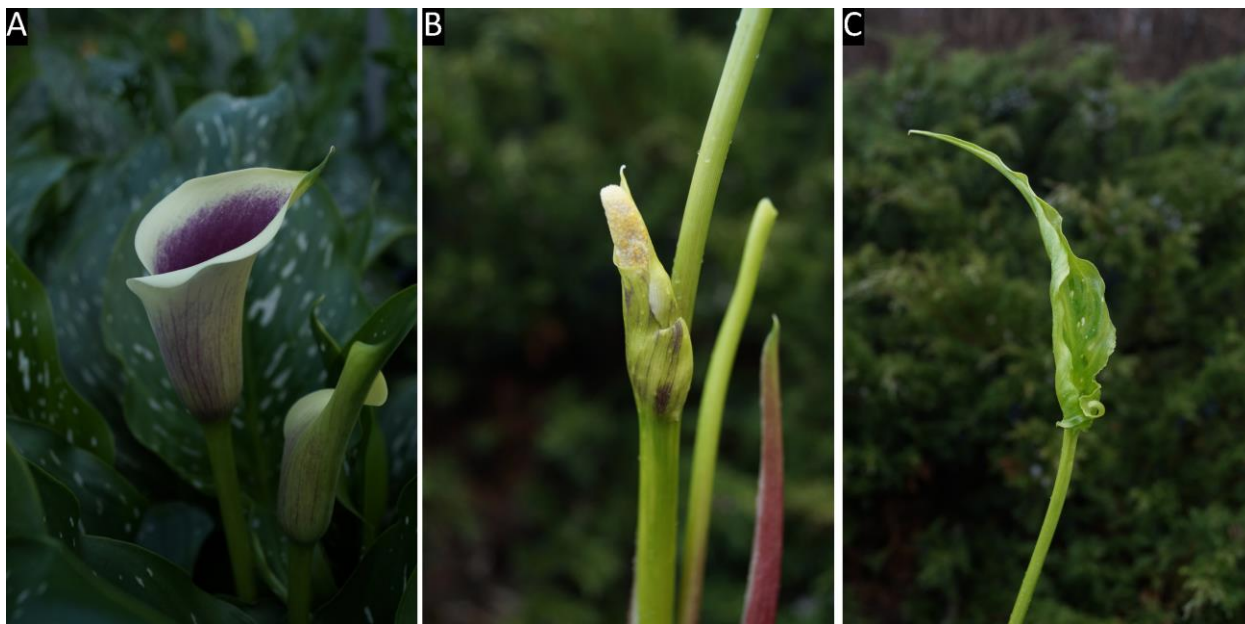


6. ábra. *Narcissus* Trumpet 'Dutch Master'-en jelentkező kísérő tünetek a tenyésztés elején (A) és végén (B) szabadföldön (Fotó: ÁGOSTON J.)

5.4.3 Kálán (*Zantedeschia*) megfigyelt kísérő tünetek

A 'Picasso' fajtára jellemző a széles ásó formájú sötétzöld levél, mely ritkán ovális fehér foltokkal tarkított. A spátha a torzsánál 1,5-2× hosszabb, kívül krémszínű, belül lilásbordó, a belső szélén szélesebb krémszínű csíkkal. A virágzat elnyílásával a krémszín fokozatosan elefántcsont színűvé, majd fehérré fakul. Az egészséges spátha kinyílva tölcsér alakú, széle ép (7. ábra A) (RANDAG, 2004).

A tünetes növények levele sárgás, illetve világos zöld színű, hosszanti mozaikkal tarkított, a fehér foltok nem, vagy alig vehetőek észre, a levél formája keskeny, dárdás, a csúcs hosszan kinyúló (7. ábra C). A spátha a torzsa hosszával megegyező vagy annál sokkal rövidebb, kívül lilás és zöld csíkozottságot mutat, széle hasadt, nem nyílik szét, hanem a torzsára borul (7. ábra B). A növény jellemzően törpül, a levelek száma az egészségesnél kevesebb. Az idő előrehaladtával a tünetek maszkírozódnak, ám a levelek széle sárga, klorotikus marad. A beteg növény egy, legfeljebb kettő értéktelen torzsavirágzatot fejleszt.



7. ábra. Egészséges (A) és vírus fertőzött 'Picasso' kála növény torzsavirágzata (B) és levele (C) (Fotó: ÁGOSTON J.)

5.4.4 Gyöngyikén (*Muscari*) megfigyelt kísérő tünetek

Az egészséges örmény gyöngyike (*Muscari armeniacum*) növények lombja mély, sötétzöld színű, fonákuk fényes, a felszín felől a viaszrétegtől szürkés vagy szürkés-kék árnyalatú (8. ábra).



8. ábra. Egészséges *Muscari armeniacum* növények (Fotó: ÁGOSTON J.)

Mindkét vírus esetében tavasszal, a virágzatok felszínre emelkedésekor voltak a kísérő tünetek a legerőteljesebbek. Később, az idő melegedésével, valamint a virágzás előrehaladtával a tünetek maszkírozódtak, de 2019. májusában 5 napos lehülést követően a tünetek ismét felerősödtek a lombon, majd újra eltűntek, ahogy visszaállt a májusi időnek megfelelő hőmérséklet. Egy esetben sem láttam tüneteket a bimbókon, vagy a kinyílt virágokon, a fertőzött növények magot érleltek, ám a beteg növényekről származó magok csírázási erélye messze elmaradt (kb. 25-30%-al) az egészséges növényekétől. Az egészséges növényekhez képest a beteg növények vigora és magtermése csökkent, valamint jellemzően 7-10 nappal korábban vonultak nyugalomba. Nekrózis egyik esetben sem volt megfigyelhető.

A gyöngyike mozaik vírussal fertőzött növények levelének fonákán a tünetek élesebben látszódtak (9. ábra A), mert itt nem fedte viaszréteg a levelet. A levél színén a mozaikosság elmosódott (9. ábra B). A 'Helena' fajta esetében a levél középvonalában világoszöld, vagy sárgászöld 2-3 mm széles sávos mozaik tünet jelentkezett, ami a levél teljes hosszában látható volt (9. ábra C). A világos sáv a tenyészidőszak folyamán szélesedett, egészen a virágzás végéig, amikor a tünetek elhalványultak, majd teljesen maszkírozódtak.

Megfigyeléseim a tünetek tekintetében némiképpen eltérnek az irodalmi adatoktól (NAVALINSKIENÉ és SAMUITIENÉ, 2001), nekrózist egy esetben sem találtam. A litván növények valószínűleg nem csak gyöngyike mozaik vírussal voltak fertőzödvé.



9. ábra. Gyöngyike mozaik vírus tünetei 'Helena' fajtán. (A) levél fonákon, (B) levél felszínen, (C) szabadföldön a virágbimbó felszínre törésekor (Fotó: ÁGOSTON J.)

A gyöngyike klorotikus foltosság vírus (Muscari chlorotic mottle virus) esetében a 'Pink Sunrise' fajtán vizsgáltam a tüneteket. A levelek az egészséges növényekhez képest feltűnő, sárgászöld alapszínűek-, a mozaik tünetek foltszerűek voltak, 0,2-1 mm széles sárga vagy sárgászöld, ritkán sötétzöld színű (10. ábra A). A csíkozottság a level szélén is megfigyelhető volt, és az erek környékén valamint a fonákon jellemzően erősebb tünetek mutatkoztak (10. ábra B). A virágzás vége felé a mintázat elhalványult, majd eltűnt, de a levelek általános sárgulása megmaradt.



10. ábra. Gyöngyike klorotikus foltosság vírus tünetei 'Pink Sunrise' fajtán. (A) levél felszínén a virágbimbó felszínre törésekor és a fonákon (B) ugyan abban a fenológiai stádiumban (Fotó: ÁGOSTON J.)

5.4.5 Vetővirágon (*Sternbergia*) megfigyelt kísérő tünetek

Az egészséges *Sternbergia lutea* növények levelei fényes, sötétzöld színűek, a virág egyszínű aransárga (11. ábra A). Augusztus második felében kezdenek a levelek kifejlődni, majd szeptember elejétől jelennek meg a virágok magányosan a kocsány végén. A növény május végén, vagy június elején húzódik vissza.

A beteg növények levelén hosszanti sárgászöld csíkozottság figyelhető meg a levél teljes hosszában, amely tavasszal erősebb (11. ábra B), ősszel maszkírozódott. A növény fejlődése az egészségestől elmarad, a virágzás gyér, vagy a növény nem virágzik. A visszahúzódás az egészségeshez képest 10-14 nappal korábbra – május közepére – tolódik.



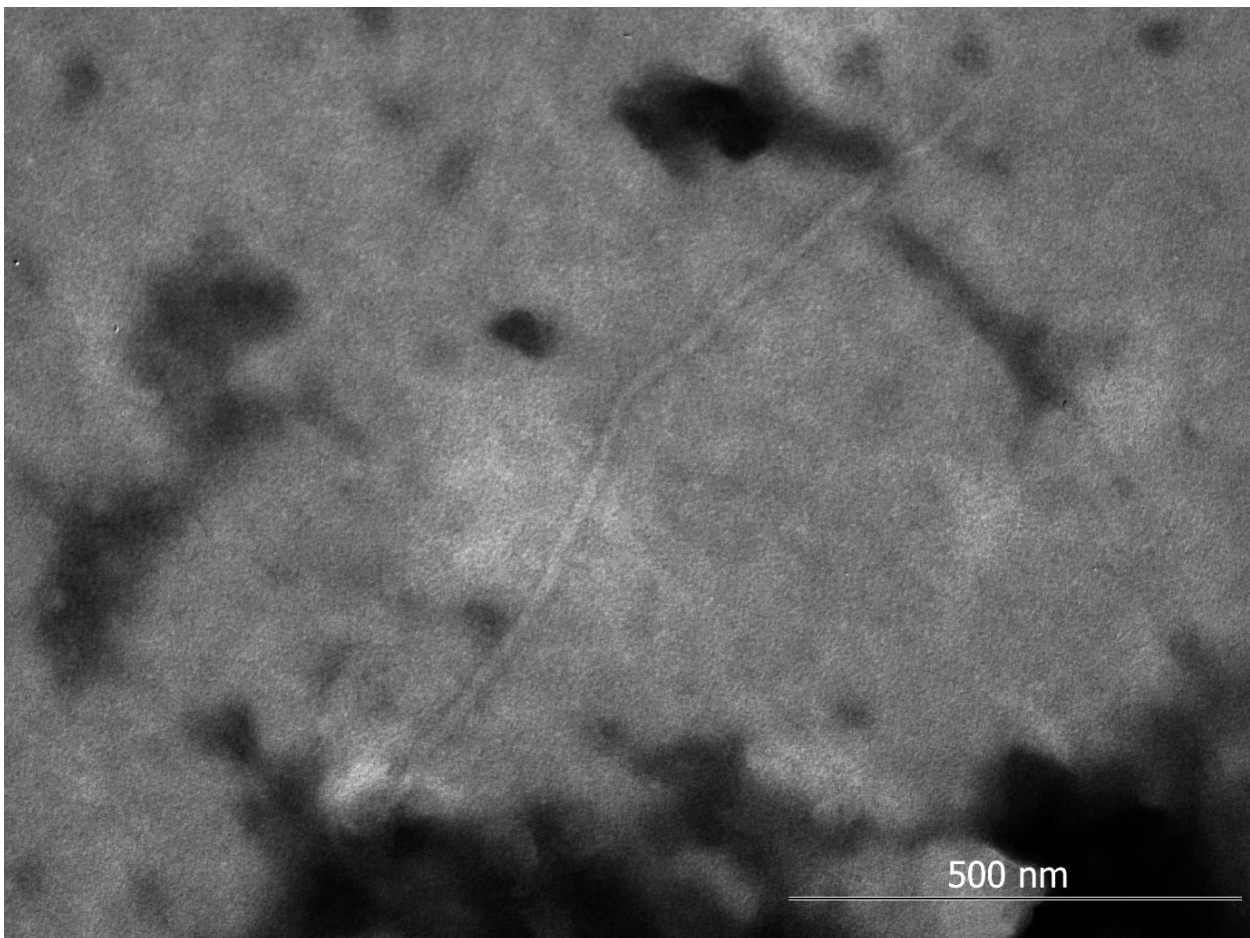
11. ábra. Egészséges (A) és vírusfertőzött (B) *Sternbergia lutea* növények (Fotó: ÁGOSTON J.)

5.5 Tesztnövények mechanikai inokulálásának eredményei

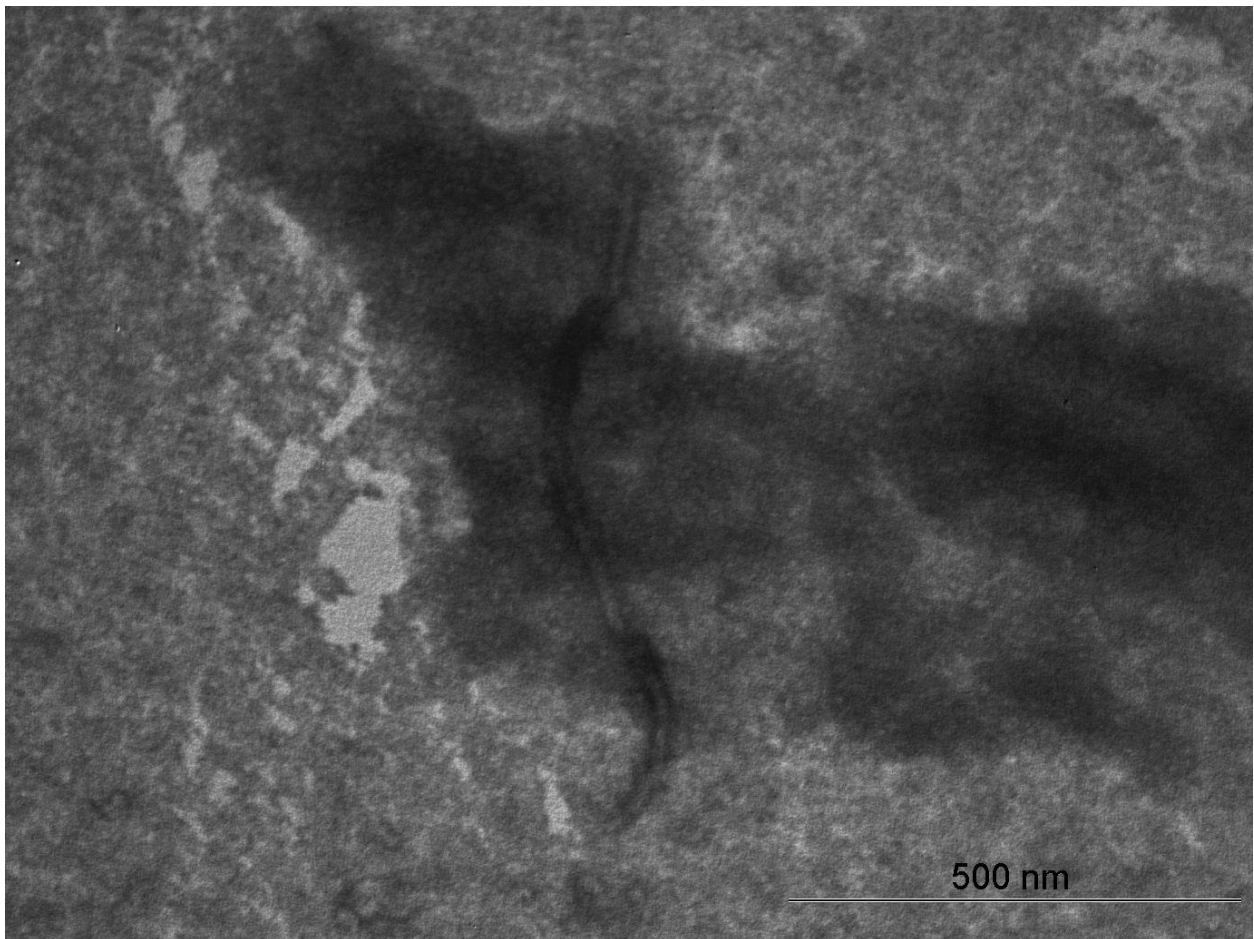
Az öt hetes megfigyelési időszak alatt semmilyen tünetet nem figyeltem meg egyetlen egy inokulált tesztnövényen sem, mely egybevág a korábbi irodalmi adatokkal (ADAMS, 2006; BRUNT, 1996). Ezek alapján az izolált vírusok vélhetően csak egyszikű, a fertőzött növényekkel közeli rokon fajokat képesek megfertőzni.

5.6 Elektronmikroszkópos vizsgálat eredményei

A vizsgálatok mind a 36/3 – liliom foltosság vírus (12. ábra), mind pedig az A1 – tulipán színtörés vírus (13. ábra) minták esetében a potyvírusokra jellemző, körülbelül 780 nm hosszú és 14 nm átmérőjű fonál alakú flexibilis víruspartikulákat azonosítottunk.



12. ábra. Liliom foltosság vírus partikuluma (Fotó: VÁGI P.)



13. ábra. Tulipán színtörés vírus partikuluma (Fotó: VÁGI P.)

5.7 Hibridizációs vizsgálat eredményei

A hibridizációs vizsgálat során a nárcisz késői sárgulás vírus esetében csak a 660 és 661 kódszámú minták adtak pozitív eredményt, a lovagcsillag mozaik vírus esetében pedig csak a 644 számú minta adott pozitív eredményt.

5.8 Koch posztulátumok teljesülésének eredményei

Mindent gazdanövényfaj esetében (*Muscari*, *Tulipa*) sikeres volt a fertőzés (14. és 15. ábrák). A vízzel inokulált növényeken nem jelentkeztek tünetek, és nem lehetett belőlük vírust visszaizolálni. A fertőzött növényekből mindig vissza lehetett izolálni a kórokozót.

A kísérő tünetek minden esetben az inokulációt követő tenyészidőszakban jelentek meg, kivéve a liliomnál, mely egybevág a korábbi irodalmi adatokkal (4. ábra K, L) (DE BEST és mtsai., 2000; DEKKER és mtsai., 1993; MOWAT és mtsai., 1988; VALVERDE és mtsai., 2012).

A fertőzött növények az egészségesekhez képest később kezdtek el virágozni, és hamarabb vonultak nyugalomba (DE BEST és mtsai., 2000).

5.8.1 Gyöngyike (*Muscari*)

Gyöngyike esetében a gyöngyike mozaik vírus (14. ábra A) a 'Helena' fajtával azonos tüneteket okozott. A levél színén a levél teljes hosszában a középvonalon halványzöld sávos mozaik jelentkezett, mely a levél viaszossága miatt nehezen észrevehető. A gyöngyike klorotikus foltosság vírus fertőzés pedig a 'Pink Sunrise' fajtával azonos tüneteket okozott. A levelek sárgászöld alapszínűek lettek, a mozaik tünetek foltoszerűek voltak, 0,2-1 mm széles sárga vagy sárgászöld, ritkán sötétzöld színű. A csíkozottság a level szélén is megfigyelhető volt, és az erek környékén, valamint a fonákon jellemzően erősebb tünetek mutatkoztak (14. ábra B).

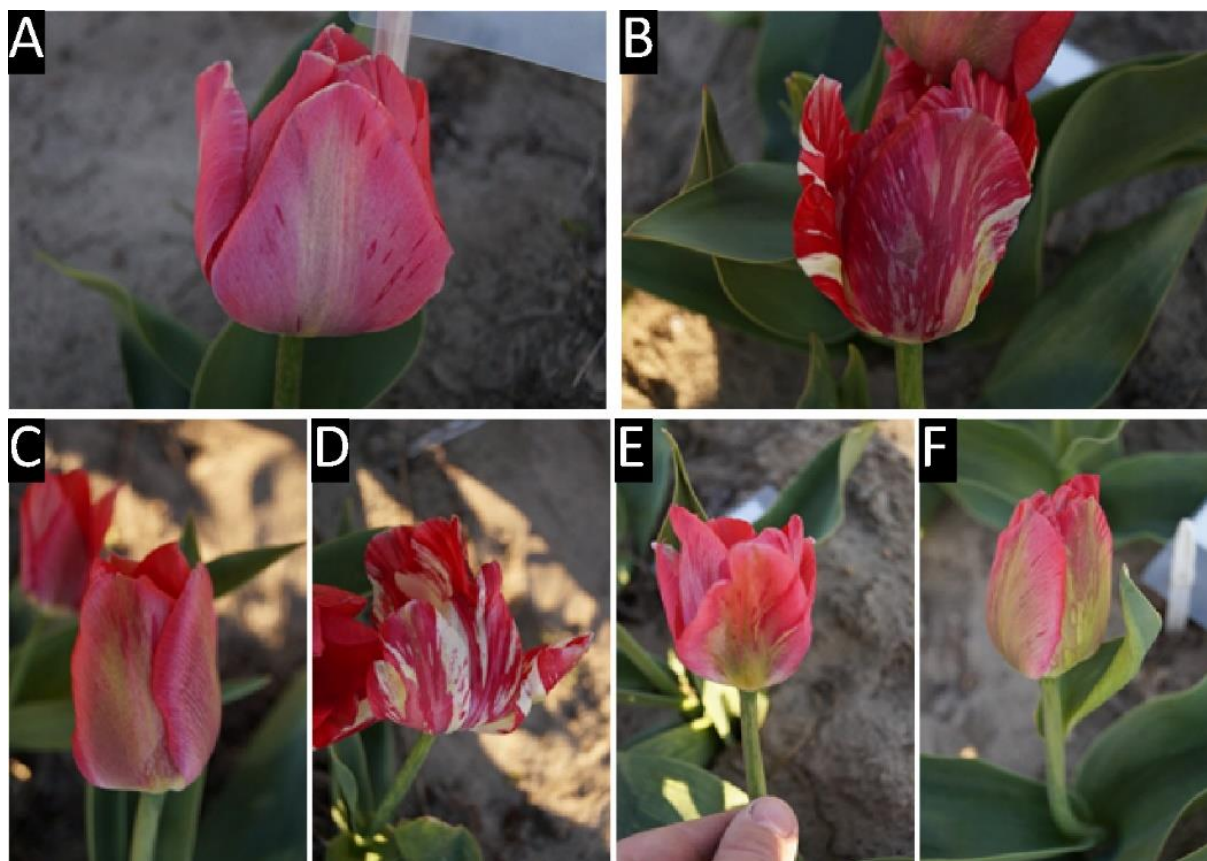
A fertőzött növényekből RT-PCR vizsgálatot végeztünk. Gyöngyike mozaik vírus esetében *EcoRV* (575 / 1046 bp), gyöngyike klorotikus foltosság vírus esetében pedig *HpaI* (581 / 1048 bp) restrikciós endonukleázzal emésztettük a PCR termékeket. Mindkét esetben a PCR termékek teljesen emésztődtek és a várt hosszúságú fragmentek keletkeztek.



14. ábra. Gyöngyike mozaik vírus (A) és gyöngyike klorotikus foltosság vírus (B) fertőzés eredménye *Muscari armeniacum* magoncokon (Fotó: ÁGOSTON J.)

5.8.2 Tulipán (*Tulipa*)

Tulipán esetében minél több vírusfajjal inokuláltuk a hagymát annál erősebb tünetek jelentkeztek virágzáskor, és annál később kezdett el virágozni, ugyanakkor mindhárom vírus fertőzésekor a virágtünetek nem voltak olyan erősek, mintha csak liliom foltosság vírussal fertőztük volna őket (15. ábra F).



15. ábra. Tulipa Darwin-hybrid 'van Eijk' fertőzés tulipán vírusokkal (Fotó: ÁGOSTON J.)

(A) TBV, (B) LMoV, (C) ReTBV, (D) LMoV+TBV, (E) TBV+ReTBV, (F)
TBV+LMoV+ReTBV.

A visszahúzódás időpontja fordítottan volt arányos az inokulált vírusok számával, minél több vírussal inokuláltuk a hagymát, annál hamarabb húzódott vissza a növény. Érdekes, hogy a liliom foltosság vírus mind tulipán, mind pedig liliom esetében a virágszintörés és a levéltünetek sokkal erősebbek voltak (4. ábra L és 15. ábra B). A Darwin-hybrid tulipánok a szakirodalom szerint nem fogékonyak a tulipán szintörésre (DE BEST és mtsai., 2000; KRABBENDAM és BAARDSE, 1966), a kontrollhoz képest nem jelentkezett törpülés egyetlen egy vírus esetében sem, és ahogy az ábrákon látszik a tulipán szintörés vírus és Rembrandt tulipán szintörés vírus igen gyenge tüneteket okozott (15. ábra A, C, E) még akkor is, ha mindkét vírussal megfertőztük a növényeket. A szintörés gyenge, vonalas mintázottságban mutatkozott. A liliom foltosság vírus, valamint a liliom foltosság vírus és Rembrandt tulipán szintörés vírus együttes inokulálásakor a szintörés erőteljes volt, a rózsaszín szín szinte teljesen eltűnt a leplekről, fehérré és pirosas rózsaszínné

hasadt (15. ábra B és D), megjelent a lángszerű rajzolat. Ilyen tünetet a 'Lambada' (2. ábra G), a 'Groenland' (2. ábra L) és a 'Blue Diamond' (2. ábra N) fajták tulipán színtörés vírus fertőzése esetén láttunk. A mindhárom vírussal inokulált tő esetén az okozott tünetek erősségben jóval elmaradtak, mint a csak liliom foltosság vírussal történt fertőzés esetén. Megjelent a színtörés a virágban, – fehér és rózsapiros csíkozottság – de intenzitásban a liliom foltosság vírus tünetekhez képest 60-70%-al mérsékeltebb volt, és inkább a leplek alsó részén jelentkezett, ahol a virág kissé zöldült is. A leplek tövének zöldülése a leplek lehullásáig megmaradt, valamint 1 mm széles 2-3 mm hosszú zöld mozaik is jelentkezett (15. ábra F).

Az fertőzött növényekből RT-PCR vizsgálatot végeztünk. tulipán színtörés vírus esetében *Clal* (389 / 1288 bp), liliom foltosság vírus esetén *SacII* (703 / 975 bp), Rembrandt tulipán színtörés vírus esetén *HindIII* (522 / 1137 bp), több vírussal történő visszafertőzés esetében *NheI* (liliom foltosság vírus: 436 / 1240, tulipán színtörés vírus: 546 / 1129, Rembrandt tulipán színtörés vírus: 772 / 887 bp) restriktív endonukleázzal emésztettük a specifikus PCR termékeket. Minden esetben a várt hosszúságú fragmentek keletkeztek és a PCR termékek teljesen emésztődtek.

Liliomon történt visszafertőzés esetén az RT-PCR vizsgálatokat nem végeztük el.

5.9 Filogenetikai elemzés eredményei

5.9.1 Tulipán (*Tulipa*)

Az 5.2 fejezetben tulipánról azonosított vírusokon kívül a tulipánt fertőző vírusok filogenetikai elemzéséhez a következő GenBank azonosítójú szekvenciákat használtam fel:

- tulipán színtörés vírus: AB078007, AB090385, KF442403, KT923168, S44147, X63630,
- liliom foltosság vírus: AB053256, AF531458, AJ310203, EU267778, FJ618539, JN127341, KF553658, KJ561805, MF781080, MH360239,
- Rembrandt tulipán színtörés vírus: AB674535, JN127335,
- dohány karcolatos vírus: NC_001555.

A teljes köpenyfehérje régió esetében a TAMURA-NEI szubsztitúciós modell (1993) Gamma disztribúcióval és invariáns helyekkel adta a legkisebb AICc értéket: 11042,30. Az elkészült és annotált törzsfát a 16. ábrán mutatom be.

A primerek által kiemelt nukleinsav régió esetében a modell keresést nem végeztem el, mert a SplitsTree programnak erre az információra nem volt szüksége a törzsháló elkészítéséhez, az elkészült törzshálót nem lehetett „rootolni” sem. Az elkészült és annotált törzshálót a 17. ábrán mutatom be.

A vírusok köpenyfehérje gén régiójának nukleotid sorrend azonosságáról összefoglalást a 6. táblázatban ismertetem egész %-ra kerekítve.

6. táblázat: Összefoglalás a filogenetikai elemzésben felhasznált vírusok CP gén nukleotid sorrend azonosságáról (Egész %-ra kerekítve)

Vírus	Fajonkénti referencia szekvenciához való nukleotid sorrend azonosság %*			
	S44147 (LMoV)	X63630 (TBV)	AB674535 (ReTBV)	NC_001555 (TEV)
LMoV	86 – 100%	62 – 63%	67 – 69%	59 – 58%
TBV	62 – 63%	96 – 100%	67%	63 – 65%
ReTBV	67 – 69%	66 – 67%	90 – 100%	61 – 62%
TEV	59%	65%	61%	100%

*: M3 táblázat nyomán.

Szürke cellaháttérrel a 76% fölötti nukleotid sorrend azonosságot mutató izolátumokat és fajokat jelöltem.

Potyvírusok esetén a poliprotein hasítóhelyek részben konzerváltak. Ennek vizsgálatára a filogenetikai elemzésben felhasznált szekvenciák esetében vizsgáltam az Nib/CP hasítóhely aminosav sorrendjét, ahol ez elérhető volt. Eredményeimről összefoglalást a 7. táblázatban közlök.

7. táblázat: Összefoglalás az Nib/CP hasítóhely aminosav sorrendjéről a P4 – P1' pozíciókban

Vírus	Hasítóhely*	Gyakoriság*
LMoV	VAFQ/A	21
TBV	VQFQ/A	19
ReTBV	VIFQ/A	3
ReTBV	VILQ/A	1
TEV	LYFQ/S	1

*: M4 táblázat nyomán.

Az ICTV 10. jelentése alapján potyvírusok esetében a fajok elkülönítésének az alapja, hogy a poliprotein, vagy a köpenyfehérje régió nukleotid sorrendjének azonossága 76% alatti (WYLIE és mtsai., 2017), valamint a poliprotein hasítóhelyek részben konzerváltak legyenek (ADAMS és mtsai., 2005a).

A 6. táblázatban látható, hogy az egyes vírusfajokhoz tartozó izolátumok egymáshoz viszonyított nukleotid sorrend azonossága minden esetben 76% feletti, a fajok közötti azonosság pedig 75% alatti, valamint a hasítóhelyek aminosav sorrendje részben konzervált (7. táblázat).

Az ML törzsfa alapján világosan látható (16. ábra), hogy a három vírus – tulipán színtörés vírus, Rembrandt tulipán színtörés vírus és liliom foltosság vírus – faj szinten jól elkülönülnek, de egy közös ősrre vezethetők vissza. A tulipán színtörés vírus egy külön kládot, míg a liliom foltosság

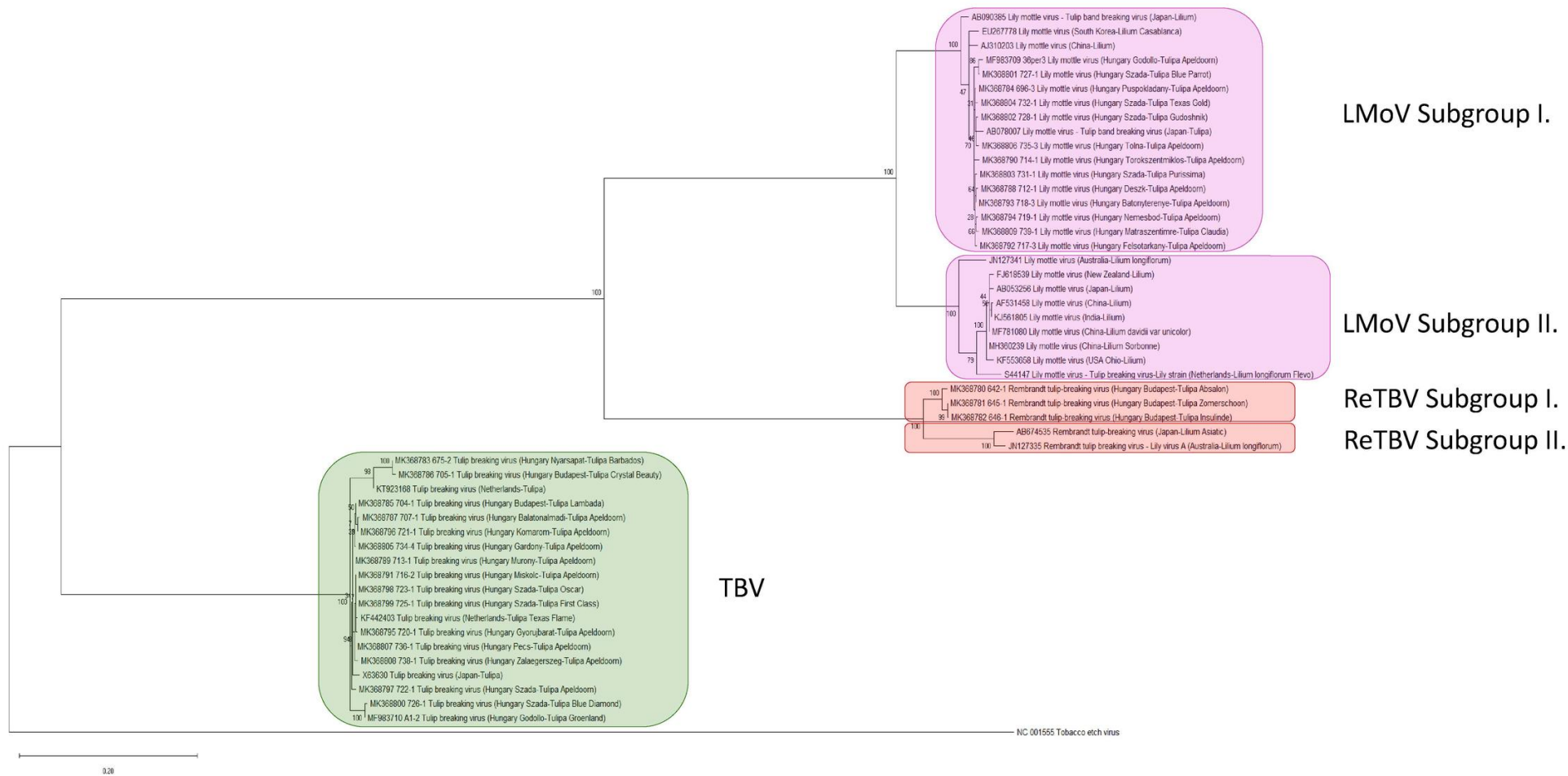
vírus és a Rembrandt tulipán szintörés vírus egy másik közös ősről visszavezethető kládot alkot. Ebben a közös kládban mindkét vírusfaj külön ágon helyezkedik el. Ezeket a fő ágakat 100%-os Bootstrap értékek támasztják alá statisztikailag. A lilium foltosság vírus és a Rembrandt tulipán szintörés vírus esetében a faj két jól elkülöníthető alcsoportot alkot, melyet szintén 100%-os Bootstrap értékek támasztanak alá. A két lilium foltosság vírus alcsoportot ZHENG és munkatársai „Tulip breaking virus lily strain”-nek és „Tulip band breaking virus”-nak nevezték el (2003), de ezen csoportok nevei nem létező vírusfajokon alapulnak. Vizsgálataim RIVAS és munkatársainak eredményeit támasztják alá, akik a „Tulip band breaking virus” csoportot a lilium foltosság vírus I. alcsoportjának (subgroup I.), a „Tulip breaking virus lily strain” csoportot pedig a lilium foltosság vírus II. alcsoportjának (subgroup II.) nevezte át (2016). Megjegyzendő, hogy az általam vizsgált összes lilium foltosság vírus izolátum az I. alcsoportba tartozik. Ebben az alcsoportban 3 izolátum különböző lilium fajokról származott, egy Japánból, egy Kínából és egy Dél-Koreából, valamint volt egy tulipánról származó Japán izolátum is. Az AB078007 azonosítójú izolátum mutatja a legközelebbi rokonságot a Magyarországról azonosított izolátumokkal, azonban ez az izolátum a GenBank-ban tulipán szalagos virágszintörés vírusként szerepel, de a filogenetikai törzsfánk alapján rendszertanilag a lilium foltosság vírusához tartozik. A II. alcsoport tagjai különböző lilium fajokról és fajtákról származnak Ausztrál, Új-Zélandi, Japán, Kínai, Indiai, Amerikai és Holland izolátumok, ezek alapján ez az alcsoport az egész világon elterjedt. Az ebbe a csoportba tartozó S44147 azonosítójú izolátum – ami Hollandiából *Lilium longiflorum* 'Flevo' fajtáról származik – tulipán szintörés vírus „Lily strain”-ként került azonosításra, de a törzsfá alapján határozottan lilium foltosság vírus.

Rembrandt tulipán szintörés vírus esetén is látható, hogy a faj két kládra oszlik. A korábban liliumról leírt izolátumok a II. alcsoportba tartoznak, a JN127335 azonosítójú szekvencia Ausztráliából származik, és Lily virus A-ként azonosították. A másik alcsoportba (I.) kizárólag tulipánról leírt izolátumok találhatók.

A tulipán szintörés vírus esetében az izolátumok egy sokkal kompaktabb kládot alkotnak, kizárólag tulipánról származó szekvenciák vannak, a Holland, Magyar és Japán izolátumok egy fő ágon helyezkednek el.

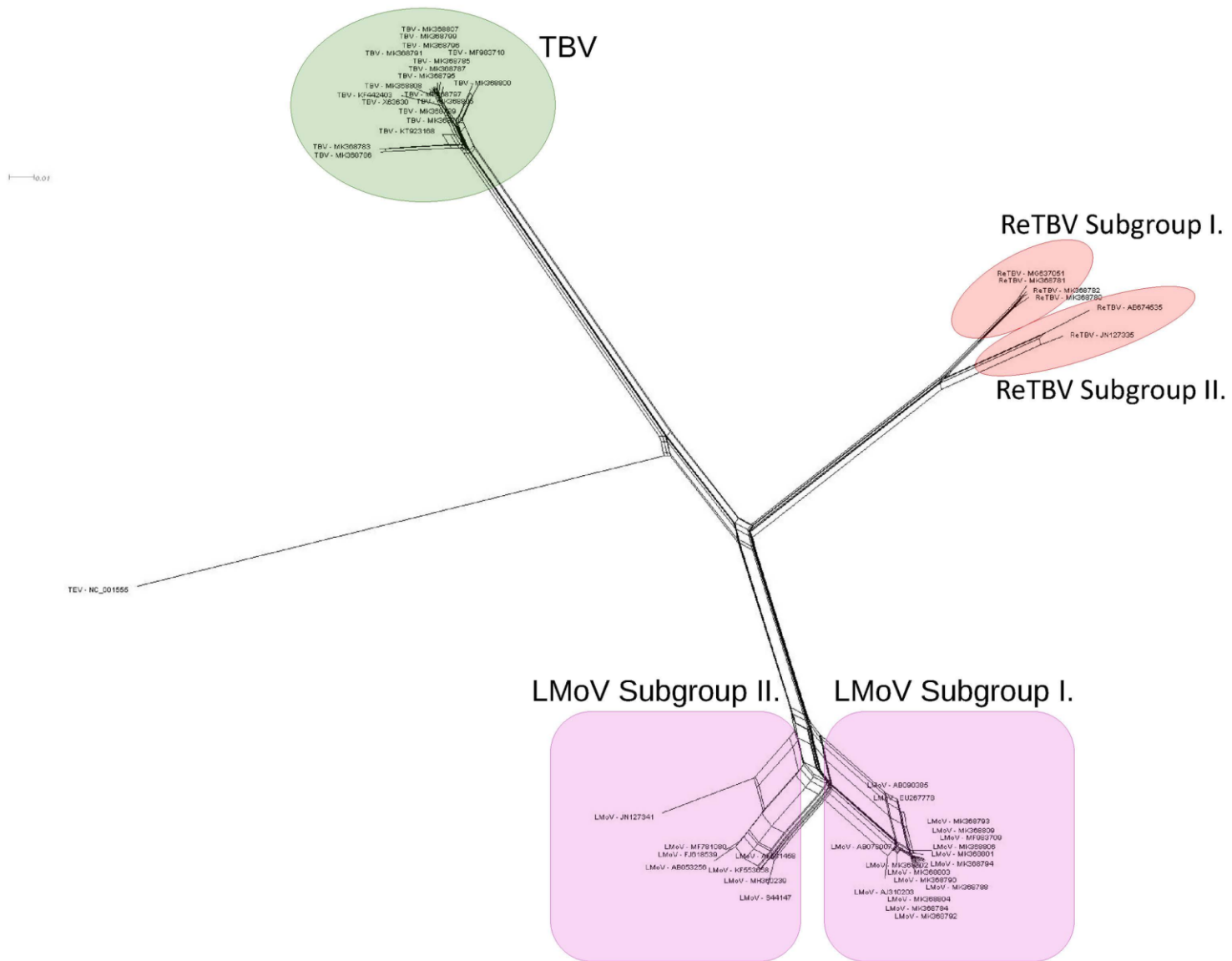
A filogenetikai háló (17. ábra) – mely az NIB gén végéből, a teljes CP génből, valamint a 3' nem kódoló régióból készült – szintén a fenti megállapításokat támasztja alá.

A törzsfán valamint törzshálón kialakult kládok, a CP gén nukleotid sorrend azonosságok alapján, valamint az NIB/CP hasítóhelyek aminosav sorrendje alapján a 3 vírus önálló fajt alkot, ami összhangban van az ICTV 10. jelentésével (WYLIE és mtsai., 2017) és ADAMS és munkatársainak eredményeivel (2005a).



16. ábra. Tulipánt fertőző vírus izolátumok teljes köpenyfehérje génjének ML törzsfája (Forrás: ÁGOSTON J.)

A Bootstrap értékek a törzsfá ágain %-os értékben lettek feltüntetve.



17. ábra. Tulipánt fertőző vírus izolátumok teljes köpenyfehérje génjének SplitsTree törzshálója (Forrás: ÁGOSTON J.)

5.9.2 Nárcisz (*Narcissus*)

A nárciszt fertőző vírusok filogenetikai elemzéséhez a következő GenBank azonosítójú szekvenciákat használtam fel:

- lovagcsillag mozaik vírus: AY566239, AY590143, GQ844296, GQ857550, JN135235, KX462993, MK132192, MN068006,
- nárcisz késői sárgulás vírus: LC158450, LC158451, LC158467, MK132193, MK132194,
- dohány karcolatos vírus: NC_001555.

A teljes köpenyfehérje gén esetében a TAMURA szubsztitúciós modell (1992) Gamma disztribúcióval adta a legkisebb AICc értéket: 8405,256. Az elkészült és annotált törzsfát a 18. ábrán mutatom be.

A törzsfán a nárcisz késői sárgulás vírus és a lovagcsillag mozaik vírus markánsan elkülönülnek, amit 100%-os Bootstrap értékek támasztanak alá.

A nárcisz késői sárgulás vírus 660-2 és 661-1 izolátumok mindegyike Japánból származó izolátumokkal mutatja a legközelebbi rokonságot, melyek szintén nárciszról származnak. Érdekes, hogy mindhárom Japán izolátum az ott őshonos vadon begyűjtött *Narcissus tazetta* var. *chinensis* fajról származott (OHSIMA és mtsai., 2016).

Lovagcsillag mozaik vírus esetében a két magyar izolátum két külön kládban helyezkedik el, pedig ugyan arról a növényről származik mindkét izolátum. A 644-1 izolátum legnagyobb homológiát egy Indiai lovagcsillagról (*Hippeastrum*) származó izolátummal (JN135235) mutatta, míg a 644-4 izolátum Amerikai (GQ844296) és Taiwani (AY566239) hölgyliliomról (*Amaryllis belladonna*) származó izolátumokkal mutatta. A két lovagcsillag mozaik vírus izolátum egymással 83,922% nukleotid azonosságot mutat a teljes CP génben. Ezek alapján feltételezhető, hogy a növény két külön lovagcsillag mozaik vírus izolátummal fertőződött meg.



18. ábra. Nárcisz késői sárgulás vírus és lovagszillag mozaik vírus izolátumok teljes köpenyfehérje génjének ML törzsfája (Forrás: ÁGOSTON J.)

A Bootstrap értékek a törzsfá ágain %-os értékben tüntettem fel. Piros pöttyel a Magyarországról származó izolátumokat jelöltem.

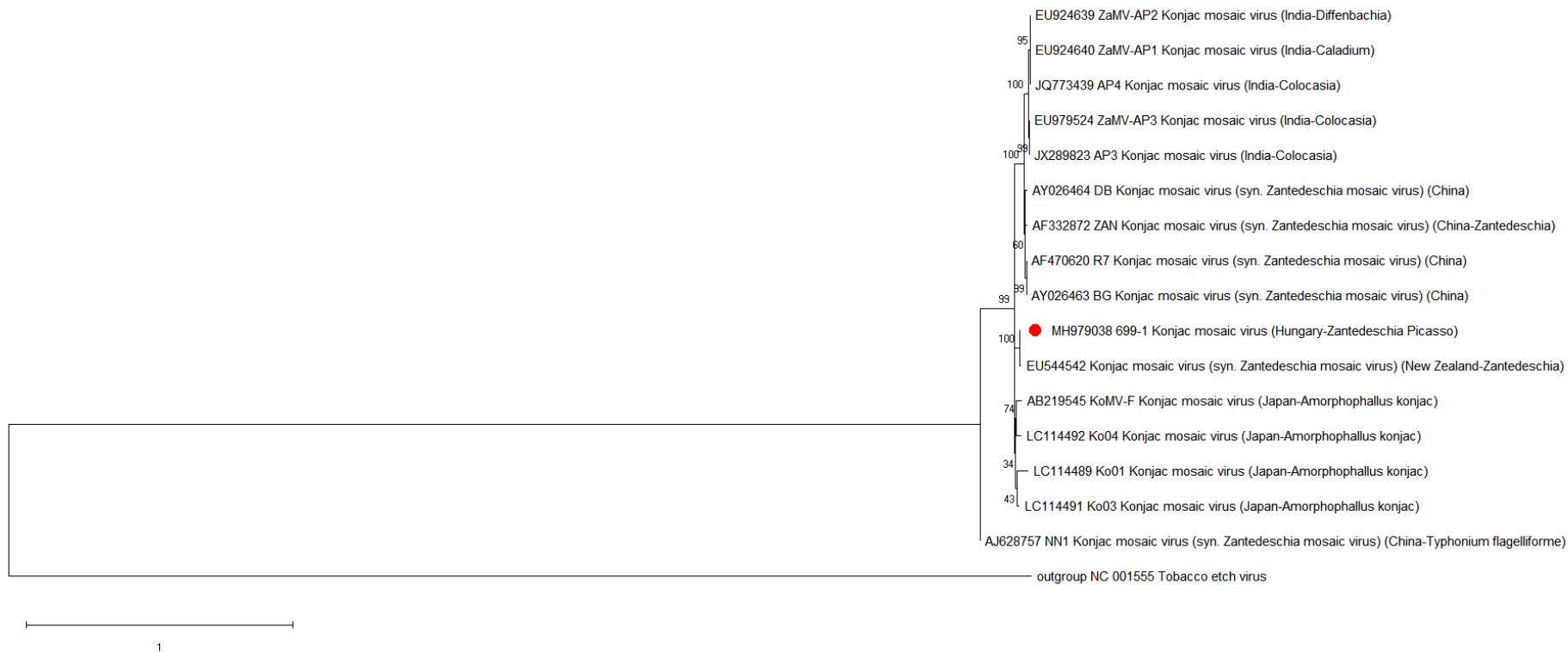
5.9.3 Kála (*Zantedeschia*)

A kálát fertőző vírusok filogenetikai elemzéséhez a következő GenBank azonosítójú lepoárd kontyvirág mozaik vírus szekvenciákat használtam fel: AB219545, AF332872, AF470620, AJ628757, AY026463, AY026464, EU544542, EU924639, EU924640, EU979524, JQ773439, JX289823, LC114489, LC114491, LC114492, MH979038. Az ML törzsfá esetében az NC_001555 (dohány karcolatos vírus, TEV), míg a NJ törzsfához az outgroup az NC_001616 (burgonya Y vírus, PVY) szekvencia volt.

A teljes köpenyfehérje gén nukleotid sorrend esetében a TAMURA-NEI szubsztitúciós modell (1993) Gamma disztribúcióval és invariáns helyekkel adta a legkisebb AICc értéket: 6642,854. Az elkészült és annotált törzsfát a 19. ábrán mutatom be. A teljes köpenyfehérje régió aminosav sorrend esetében JONES-TAYLOR-THORNTON (JONES és mtsai., 1992) aminosav szubsztitúciós modell alkalmazásával (AICc: 3669.171) került megszerkesztésre a Neighbor-Joining törzsfá, melyet a 20. ábrán mutatok be.

Az ismert nukleinsav sorrendű izolátumok filogenetikai vizsgálata során megállapítottuk, hogy az általunk azonosított lepoárd kontyvirág mozaik vírus a legközelebbi rokonságban egy szintén káláról származó, Új-Zélandon azonosított izolátummal mutatta (99,05%, EU544542). Sajnos az általam tesztelt növények szaporítóanyagának eredeti származási helye nem ismert, így a közeli kapcsolat magyarázata nem lehetséges. A törzsfá alapján Indiában egységes populáció fordul elő, hiszen a különböző gazdanövényekről származó lepoárd kontyvirág mozaik vírus izolátumok a törzsfá azonos ágán találhatóak (19. és 20. ábrák). Ez alapján feltételezhető, hogy az országban egyszer megjelent izolátum már sikeresen terjedt el a különböző növénykultúrákban. Ugyanakkor Kínában és Japánban előforduló izolátumok a törzsfá különböző ágain találhatóak, így valószínűsíthető, hogy ezekben az országokban több független esemény eredményezte a vírus terjedését.

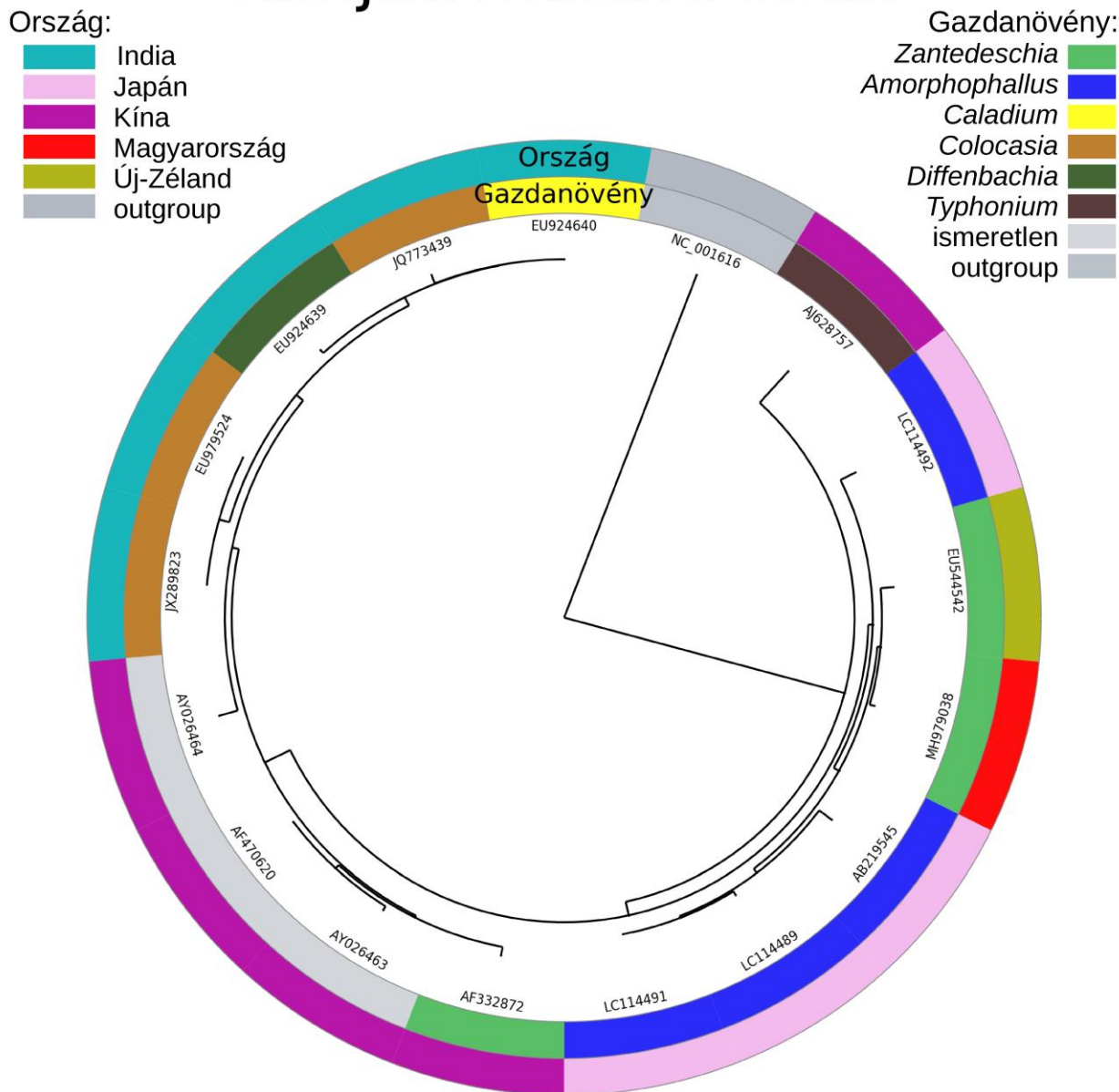
Érdekes, hogy a *Typhonium*-ról származó izolátum mindkét törzsfá esetében (19. és 20. ábrák) teljesen külön ágon helyezkedik el, önálló kládot alkotva. Ez felveti annak a lehetőségét, hogy ez az izolátum potenciálisan rekombinációs esemény eredményeként jött létre, ám ez a jelenlegi adatokból nem bizonyítható. A lepoárd kontyvirág mozaik vírus gazdaságilag jelentős haszonnövényeken (*Amorphophallus*, *Colocasia*) és dísznövényeken is előfordul (20. ábra), valamint kedvelt szobanövényről, a Zanzibári dűnefűről (*Zamioculcas zamiifolia*) is leírták mint kórokozót (ALEXANDRE és mtsai., 2013), ezért várható a vírus további felbukkanása, esetleg honosodása. Jelenleg Európából kizárólag az ebben a munkában közölt lepoárd kontyvirág mozaik vírus nukleotid sorrendje érhető el, amely a legközelebbi rokonságot az Új-Zélandról származó izolátummal mutatja.



19. ábra. Lepoárd kontyvirág mozaik vírus izolátumok teljes köpenyfehérje génjének ML törzsfája (Forrás: ÁGOSTON J.)

A Bootstrap értékek a törzsfá ágain %-os értékben tüntettem fel. Piros pöttyel a Magyarországról származó izolátumokat jelöltem.

Konjac mosaik vírus



20. ábra. Magyarországról izolált lepoárd kontyvirág mozaik vírus rokonsági viszonyai a köpenyfehérje aminosav sorrendje alapján (Forrás: ÁGOSTON J.)

A belső gyűrűn a gazdanövények, a külsőn pedig a származási országok vannak külön színnel jelölve (outgroup: NC_001616, *Potato virus Y*).

5.9.4 Gyöngyike (*Muscari*)

A gyöngyikét fertőző vírusok filogenetikai elemzéséhez a következő GenBank azonosítójú szekvenciákat használtam fel:

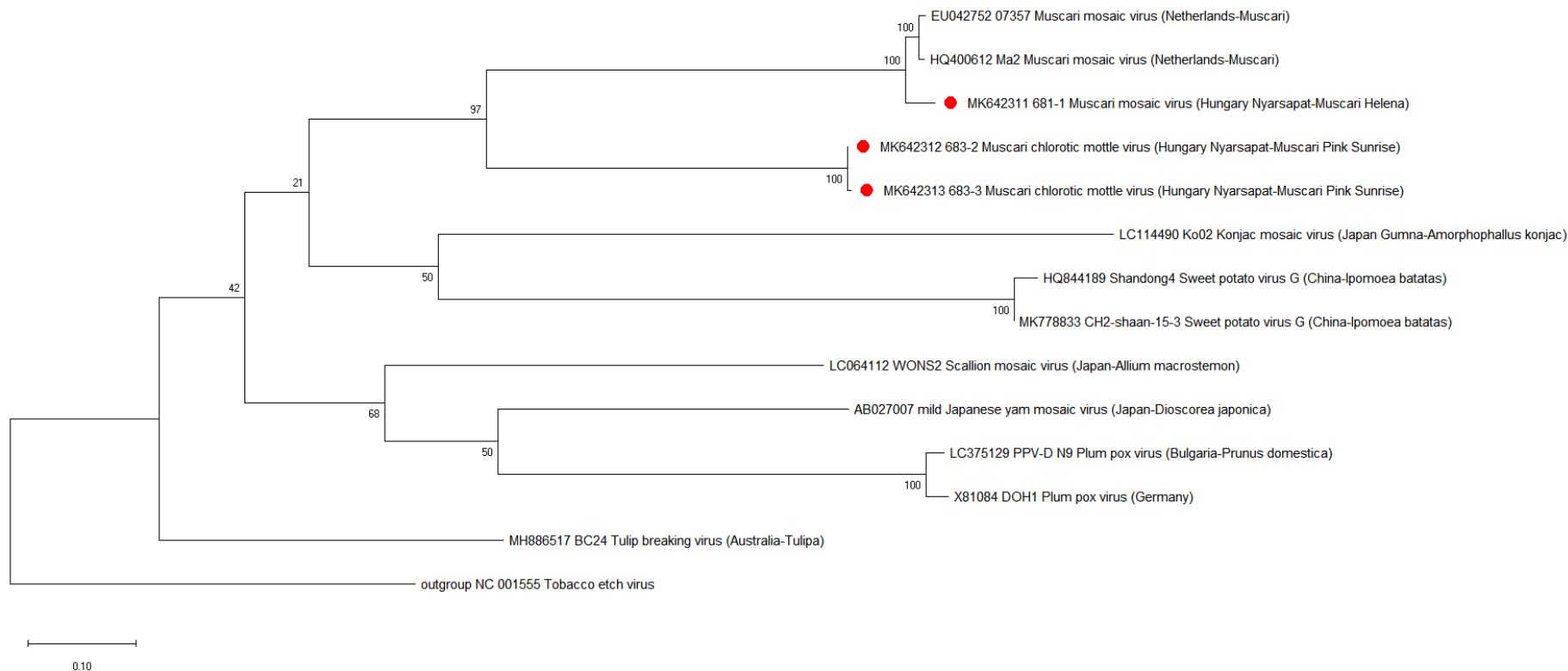
dohány karcolatos vírus: NC_001555,
édesburgonya G vírus: HQ844189, MK778833,
gyöngyike klorotikus foltosság vírus: MK642312, MK642313,
gyöngyike mozaik vírus: EU042752, HQ400612, MK642311,
japán jam mozaik vírus: AB027007,
leopárd konytvirág mozaik vírus: LC114490,
mogyoróhagyma mozaik vírus: LC064112,
szilva himlő vírus: LC375129, X81084
tulipán színtörés vírus: MH886517.

A teljes köpenyfehérje gén nukleotid sorrend esetében a TAMURA-NEI szubsztitúciós modell (1993) Gamma disztribúcióval és invariáns helyekkel adta a legkisebb AICc értéket: 15991,570. Az elkészült és annotált törzsfát a 21. ábrán mutatom be.

Annak ellenére, hogy a gyöngyikét fertőző vírusok teljes köpenyfehérje génjének BLAST analízise során 76% feletti azonosságot mutató izolátumok is voltak, a keresés lefedettségén (Ident %) látható volt, hogy nem 100%. A legnagyobb hasonlóságot mutató izolátumokból épített törzsfán (21. ábra) látható, hogy mind a gyöngyike mozaik vírus (*Muscari mosaic virus*), mind pedig a gyöngyike klorotikus foltosság vírus (*Muscari chlorotic mottle virus*) izolátumok külön-külön kládot alkotnak, és ezt 97-100%-os Bootstrap értékek támasztják alá. A törzsfáról az is leolvasható, hogy minden más vírus faj is önálló kládot alkot, tehát minden faj filogenetikailag jól elkülönül.

Gyöngyike mozaik vírus esetében a hollandiából származó izolátumok külön kládot alkotnak a fajon belül, így valószínű, hogy a holland izolátumok nagyon közeli rokonságban állnak egymással.

A filogenetikai elemzést kibővítve elkészítettem a törzsfán ábrázolt izolátumok páronkénti nukleotid sorrend összehasonlítását is, melynek eredményeiről a 8. táblázatban számolok be.



21. ábra. Gyöngyike mozaik vírus és gyöngyike klorotikus foltosság vírus izolátumok teljes köpenyfehérje gén ML törzsfája közeli rokon potyvírus fajokkal (Forrás: ÁGOSTON J.)

A Bootstrap értékek a törzsfá ágain %-os értékben tüntettem fel. Piros pöttyel a Magyarországról származó izolátumokat jelöltem.

8. táblázat: Gyöngyike mozaik vírus és gyöngyike klorotikus foltosság vírus köpenyfehérje gént kódoló részeinek páronkénti nukleotid sorrend azonossága a BALST analízis által hozzájuk közeli rokon fajként azonosított izolátumok nukleotid sorrend azonosságával

Nukleotid sorrend azonosság (%)

Vírus faj tudományos neve	Azonosító	MKG42311	MKG42312	AB027007	EU042752	HQ400612	NC_001555	HQ844189	LC064112	LC114490	LC375129	MH886517	MK778833	X81084	MKG42313
Muscari mosaic virus	MKG42311	100,00													
Muscari chlorotic mottle virus	MKG42312	67,54	100,00												
Japanese yam mosaic virus	AB027007	61,81	62,12	100,00											
Muscari mosaic virus	EU042752	95,90	67,41	62,56	100,00										
Muscari mosaic virus	HQ400612	96,02	67,16	62,81	98,88	100,00									
Tobacco etch virus	NC_001555	61,89	62,47	63,52	62,53	62,40	100,00								
Sweet potato virus G	HQ844189	61,19	62,04	60,34	61,44	61,19	62,86	100,00							
Scallion mosaic virus	LC064112	62,33	62,75	65,55	61,95	62,33	62,21	60,79	100,00						
Konjac mosaic virus	LC114490	60,20	58,76	62,58	60,32	59,70	59,70	60,12	59,34	100,00					
Plum pox virus	LC375129	60,92	62,42	66,09	61,55	61,42	61,47	56,06	66,27	61,68	100,00				
Tulip breaking virus	MH886517	62,23	64,80	65,67	62,48	62,61	66,29	61,60	65,45	63,09	64,73	100,00			
Sweet potato virus G	MK778833	61,19	62,77	60,57	61,44	61,19	63,50	97,84	61,39	60,24	56,06	61,48	100,00		
Plum pox virus	X81084	59,93	62,18	67,13	60,80	60,42	61,47	55,96	66,27	61,44	96,26	64,11	55,96	100,00	
Muscari chlorotic mottle virus	MKG42313	67,54	99,51	61,75	67,41	67,16	62,60	61,80	62,87	58,64	62,42	64,55	62,53	62,18	100,00

Sárga színnel jelölve a gyöngyike mozaik vírus (Muscari mosaic virus), és az izolátumok közötti azonosság %.

Halványkék színnel jelölve a gyöngyike klorotikus foltosság vírus (Muscari chlorotic mottle virus) és az izolátumok közötti azonosság %.

Halványzöld színnel jelölve a két gyöngyike vírus izolátumai közötti azonosság %.

A táblázatból leolvasható, hogy a két holland izolátum egymással 98,88%-ban azonosak, míg a magyar izolátummal 95,90 – 96,02% azonosságot mutatnak. Úgyszintén a gyöngyike klorotikus foltosság vírus izolátumok egymással 99,51%-ban azonosak, mindkét izolátum egy növényből származik. Tovább elemezve a táblázatot láthatjuk, hogy a köpenyfehérje génben nincs más izolátum, ami 76%-nál magasabb azonosságot mutatna a két gyöngyike vírussal. A két vírus egymáshoz viszonyítva is mindössze 67,16 – 67,54% azonosságot mutat.

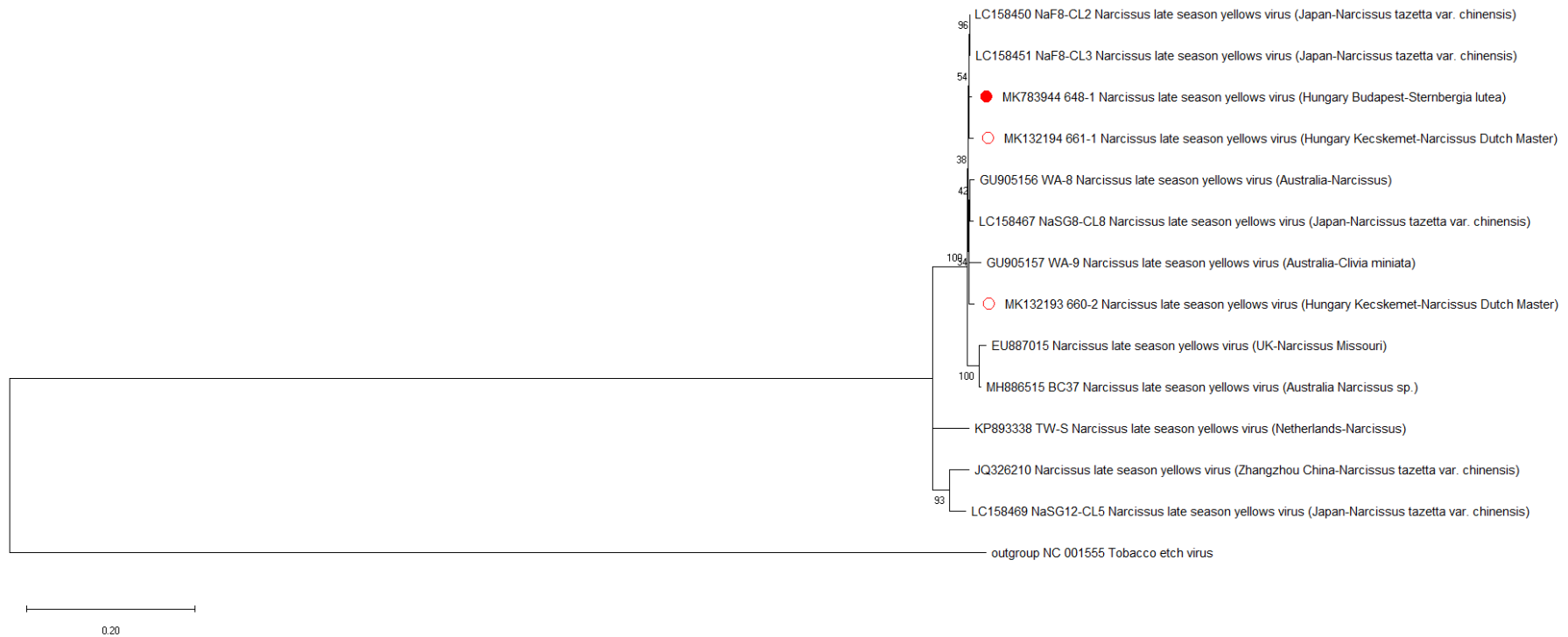
Az ICTV 10. jelentése alapján potyvírusok esetében a fajok elkülönítésének az alapja, hogy a poliprotein, vagy a köpenyfehérje régió nukleotid sorrendjének azonossága 76% alatt legyen (WYLIE és mtsai., 2017). Így a gyöngyikén azonosított 2 vírus eredményeim alapján jogosultak a faj státuszra.

5.9.5 Vetővirág (*Sternbergia*)

A vetővirágot fertőző vírus filogenetikai elemzéséhez a következő GenBank azonosítójú nárcisz késői sárgulás vírus szekvenciákat használtam fel: EU887015, GU905156, GU905157, JQ326210, KP893338, LC158450, LC158451, LC158467, LC158469, MH886515, MK132193, MK132194, MK783944, valamint a dohány karcolatos vírust NC_001555 izolátumát „outgroup”-ként.

A teljes köpenyfehérje gén vizsgálatokor a TAMURA-NEI szubsztitúciós modell (1993) invariáns helyekkel adta a legkisebb AICc értéket: 5765,467. Az elkészült és annotált törzsfát a 22. ábrán mutatom be.

A vetővirágról származó izolátum filogenetikailag legközelebb a kecskeméti 'Dutch Master' nárciszról származó izolátummal (MK132194), valamint két Japánból származó izolátummal (LC158450, LC158451) mutat rokonságot. Utóbbi két izolátumot vadon élő *Narcissus tazetta* var. *chinensis* növényekről gyűjtötték (OHSHIMA és mtsai., 2016). A törzsfán szereplő nárcisz késői sárgulás vírus izolátumok 3 jól elkülönülő kládra oszlanak. A legnagyobb kládba 10 izolátum tartozik, melyek szoros rokonságot mutatnak. Egy kínai (JQ326210) és egy Japán (LC158469) izolátum külön kládot alkot, ezeket az izolátumokat szintén az ott őshonos *Narcissus tazetta* var. *chinensis*-ről származnak. A Japán izolátum ebben az esetben is vad növényekről származott. A KP893338 azonosítójú izolátum Hollandiából származik, szintén nárciszról, ám ez külön ágon helyezkedik el a törzsfán.



22. ábra. Nárcisz késői sárgulás vírus virus izolátumok teljes köpenyfehérje génjének ML törzsfája (Forrás: ÁGOSTON J.)

A Bootstrap értékek a törzsfá ágain %-os értékben lettek feltüntetve. Piros pöttyel a vetővirág izolátumot, piros körökkel a Magyarországi nárcisizról származó izolátumokat jelöltem.

5.10 Rekombinációs vizsgálat eredményei

Az RDP program 6 rekombinációs eseményt azonosított. Ezeket az eseményeket legalább 3 különböző módszerrel találta rekombinánsnak. Minden rekombinációs eseményt csak egy szekvenciában sikerült azonosítani, és minden esemény fajon belüli rekombináció volt. A rekombinációs eseményekről összefoglalást a 9. táblázatban közlök. A rekombinációs esemény sorszáma megegyezik a program általi sorrendben azonosított események sorszámával. Nagyobb szülő az a szekvencia, amelyik a rekombináns (utód) szekvencia nukleotid sorrendjéből hosszabb (többségi) szakaszt adta, a kisebb szülő pedig amelyik a rövidebb szakaszt adta.

9. táblázat: Tulipán vírusok közötti rekombinációs események összefoglalása

Rekombinációs esemény sorszáma	Rekombináns vírus faja rövidítése	A rekombináns szekvencia GenBank azonosítója	Nagyobb (többségi) szülő	Kisebb szülő
1	LMoV	JN127341	ismeretlen	KF553658
2	TBV	<u>X63630</u>	MK368783*	KF442403 ⁺
3	TBV	KF442403	MK368787*	ismeretlen
4	LMoV	AJ310203	S44147	MF983709*
5	LMoV	<u>JN127341</u>	AJ310203 ⁺	ismeretlen
6	TBV	KT923168	ismeretlen	MK368785*

*: Jelen munkában közölt szekvencia.

⁺: A szülő önmaga is rekombináns.

Aláhúzás: rekombináns utód szekvencia legalább egy rekombináns szülővel.

Félkövér: egynél több rekombinációs eseményt azonosított a program a szekvenciában.

Az átlagos p-értéket (Bonferroni korrigált p-érték) minden egyes rekombinációs eseményre kiszámolta a program a kezdeti felderítéskor. A legmagasabb még elfogadható p-érték 0,05 volt (10. táblázat).

10. táblázat: A rekombinációs események statisztikai megerősítésének összefoglalása

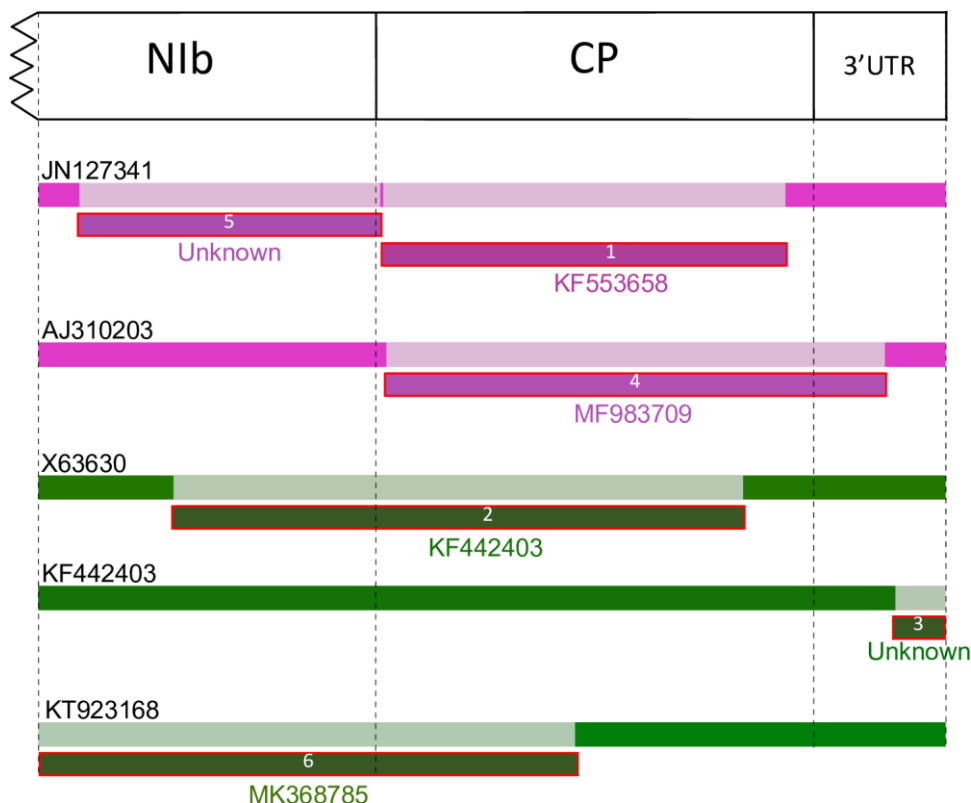
Rekombinációs eseményenkénti átlagos p-értékek*

Módszer	Rekombinációs esemény					
	1	2	3	4	5	6
RDP	$1,713 \times 10^{-5}$	$5,965 \times 10^{-9}$	$1,655 \times 10^{-6}$	$1,863 \times 10^{-1}$	$5,776 \times 10^{-1}$	$2,448 \times 10^{-2}$
GENECONV	$7,062 \times 10^{-9}$	$4,312 \times 10^{-7}$	$3,589 \times 10^{-5}$	$3,589 \times 10^{-2}$	-	$4,265 \times 10^{-1}$
Bootscan	$3,197 \times 10^{-5}$	>1,0	>1,0	$2,2 \times 10^{-3}$	-	>1,0
MaxChi	>1,0	>1,0	>1,0	>1,0	>1,0	$6,678 \times 10^{-1}$
Chimaera	$9,692 \times 10^{-10}$	$5,254 \times 10^{-9}$	>1,0	>1,0	$1,087 \times 10^{-3}$	$6,317 \times 10^{-1}$
SiScan	$6,921 \times 10^{-16}$	$2,561 \times 10^{-26}$	$7,68 \times 10^{-17}$	$4,867 \times 10^{-27}$	$5,221 \times 10^{-20}$	$3,991 \times 10^{-7}$
PhylPro	$5,212 \times 10^{-20}$	$1,123 \times 10^{-19}$	$1,489 \times 10^{-13}$	$9,194 \times 10^{-8}$	$2,279 \times 10^{-7}$	$3,827 \times 10^{-5}$

*: Bonferroni korrigált. Legmagasabb elfogadható p-érték 0,05.

Szürke háttérrel a nem szignifikáns vizsgálati eredmények lettek jelölve.

Három rekombinációs eseményt azonosított a program liliom foltosság vírus izolátumok esetén, ezek közül egy esetben (JN127341) többszörös rekombináció történt. A tulipán színtörés vírus izolátumok esetén is három rekombinációs eseményt sikerült azonosítani, de a Rembrandt tulipán színtörés vírus esetében egyet sem talált a program. A legtöbb rekombinációs töréspont a CP régióban volt megtalálható, de mind az N1b, mind pedig a 3'UTR régióban is volt töréspont (23. ábra).



23. ábra. Rekombinációs események sematikus ábrázolása a potyvírus genomban (Forrás: ÁGOSTON J.)

Az első szaggatott vonal a klónozott fragment elejét – a GNNSGQP motívumtól – a második szaggatott vonal az N1b/CP poliprotein hasítási helyet, a harmadik a stop kodon végét, a negyedik pedig a polyA szakasz kezdetét jelöli. A színes sávokban található arab számok a rekombinációs esemény sorszámát, a sávok feletti feketével szedett azonosítók a rekombinációs szekvencia GenBank azonosítóját, a sávok alatti színes azonosítók és az „Unknown” (ismeretlen) feliratok a kisebb szülő GenBank azonosítóit jelölik. A sávokat a program automatikusan generálta, és a vírushajtnak megfelelően átszíneztem, lila színnel a liliom foltosság vírus, zöld színnel a tulipán színtörés vírus izolátumok lettek jelölve. A töréspontok az összehasonlításban elfoglalt sorrend alapján kerülnek a továbbiakban feltüntetésre.

5.10.1 Liliom foltosság vírusban detektált rekombinációs események

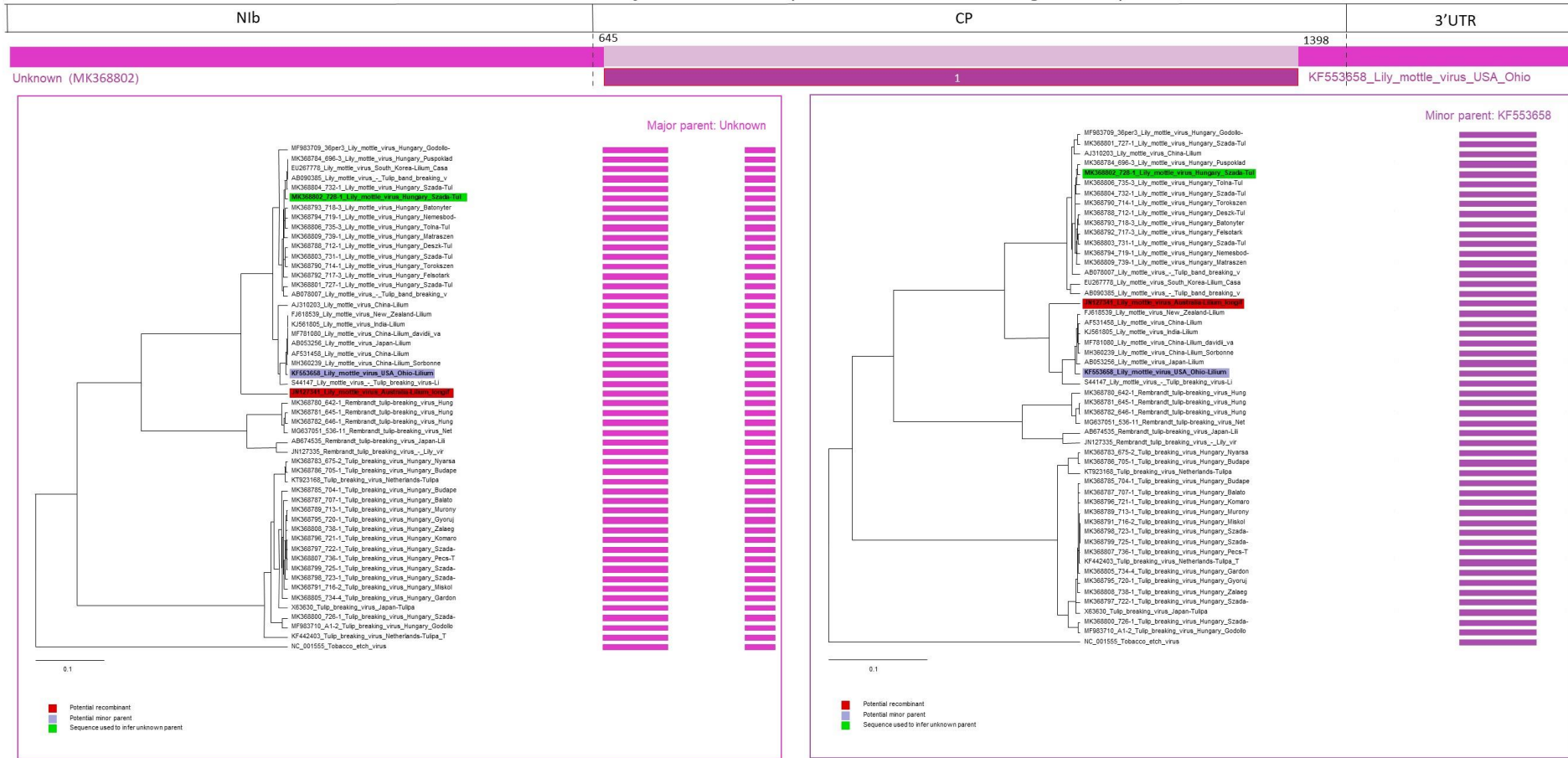
A három rekombinációs esemény közül kettőt egy Ausztrál, *Lilium longiflorum*-ról izolált (JN127341) liliom foltosság vírus törzsből, egyet pedig egy Kínából, ismeretlen liliom fajról származó (AJ310203) izolátumban azonosítottam.

A JN127341 izolátum esetében az első eseménynél a nagyobb szülő beazonosíthatatlan (ismeretlen), a program az MK368802 (I. alcsoport) szekvenciát azonosította potenciális szülőként, a kisebb szülő pedig a KF553658 volt, ami Ohioi liliomról származik (II. alcsoport) (24. ábra). Az első töréspont a 645-ös bázisnál található, ez a CP amino terminális részt kódoló végéhez esik közel, a második töréspontot a program nem tudta pontosan meghatározni, az 1398. bázis környékére helyezi, ami szintén a CP-ben található. Az esemény grafikus ábrázolását és a szülőnkénti NJ törzsfákat a 24. ábrán ismertetem. A nagyobb részt képviselő szülőből származó szakasz a törzsfán egy külön kládot képez, leszármazása egyedi, mert a program az 5. eseményben rekombinánsként azonosította, míg a kisebbik részt adó szülőtől származó szakasz egyértelműen a II. csoporthoz tartozik.

A második liliom foltosság vírusban talált (sorrendben az ötödik) rekombinációs esemény szintén a JN127341 azonosítójú szekvenciában találta meg a program. Nagyobb szülőként az AJ310203 (I. alcsoport) szekvencia lett, ami a negyedik rekombinációs eseményben szintén rekombinánsként azonosított a program. A kisebbik szülő beazonosíthatatlan, a program a MK368802 (I. alcsoport) szekvenciát jelölte meg. Az első töréspont a 78. bázisnál volt, ami az N1b-ban található, a második töréspont pedig 644. bázisnál, ami a CP amino terminális részt kódoló végében található. Pontos töréspontokat a program nem tudott megállapítani, mert többszöri rekombináció történt az izolátumban, a töréspontok emiatt felülíródtak. A NJ törzsfán látható, hogy a rekombináns szekvencia kisebbik szülőjéből származó szakasz jól elkülönül a törzsfákon (25. ábra). A vizsgálatok alapján a JN127341 szekvencia duplán rekombináns, melynek szülei az 5. eseményben az I. alcsoportoz tartoztak.

A 4. rekombinációs eseményt egy Kínából, ismeretlen liliom fajról származó izolátumban találtam meg (AJ310203, I. alcsoport). A nagyobb szülő egy olyan liliom foltosság vírus izolátum volt, melyet korábban tulipán színtörés vírusként került leírásra (S44147, II. alcsoport) (LANGEVELD és mtsai., 1991), a kisebb szülőt pedig Magyarországon tulipánról azonosítottam (MF983709, II. alcsoport). Az első töréspont 651. bázisnál volt – CP amino terminális végét kódoló – a második pedig 1584. bázisnál – 3'UTR-ben. Az eseményt ábrázoló szülői törzsfákon látható, hogy a kisebbik szülő az I. alcsoportoz, míg a nagyobb szülő a II. alcsoportoz tartozik (26. ábra). Ezek alapján a rekombináns izolátum a két alcsoport közötti rekombináció eredménye.

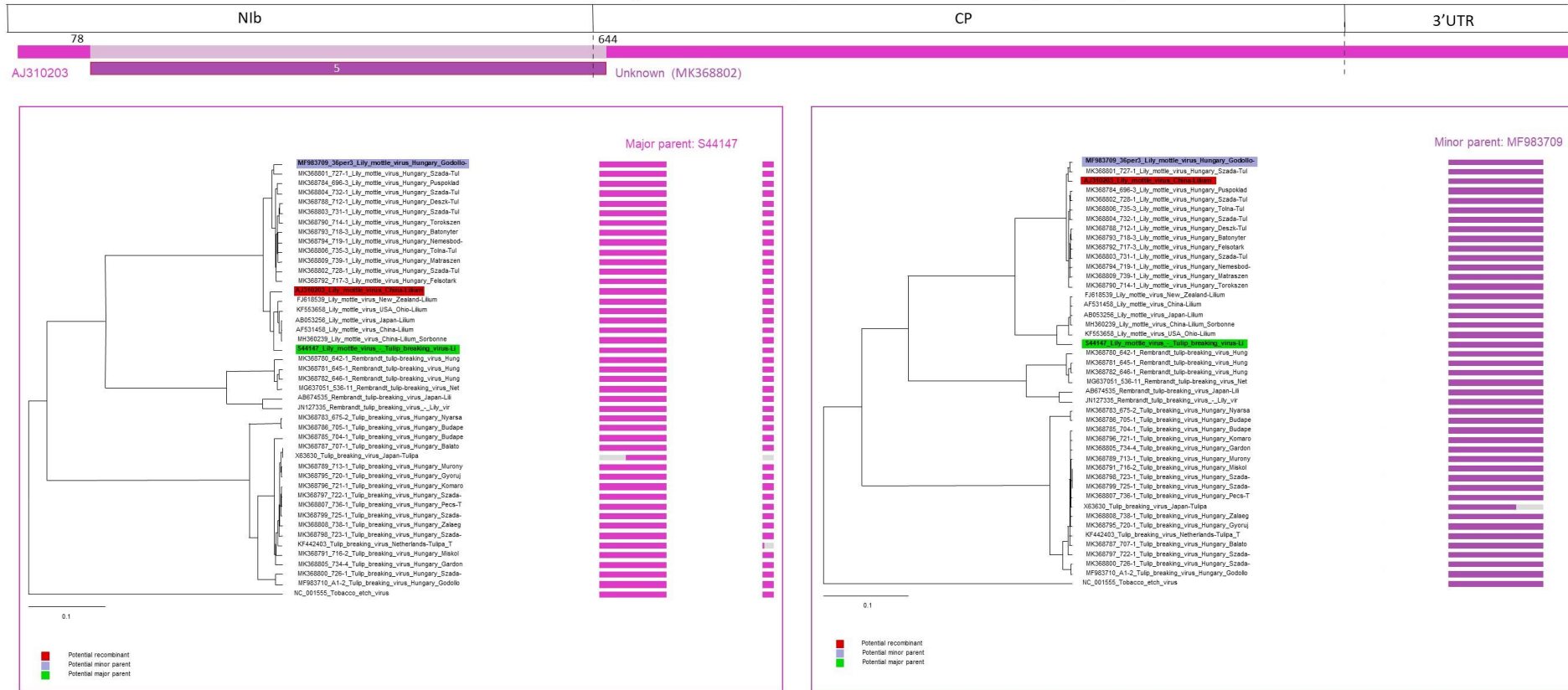
JN127341 – Lily mottle virus (Australia – Lilium longiflorum)



24. ábra. Az 1. rekombinációs esemény sematikus ábrázolása (Forrás: ÁGOSTON J.)

A bal oldalon a nagyobb részt tartalmazó szülőtől, jobb oldalon a kisebb részt tartalmazó szülőtől származó szakaszokból épített NJ törzsfák láthatóak. A törzsfáktól jobbra található színes sávok a törzsfák elkészítéséhez használt szakaszokat jelzik. A jobb értelmezhetőség kedvéért utóbbi sávok színe a nagyobb és kisebb szülői szakaszokra színeztem át. Piros háttér a rekombináns, lila a kisebb részt képviselő szülő, világoszöld pedig a nagyobb részt adó szülőt jelöli.

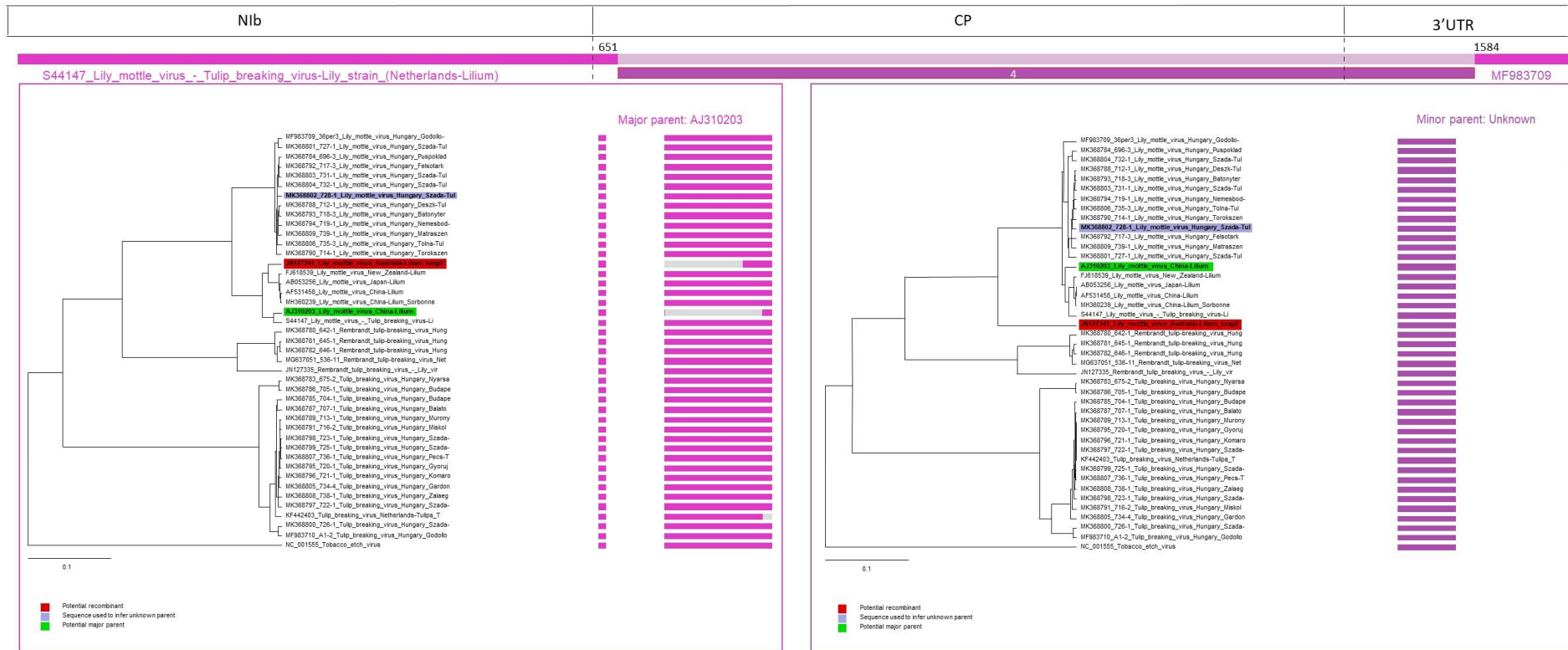
JN127341 – Lily mottle virus (Australia – Lilium longiflorum)



25. ábra. Az 5. számú rekombinációs esemény sematikus ábrázolása (Forrás: ÁGOSTON J.)

A bal oldalon a nagyobb részt tartalmazó szülőtől, jobb oldalon a kisebb részt tartalmazó szülőtől származó szakaszokból épített NJ törzsfák láthatók. A törzsfáktól jobbra található színes sávok a törzsfák elkészítéséhez használt szakaszokat jelzik. A jobb értelmezhetőség kedvéért utóbbi sávok színe a nagyobb és kisebb szülői szakaszokra lettek átszínezve. Piros háttér a rekombináns, lila a kisebb részt adó szülőt, világoszöld pedig a nagyobb részt képviselő szülőt jelöli.

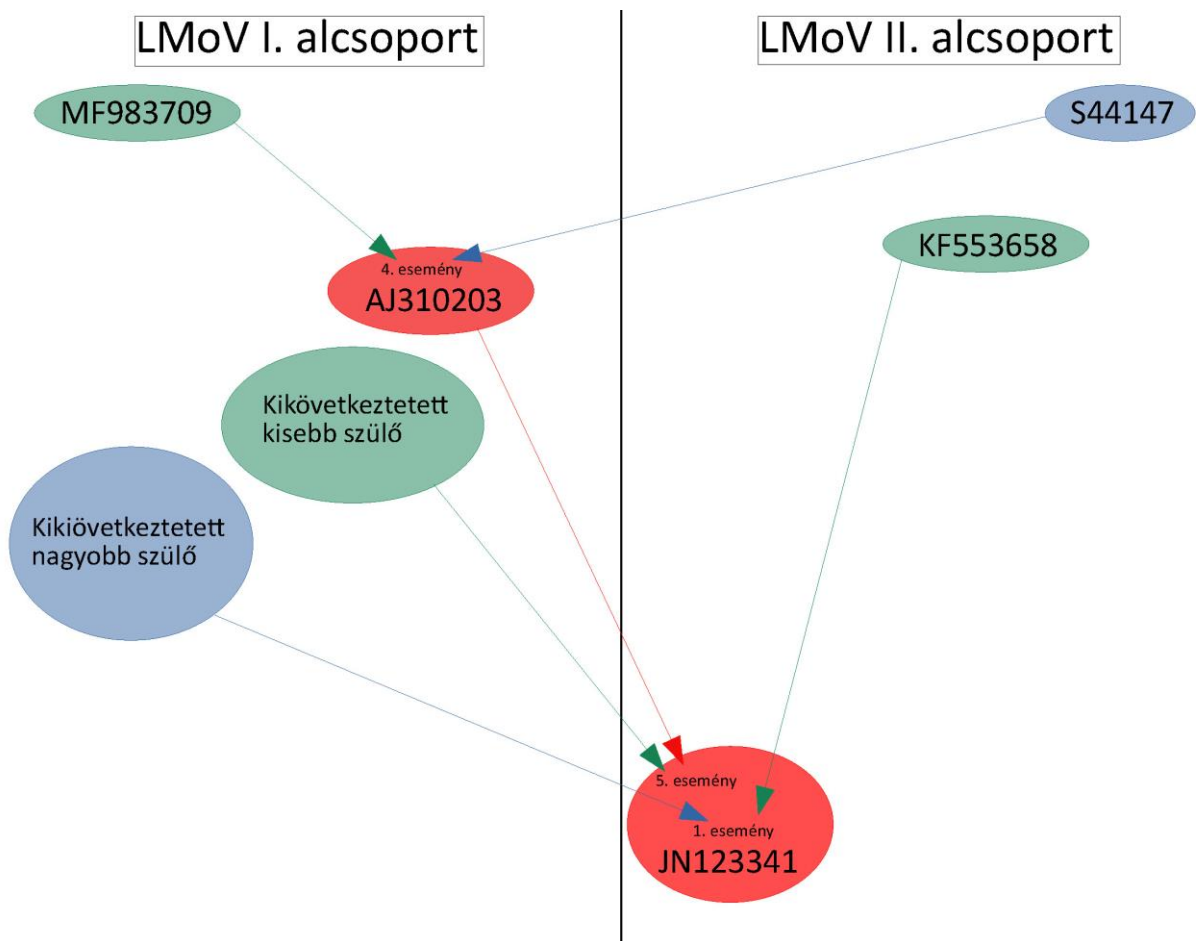
AJ310203 – Lily mottle virus (China - Lilium)



26. ábra. A 4. számú rekombinációs esemény sematikus ábrázolása (Forrás: ÁGOSTON J.)

Bal oldalon a nagyobb részt tartalmazó szülőtől, jobb oldalon a kisebb részt tartalmazó szülőtől származó szakaszokból épített NJ törzsfák láthatóak. A törzsfaktól jobbra található színes sávok a törzsfák elkészítéséhez használt szakaszokat jelzik. A jobb értelmezhetőség kedvéért utóbbi sávok színe a nagyobb és kisebb szülői szakaszokra színezttem át. Piros háttér a rekombináns, lila a kisebb részt adó szülőt, világoszöld pedig a nagyobb szakaszt képviselő szülőt jelöli.

A JN123341 izolátum közvetlenül rekombinánsa a két alcsoportnak (1. és 5. esemény), de közvetve is rekombinánsa mindkét alcsoportnak, mert az 5. eseményben az AJ310203 izolátum a nagyobb szülő. A JN123341 izolátum leszármazását a 27. ábrán mutatom be.



27. ábra. JN123341 izolátum leszármazása (Forrás: ÁGOSTON J.)

Kék nyilak és ellipszisek a nagyobb szakaszokat adó szülőket, zöld nyilak és ellipszisek a kisebb szakaszokat adó szülőket, piros ellipszisek pedig a rekombináns utódokat jelölik.

5.10.2 Tulipán színtörés vírusban detektált rekombinációs események

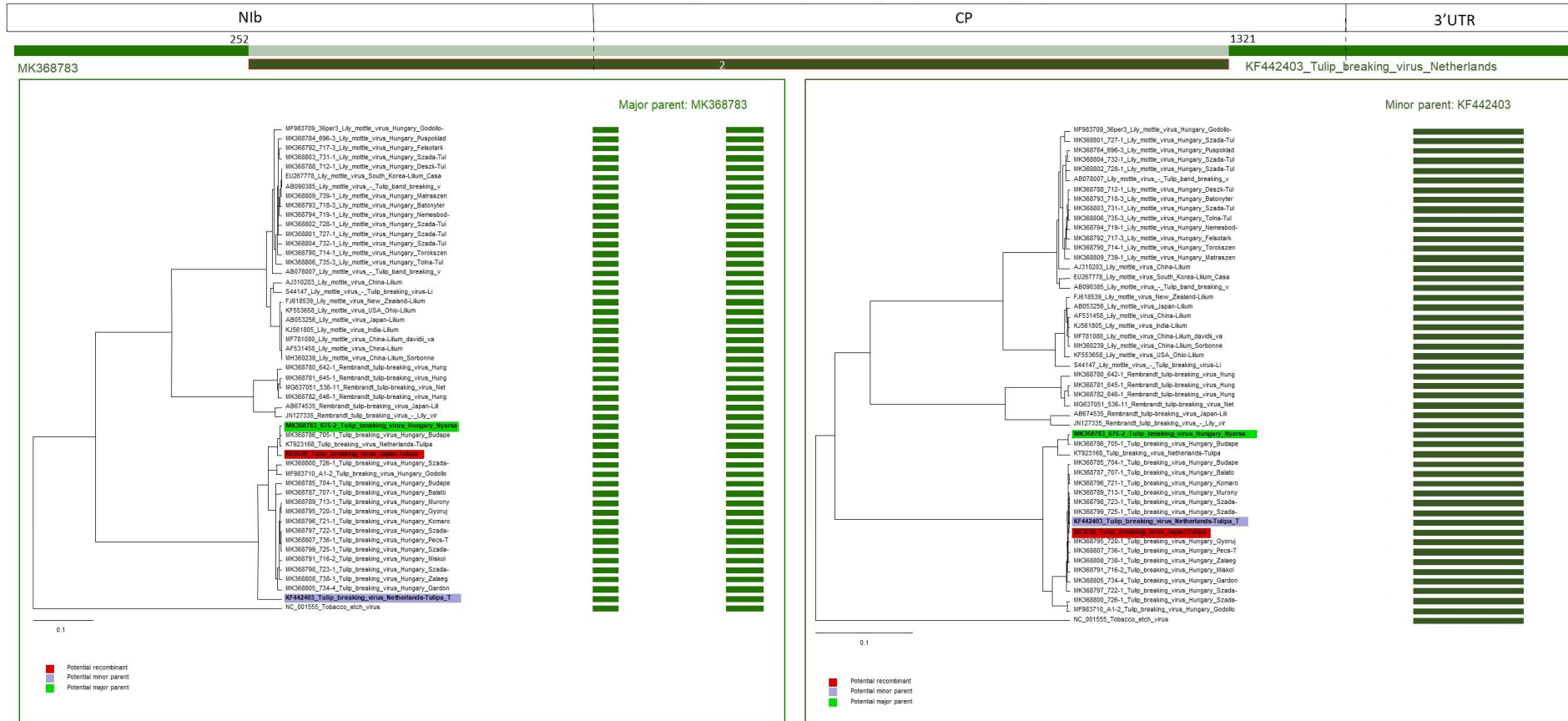
A tulipán színtörés vírus esetében is 3 rekombinációs eseményt sikerült azonosítani. Az egyik egy Japán izolátum volt (X63630), a másik kettő Hollandiából származott (KF440423, KT923168).

Az első rekombináns tulipán színtörés vírus izolátum (sorrendben a 2. esemény) Japánból származott (X63630), melynek nagyobbik szülője egy magyar izolátum volt (MK368783), a kisebbik szülője pedig egy rekombináns Holland izolátum (KF442403). Az első töréspont bizonytalan, körülbelül a 252. bázisnál lehet, ami az NIb karboxi terminális végét kódoló rész, ám ebből az izolátumból csak a CP gén érhető el. A második töréspont az 1321. bázisnál volt, ami a CP régióban található. Különös, hogy a kisebbik szülő is rekombináns (3. esemény). Ez azt jelenti, hogy az X63630 izolátum egy rekombináns szekvencia rekombinációjával jött létre. A 28. ábrán látható, hogy a két szülőtől származó szakaszok hogyan különülnek el a törzsfákon.

A harmadik rekombinációs esemény egy Holland izolátum (KF442403) 3' nem transzlálódó régiójában található. A nagyobbik szakaszt adó szülő itt is egy magyar izolátum volt (MK368787), a kisebbik szakaszt képviselő szülő beazonosíthatatlan, a program az MF983710 szekvenciát használta, amely szintén Magyarországról származik. A program egy töréspontot azonosított, a 1598. bázisnál. Az esemény sematikus ábrázolását a 29. ábrán ismertetem.

A másik rekombináns holland izolátum (6. rekombinációs esemény, KT923168) esetében a nagyobb szakaszt adó szülő beazonosíthatatlan, a program egy magyar izolátumot használt (MK368783), a kisebbik részt képviselő szülő pedig szintén Magyarországról származó MK368785 volt. A program egy töréspontot azonosított, az 1004. pozícióban. A 30. ábrán látható, hogy a gén 5' vége a nagyobb részt képviselő szülővel, míg a 3' vége a kisebb részt adó szülővel került egy kládba.

X63630 – Tulip breaking virus (Japan - Tulipa)



28. ábra. A 2. rekombinációs esemény sematikus ábrázolása (Forrás: ÁGOSTON J.)

Bal oldalon a nagyobb részt adó szülőtől, jobb oldalon a kisebb részt képviselő szülőtől származó szakaszokból épített NJ törzsfák láthatóak. A törzsfáktól jobbra található színes sávok a törzsfák elkészítéséhez használt szakaszokat jelzik. A jobb értelmezhetőség kedvéért utóbbi sávok színe a nagyobb és kisebb szülői szakaszokra színezttem át. Piros háttér a rekombináns, lila a kisebb részt adó szülőt, világoszöld pedig a nagyobb részt képviselő szülőt jelöli.

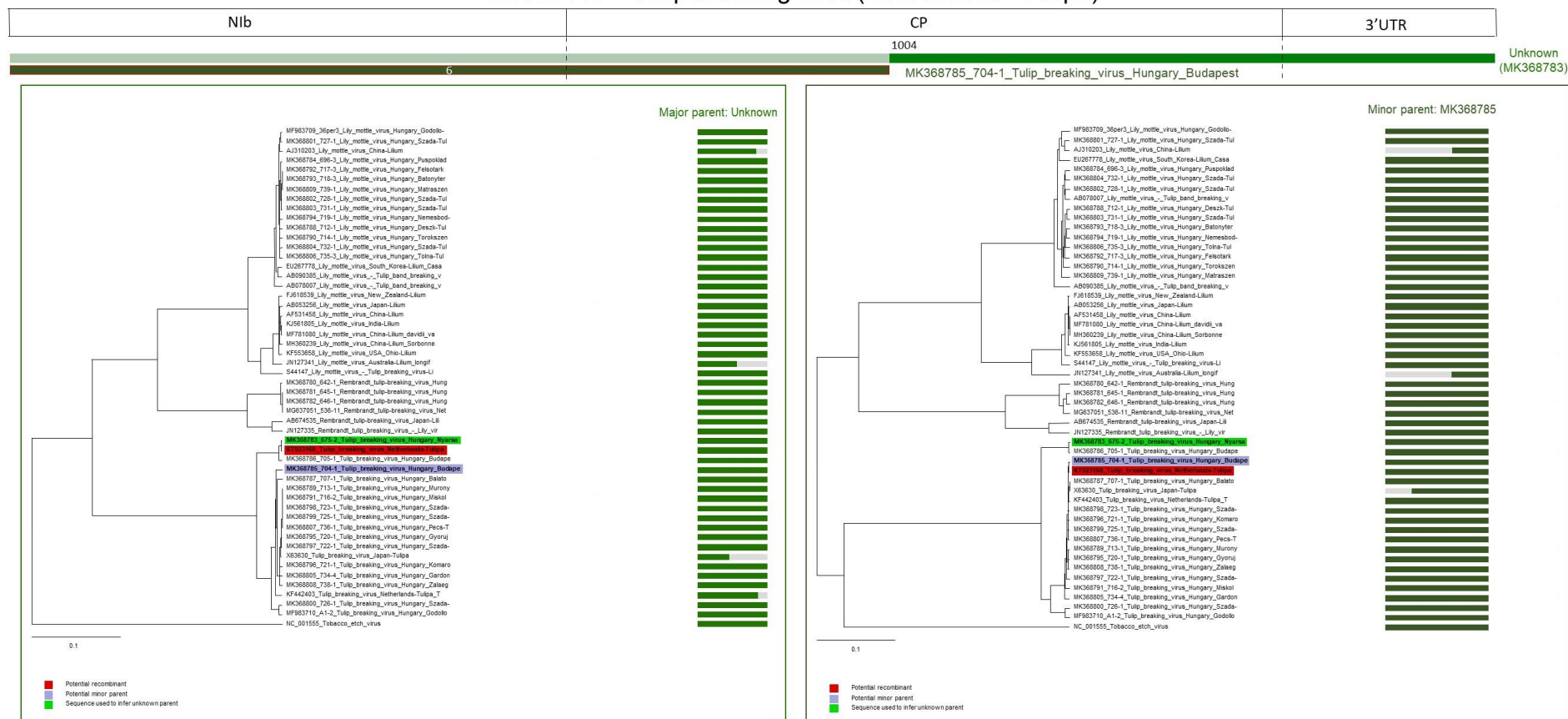
KF442403 – Tulip breaking virus (Netherlands - Tulipa 'Texas Flame')



29. ábra. A 3. rekombinációs esemény sematikus ábrázolása (Forrás: ÁGOSTON J.)

Bal oldalon a nagyobb részt adó szülőtől, jobb oldalon a kisebb részt képviselő szülőtől származó szakaszokból épített NJ törzsfák láthatóak. A törzsfaktól jobbra található színes sávok a törzsfák elkészítéséhez használt szakaszokat jelzik. A jobb értelmezhetőség kedvéért utóbbi sávok színe a nagyobb és kisebb szülői szakaszok szerint színezttem át. Piros háttér a rekombináns, lila a kisebb részt képviselő szülőt, világoszöld pedig a nagyobb részt adó szülőt jelöli.

KT923168 – Tulip breaking virus (Netherlands - Tulipa)



30. ábra. A 6. rekombinációs esemény sematikus ábrázolása (Forrás: ÁGOSTON J.)

Bal oldalon a kikövetkeztetett nagyobb részt adó szülőtől, jobb oldalon a kisebb részt képviselő szülőtől származó szakaszokból épített NJ törzsfák láthatóak. A törzsfáktól jobbra található színes sávok a törzsfák elkészítéséhez használt szakaszokat jelzik. A jobb értelmezhetőség kedvéért utóbbi sávok színe a nagyobb és kisebb szülői szakaszokra színeztem át. Piros háttér a rekombináns, lila a kisebb részt képviselő szülő, világoszöld pedig a nagyobb részt adó szülő jelöli.

6 ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Először bizonyítottam, hogy a lovagcsillag mozaik vírus (*Hippeastrum mosaic virus*) (ÁGOSTON és mtsai., 2020a), a gyöngyike mozaik vírus (*Muscari mosaic virus*) (ÁGOSTON és mtsai., 2020b), a gyöngyike klorotikus foltosság (*Muscari chlorotic mottle virus*) (ÁGOSTON és mtsai., 2020b) és a Rembrandt tulipán színtörés vírus (*Rembrandt tulip-breaking virus*) (ÁGOSTON és mtsai., 2020c), kimutatható MAb PTY1 antitest alapú csoport specifikus ELISA kit-tel.
2. Magyarországról elsőként azonosítottam a következő potyvírus fajokat: lovagcsillag mozaik vírus (*Hippeastrum mosaic virus*) (ÁGOSTON és mtsai., 2020a), lepoárd kontyvirág mozaik vírus (*Konjac mosaic virus*) (ÁGOSTON és mtsai., 2019, 2020d, 2020e), gyöngyike mozaik vírus (*Muscari mosaic virus*) (ÁGOSTON és mtsai., 2020b), gyöngyike klorotikus foltosság vírus (*Muscari chlorotic mottle virus*) (ÁGOSTON és mtsai., 2020b), nárcisz késői sárgulás vírus (*Narcissus late season yellows virus*) (ÁGOSTON és mtsai., 2020a), Rembrandt tulipán színtörés vírus (*Rembrandt tulip-breaking virus*) (ÁGOSTON és mtsai., 2020c).
3. Azonosítottam Magyarországról szerológiai és molekuláris módszerekkel a gyöngyike mozaik vírust (*Muscari mosaic virus*), majd jelenlétét bizonyítottam a Koch posztulátumok felhasználásával (ÁGOSTON és mtsai., 2020b).
4. A tudomány számára új vírusfajt írtam le a gyöngyike klorotikus foltosság vírust – *Muscari chlorotic mottle virus* – szerológiai és molekuláris módszerekkel, valamint bizonyítottam a Koch posztulátumok felhasználásával (ÁGOSTON és mtsai., 2020b).
5. Nárciszról, mint új gazdanövény fajról azonosítottam a lovagcsillag mozaik vírust (*Hippeastrum mosaic virus*) (ÁGOSTON és mtsai., 2020a).
6. A vetővirágról, mint új gazdanövény fajról azonosítottam a nárcisz késői sárgulás vírust (*Narcissus late season yellows virus*).
7. Elsőként számoltam be a tulipán lilium foltosság vírus (*Lily mottle virus*) fertőzöttségéről Magyarországon (ÁGOSTON és mtsai., 2020c).
8. Megállapítottam, hogy tulipán esetében sem a lilium foltosság vírusnak (*Lily mottle virus*) sem pedig a tulipán színtörés vírusnak (*Tulip breaking virus*) nincs fajta, vagy fajtacsoport preferenciája, a vírusok egyazon tulipán populációban azonos gyakorisággal fordulnak elő Magyarországon (ÁGOSTON és mtsai., 2020c).
9. Elsőként számoltam be tulipán színtörés vírus (*Tulip breaking virus*) esetében a fajon belüli rekombinációról, valamint lilium foltosság vírus (*Lily mottle virus*) esetében többszörös rekombinációt tártam fel (ÁGOSTON és mtsai., 2020c).

10. Rembrand tulipán színtörés vírus (Rembrant tulip-breaking virus) esetében javaslom két filogenetikai alcsoport létrehozását (ÁGOSTON és mtsai., 2020c), liliom foltosság vírus (*Lily mottle virus*) esetében pedig megerősítettem a két filogenetikai alcsoport létezését (RIVAS és mtsai., 2016).

7 ÖSSZEFOGLALÁS

A Potyvírus nemzetség tagjai a mezőgazdasági termelés minden ágában jelentős károkat okoznak. Az elmúlt években pedig világszerte újabb és újabb fajok kerültek leírásra az új generációs szekvenálási technológiáknak köszönhetően.

Szerológiai vizsgálataim alapján minden minta pozitív eredményt adott. Ez alapján megállapítható, hogy a monoklonális antitest olyan epitóp ellen készült, ami mindegyik vizsgált vírus esetében jelen volt. Minden tesztelt növényből sikerült molekuláris módszerekkel potyvírust kimutatnom. Mintánként csak 1 potyvírus fajt tudtam azonosítani, viszont előfordult, hogy több variáns is megtalálható volt egy növényben, ami megerősíti, hogy a vírusok kvázi fajok (DOMINGO és mtsai., 2008).

7.1 Tulipán (*Tulipa*)

Kísérő tünetek tekintetében eredményeim jelentős mértékben megegyeztek az irodalmi adatokkal (DE BEST és mtsai., 2000; BLOEMBOLLENKEURINGSDIENST (BKD), 2010a, 2019; NÉMETHY, 1990, 1994a, 1994b). Rembrandt tulipán színtörés vírus esetén az 'Absalon' fajta levélfonákán hajsza vékonyságú 1-2 mm hosszú lila vonalas mintázottság volt megfigyelhető, míg az 'Insulinde' fajta esetében a csíkos lilásbordó mozaik nem csak a levél fonáki, hanem színi részén is jelentkezett, ugyanez a lila csíkozottság volt megfigyelhető a virágszáron is a virágzás ideje alatt. A vírus faja és a fajtákon megfigyelt tünetek között nem volt összefüggés. Egy azon tulipánfaján azonos vírussal való fertőzés esetén is változatos tünetek jelentkeztek, valamint különböző vírusfajok azonos faján okoztak azonos tüneteket is (2-4. ábrák).

Az elektronmikroszkópos vizsgálatok megerősítik a szerológiai vizsgálatok eredményeit. A 36/3 (12. ábra) és A1 (13. ábra) minták esetében a potyvírusokra jellemző, körülbelül 780 nm hosszú és 14 nm átmérőjű fonál alakú flexibilis víruspartikulumokat azonosítottunk.

Molekuláris vizsgálataim alapján három vírussal sikerült azonosítanom (tulipán színtörés vírus, Rembrandt tulipán színtörés vírus és liliom foltosság vírus), ezek közül két faj (tulipán színtörés vírus, liliom foltosság vírus) széleskörűen elterjedt az országban (1. ábra). A populáció vizsgálatok alapján megállapítottam, hogy a tulipán színtörés vírus és liliom foltosság vírus egy populáción belül azonos mértékben van jelen, és nincs fajta preferenciájuk. A vírusok országos eloszlása véletlenszerű, gyakoriságuk azonos.

A Koch posztulátumokat végrehajtva eredményeim az irodalmi adatokkal ellentétben állnak (DE BEST és mtsai., 2000; KRABBENDAM és BAARDSE, 1966), a Darwin-hybrid 'van Eijk' fajta fogékony tulipán színtörés vírusra, de nagyon enyhe színtöréses tünetek jelentkeznek a növényeken (15. ábra A). Rembrandt tulipán színtörés vírus esetén is sikeres volt a fertőzés, ekkor

is enyhe tünetek jelentkeztek (15. ábra C), így vizsgálataim alapján elmondható, hogy a Darwin-hybrid tulipánok is fogékonyak a Rembrandt tulipán szintörés vírusra, nem csak a Rembrandt fajtacsoport. Továbbá a vizsgált fajtát sikerült egyszerre megfertőzni mind három vírussal, így bizonyítottam, hogy komplex vírusfertőzés is lehetséges (15. ábra F).

A filogenetikai elemzések során, mind a törzsfán (16. ábra), mind pedig a törzshálón (17. ábra) a három vírusfaj jól elkülönült, melyet a magas Bootstrap értékek is igazoltak. Továbbá látható, hogy mindhárom faj egy közös ősrre vezethető vissza (16. ábra). A köpenyfehérjéj kódoló régió nukleotid sorrend azonossága is minden faj esetében 76% feletti (6. táblázat), így eredményeim alapján a Rembrandt tulipán szintörés vírus faj szintre emelhető.

Vizsgálataim RIVAS és munkatársainak eredményeit támasztják alá (2016), a liliom foltosság vírus esetében, ahol két alcsoportot (I. és II.) sikerült azonosítani, az izolátumok filogenetikai helyzete megegyezik a korábbi eredményekkel.

Rekombinációs vizsgálataim alapján két rekombináns izolátumot sikerült azonosítani liliom foltosság vírusban (JN127341, AJ310203), amelyek közül a JN127341 törzsben két rekombinációs esemény is történt. Tulipán szintörés vírus esetében három rekombináns izolátumot azonosítottam (X63630, KF442403, KT923168). Mindkét vírus esetében volt olyan rekombináns izolátum, melynek az egyik szülője szintén rekombináns volt (9. táblázat). Minden rekombinációs eseményt legalább 3 különböző statisztikai módszerrel vizsgáltam, melyek egyenként is szignifikáns eredményt adtak (10. táblázat).

7.2 Nárcisz (*Narcissus*)

Nárcisz esetében két vírusfajt azonosítottam (lovagcsillag mozaik vírus és nárcisz késői sárgulás vírus). A lovagcsillag mozaik vírus esetében a nárcisz, mint új gazdanövény került leírásra. A kísérő tünetek ugyan megegyeztek az irodalmi adatokkal (HANKS és CHASTAGNER, 2018), de ezek a tünetek nem fajspecifikusak, más vírusfajok (*Narcissus mosaic virus*, *Narcissus latent virus*) is képesek ilyen tüneteket okozni, így vizuálisan nem lehetséges a tüneteket okozó vírusfajok azonosítása.

A hibridizációs vizsgálat során a nárcisz késői sárgulás vírus esetében csak a 660 és 661 kódszámú minták adtak pozitív eredményt, a lovagcsillag mozaik vírus esetében pedig csak a 644 számú minta adott pozitív eredményt.

Filogenetikai elemzés alapján mind a két vírusfaj külön kládot alkot a törzsfán, melyet magas Bootstrap értékek támasztanak alá (18. ábra).

7.3 Kála (*Zantedeschia*)

A beteg növények az egészségesekhez képest látványos tüneteket mutattak. A növények levelei sárgás, illetve világos zöld színű, hosszanti mozaikkal tarkított, a fehér foltok nem vagy alig vehetők észre, a levél formája keskeny, dárdás, a csúcs hosszan kinyúló (7. ábra C). A spátha a torzsa hosszával megegyező, vagy annál sokkal rövidebb, kívül lilás és zöld csíkozottságot mutat, széle hasadt, nem nyílik szét, hanem a torzsára borul (7. ábra B). A növény jellemzően törpül, a levelek száma az egészségesnél kevesebb. Az idő előrehaladtával a tünetek maszkírozódnak, ám a levelek széle sárga, klorotikus marad. A beteg növény egy, legfeljebb kettő értéktelen torzsavirágzatot fejleszt.

Filogenetikai vizsgálataim kimutatták – mind a köpenyfehérje gén nukleotid- és aminosav sorrendjének összehasonlítása alapján – hogy a növény lepoárd kontyvirág mozaik vírussal fertőzött, legközelebbi rokonságban egy Új-Zélandi (EU544542) szintén káláról származó izolátummal áll (19. és 20. ábra).

7.4 Gyöngyike (*Muscari*)

A kísérő tünetek tekintetében eredményeim eltérnek a litván kutatók megfigyeléseitől (NAVALINSKIENĒ és SAMUITIENĒ, 2001), ugyanis nekrozist nem figyeltem meg a növényeken. Ugyanakkor zöldes hosszanti mozaik, valamint a növények leveleinek sárgulása szembetűnő volt. Molekuláris vizsgálataim alapján a gyöngyike mintákat két vírus fertőzte meg, a gyöngyike mozaik vírus, amit az ICTV 9. jelentésében feltételelesen fogadtak be a *Potyvirus* nemzetségbe, valamint a gyöngyike klorotikus foltosság vírus, mely a tudomány számára új fajként került leírásra.

Filogenetikai vizsgálataim alapján a két vírusfaj külön-külön kládot alkot a törzsfán (21. ábra), – melyet magas Bootstrap értékek támasztanak alá – valamint jól elkülönül más, a köpenyfehérjét kódoló régió bizonyos szakaszaiban magas homológiát mutató vírusoktól.

A magas homológiát mutató vírusfajok és az általam azonosított két vírus köpenyfehérjét kódoló rész páronkénti nukleotid sorrend azonossága (8. táblázat), a szerológiai és filogenetikai eredmények alapján javaslom a gyöngyike mozaik vírus és gyöngyike klorotikus foltosság vírus faj szintre emelését.

7.5 Vetővirág (*Sternbergia*)

A beteg vetővirág növények erős kísérő tüneteket mutattak. A növények levelén hosszanti sárgászöld csíkozottság figyelhető meg a levél teljes hosszában, mely tavasszal erősebb (11. ábra B), ősszel maszkírozódott. A növény fejlődése az egészségestől elmarad, a virágzás gyér volt, vagy

a növény nem virágzott. A visszahúzódás az egészségeshez képest 10-14 nappal korábbra – május közepére – tolódott.

Molekuláris eredményeim alapján a nárcisz késői sárgulás vírus okozta a tüneteket.

Filogenetikai vizsgálataim alapján (22. ábra) a vetővirágról származó izolátum filogenetikailag legközelebb a kecskeméti 'Dutch Master' nárciszról származó izolátummal (MK132194), valamint két Japánból származó izolátummal (LC158450, LC158451) mutatott közeli rokonságot. Eredményeim alapján a vetővirág a nárcisz késői sárgulás vírus új gazdanövényeként került leírásra.

8 SUMMARY

Member species of the genus *Potyvirus* cause serious losses in all branches of agricultural production. In the last few years new candidate species have been described from all over the world with the advancing of Next Generation Sequencing Technologies.

Based on my serological assays all tested samples turned out to be positive for potyvirus group specific ELISA. From all tested samples I was able to isolate a potyvirus with molecular methods. Each sample was infected with one species of potyvirus, but occasionally I was able to detect different variants of the same virus species, which confirms that viruses are quasi-species (DOMINGO és mtsai., 2008).

8.1 Tulip (*Tulipa*)

In regard of the symptoms my results are significantly in accordance with referenced works (DE BEST és mtsai., 2000; BLOEMBOLLENKEURINGSDIENST (BKD), 2010a, 2019; NÉMETHY, 1990, 1994a, 1994b). In the case of ReTBV the cultivar 'Absalon' showed hair thin, 1-2 mm long purplish linear streaks on the underside of the leaf, while 'Insulinde' cultivar showed wide purple bands on both sides of the leaf. The same purplish linear patterns have been observed on the flower stalk during bloom. There have been no correlation between the infectious agent and the developed symptoms. One cultivar showed different symptoms when infected with the same virus species and different virus species caused identical symptoms (Figures 2-4).

Electronmicroscopic assays confirmed the findings of the ELISA tests. Sample 36/3 (Fig. 12) and A1 (Fig. 13) showed approximately 780 nm long and 14 nm in diameter flexuous filamentous particles which are characteristic of potyviruses.

According to the molecular assays I was able to identify 3 virus species (TBV, ReTBV and LMoV), two of them (TBV, LMoV) are widespread in Hungary (Fig. 1). In the population studies I found that both TBV and LMoV are present in equal rates in a single tulip population, and there is no host cultivar preference. The distribution of the species is random in the country and their occurrence is approximately equal.

The fulfillment of the Koch's postulates are in contrast to the cited literature (DE BEST és mtsai., 2000; KRABBENDAM és BAARDSE, 1966). The Darwin-hybrid cultivar 'van Eijk' is susceptible to TBV, but symptoms – especially flower breaking – are mild (Fig. 15A). In the case of ReTBV transfection was also successful, but symptoms were also mild (Fig. 15C). Based on my results I conclude that Darwin-hybrid tulips are also susceptible to ReTBV not only the members of Rembrandt cultivar group. I was also successful in transfecting this cultivar with three different virus at the same time proving the possibility of complex infection (Fig. 15F).

Phylogenetic analysis of the species revealed both on the phylogenetic tree (Fig. 16) and on the phylogenetic network (Fig. 17) that all three species separated from each other, which is supported by high Bootstrap values. It was visible all three species can be traced back to a common ancestor (Fig. 16). The nucleotide sequence identity in every species is also above 76% on the complete coat protein gene coding region (Table 6), meaning Rembrandt tulip-breaking virus can be elevated to species level.

In the case of *Lily mottle virus* my results support the results of RIVAS *et al.* (2016). I was also able to identify two supgroups (I. and II.) in LMoV, the phylogenetic position of the isolates are in accordance with earlier reports.

Recombination detection revealed two recombinant isolates in LMoV (JN127341, AJ310203), from which JN127341 strain showed two distinct recombination events. In the case of TBV three recombination events were detected (X63630, KF442403, KT923168). In both viruses there were at least one isolate which had at least one recombinant parent (Table 9). Each recombination event were supported by at least 3 different method, and each method was individually significant (Table 10).

8.2 Daffodil (*Narcissus*)

I was able to identify two viruses in daffodils (HiMV and NLSYV). Daffodil was described as a new host of *Hippeastrum mosaic virus*. Symptoms were in accordance with earlier reports (HANKS és CHASTAGNER, 2018), but they were not virus species specific, as other daffodil infecting viruses (*Narcissus mosaic virus*, *Narcissus latent virus*) may also cause these symptoms. Correct identification of the infectious agent based solely on symptoms is not possible.

Hybridization assays for NLSYV were positive for samples 660 and 661, for HiMV only sample 644 were positive, confirming the results of ELISA tests and molecular identification.

Phylogenetic analysis of the viruses showed both had a common ancestor and are separate species as they group into separate clades (Fig. 18). The results are supported by high Bootstrap values.

8.3 Calla (*Zantedeschia*)

Infected plants showed spectacular symptoms compared to healthy ones. Leaves had yellow-green strap shaped mosaic, the white spots almost entirely disappeared. Leaf shape changed from wide spade-like to narrow sagittate with long acuminate tips (Fig. 7C). The length of the spathe were the same as the length of the spadix, or less than half the size, the margins were lacerated, with green and purple striping on the outer surface and they did not opened (Fig. 7B). Plants were stunted in growth, number of leaves were less than normal. As the growing season

progressed symptoms become masked, but leaf margins stayed chlorotic. Infected plants grow only one or two inflorescences which were unsalable.

Based on the phylogenetic analysis – on both the nucleic acid and amino acid – of the complete coat protein coding region the plants were infected with KoMV. The closest relative of this isolate was from New Zealand (EU544542) (Figures 19 and 20).

8.4 Grape hyacinth (*Muscari*)

My results of the symptoms differ from the results of Latvian researchers (NAVALINSKIENĒ és SAMUITIENĒ, 2001), as I did not observed necrosis on the plants. At the same time greenish striping and the yellowing of the plants were observed.

Based on my molecular assays I was able to identify two potyviruses from the samples: Muscari mosaic virus – which is a tentative member of the Genus *Potyvirus* in the 9th ICTV report, and Muscari chlorotic mosaic virus, which is new to science.

Phylogenetic analyses showed the two viruses group into separate clades on the tree (Fig. 21) – which is supported by high Bootstrap values – and are well separated from other viruses showing high nucleotide sequence identity on the coat protein.

Based on the pairwise nucleotide identity of viruses showing high nucleotid identity on the CP coding region and the viruses identified by me (Table 8), the serological and phylogenetic assays Muscari mosaic virus and Muscari chlorotic mottle virus can be elevated to species level.

8.5 Autumn daffodil (*Sternbergia*)

Infected autumn daffodils showed vivid symptoms, greenish yellow long stripes were present on the entire length of the foliage, which were stronger in spring (Fig. 11B), masked in autumn. Vitality of the plants decreased, flowering were sparse or absent. Dormancy occurred 10-14 days earlier than healthy plants – around middle of May.

Molecular assays indicated NLSYV infection.

Phylogenetic analyses (Fig. 22) showed highest relationship with isolates from daffodils from Hungary (MK132194) and two other isolates from Japan (LC158450, LC158451).

Sternbergia was described as a new host of NLSYV based on my results.

9 IRODALOMJEGYZÉK

1. ABDALLA, O. A., ALI, A. (2018): Molecular characterization reveals that squash chlorosis mottling virus and zucchini tigré mosaic virus are the same newly emerging potyvirus. *Archives of Virology* 163, 777–780. <https://doi.org/10.1007/s00705-017-3657-x>
2. ÁDÁM, J. (2019): Csonthéjasok PPV fertőzöttségének vizsgálata (PhD). Szent Istvan University, Faculty of Horticultural Science, Department of Plant Pathology, Budapest, Hungary. <https://doi.org/10.14751/SZIE.2020.011>
3. ADAMS, M. J. (2006): DPVweb: a comprehensive database of plant and fungal virus genes and genomes. *Nucleic Acids Research* 34, D382–D385. <https://doi.org/10.1093/nar/gkj023>
4. ADAMS, M. J., ANTONIW, J. F., BEAUDOIN, F. (2005a): Overview and analysis of the polyprotein cleavage sites in the family Potyviridae. *Molecular Plant Pathology* 6, 471–487. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2005.00296.x>
5. ADAMS, M. J., ANTONIW, J. F., FAUQUET, C. M. (2005b): Molecular criteria for genus and species discrimination within the family Potyviridae. *Archives of Virology* 150, 459–479. <https://doi.org/10.1007/s00705-004-0440-6>
6. ÁGOSTON, J. (2010): Hagymás dísznövények Potyvírus és uborka mozaik vírus fertőzöttségének felmérése (MSc). Corvinus University of Budapest, Faculty of Horticultural Science, Department of Plant Pathology, Budapest.
7. ÁGOSTON, J., ALMÁSI, A., NEMES, K., SALÁNKI, K., PALKOVICS, L. (2020a): First report of hippeastrum mosaic virus, narcissus late season yellows virus, narcissus latent virus and narcissus mosaic virus in daffodils from Hungary. *Journal of Plant Pathology* 102, 1275–1276. <https://doi.org/10.1007/s42161-020-00556-9>
8. ÁGOSTON, J., ALMÁSI, A., SALÁNKI, K., PALKOVICS, L. (2019): First report of konjac mosaic virus in *Zantedeschia* from Hungary. *Journal of Plant Pathology* 101, 1217–1217. <https://doi.org/10.1007/s42161-019-00279-6>
9. ÁGOSTON, J., ALMÁSI, A., SALÁNKI, K., PALKOVICS, L. (2020b): Identification and characterization of a new potyvirus infecting *Muscari* in Hungary. *European Journal of Plant Pathology*. <https://doi.org/10.1007/s10658-020-02182-8>
10. ÁGOSTON, J., ALMÁSI, A., SALÁNKI, K., PALKOVICS, L. (2020c): Genetic diversity of potyviruses associated with tulip breaking syndrome. *Plants* 9, 1807 (1–25). <https://doi.org/10.3390/plants9121807>
11. ÁGOSTON, J., ALMÁSI, A., SALÁNKI, K., PALKOVICS, L. (2020d): Leopárdkontyvirág mozaik vírus (*Konjac mosaic virus*, KoMV) izolátumok diverzitása és magyarországi előfordulása *Zantedeschia* (kála) növényeken. *Növényvédelem* 56, 297–304.
12. ÁGOSTON, J., ALMÁSI, A., SALÁNKI, K., PALKOVICS, L. (2020e): Leopárd konytvirág mozaik vírus (*Konjac mosaic virus*) első magyarországi előfordulása színes kálán (*Zantedeschia sectio Aestivae*). In: HALTRICH, A., VARGA, Á. (Szerk.) *Növényvédelmi Tudományos Napok 2019*. Előadás 66. Növényvédelmi Tudományos Napok, Magyar Növényvédelmi Társaság, Budapest, 41 p.

13. ALEXANDRE, M. A. V., DUARTE, L. M. L., RIVAS, E. B., CILLI, A., HARAKAVA, R., GALLETI, S. R., KITAJIMA, E. W. (2011): Hippeastrum mosaic virus diagnosed in *Hippeastrum* and *Eucharis* in Brazil. *Journal of Plant Pathology* 93, 643–649.
14. ALEXANDRE, M. A. V., DUARTE, L. M. L., RIVAS, E. B., KITAJIMA, E. W., HARAKAVA, R. (2013): First Report of Konjac mosaic virus in *Zamioculcas zamiifolia*. *Plant Disease* 97, 1517–1518. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-13-0537-PDN>
15. ALEXANDRE, M. A. V., DUARTE, L. M. L., RODRIGUES, L. K., RAMOS, A. F., HARAKAVA, R. (2017): Hyacinth mosaic virus infecting *Hyacinthus* sp. plants in Brazil. *Tropical Plant Pathology* 42, 51–54. <https://doi.org/10.1007/s40858-016-0121-5>
16. ASNICAR, F., WEINGART, G., TICKLE, T. L., HUTTENHOWER, C., SEGATA, N. (2015): Compact graphical representation of phylogenetic data and metadata with GraPhlAn. *PeerJ* 3, e1029. <https://doi.org/10.7717/peerj.1029>
17. ATLAS, R. M. (2010): Handbook of microbiological media, 4. kiad. ASM Press ; CRC Press/Taylor & Francis, Washington, D.C. : Boca Raton, FL.
18. AWASTHI, L. P. (Szerk.) (2020): Applied plant virology: advances, detection, and antiviral strategies, 1. kiad. Elsevier, Waltham.
19. BAARDSE, A. A., KRABBENDAM, P. (1967): Eenvoudig leerboek voor de bloembollenteelt: algemeen gedeelte, tulp, hyacint, narcis, gladiool en boliris, 2. kiad., Leidraad voor het land- en tuinbouwonderwijs ; no. B 58. Tjeenk Willink, Zwolle.
20. BAKARDJIEVA, N., DENKOVA, S. (1996): Hippeastrum mosaic virus isolated in Bulgaria. *Biotechnology & Biotechnological Equipment* 10, 41–43. <https://doi.org/10.1080/13102818.1996.10818879>
21. BÁLINT, J., BOGNÁR, S., FARKAS, K., FOLK, GY., GLITS, M., H. IMRE, K., KERÉNYINÉ NEMESTÓHY, K., KLENCZNER, A., MÉSZÁROS, F., ÖRDÖGH, G., PAIS, I., RÉDAI, I., SÓLYOM, L., TERPÓ-POMOGYI, M., TÓTH, Á., Z. KISS, L. (1978): Kertészeti növényvédelem. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest.
22. BASKY, Z., ALMÁSI, A. (2005): Differences in aphid transmissibility and translocation between PVY-N and PVY-O isolates. *Journal of Pest Science* 78, 67–75. <https://doi.org/10.1007/s10340-004-0070-5>
23. DE BEST, A. L. I. C., ZWART, M. J., VAN AARTRIJK, J., VAN DEN ENDE, J. E., PEETERS, J. M. M. (2000): Ziekten en afwijkingen bij bolgewassen: *Liliaceae*. Laboratorium voor Bloembollenonderzoek, Lisse.
24. BLOEMBOLLENKEURINGSDIENST (BKD) (2010a): Informatie TBV. *BKD - Bloembollenkeuringsdienst*. <https://www.bkd.eu/wp-content/uploads/2019/04/tbv-beelden-tulp.pdf> elérés: 2020.1.5.
25. BLOEMBOLLENKEURINGSDIENST (BKD) (2010b): Knollenmozaïekvirus in tulp, een zeldzaam verschijnsel. *BKD - Bloembollenkeuringsdienst*. [http://www.bkd.eu/Pages/04_Gewasinformatie/04_Knollenmoza%
c3%afe](http://www.bkd.eu/Pages/04_Gewasinformatie/04_Knollenmoza%c3%afe) elérés: 2010.4.28.
26. BLOEMBOLLENKEURINGSDIENST (BKD) (2019): TBV beelden in nabloei - BKD. *BKD - Bloembollenkeuringsdienst*. <http://www.bkd.eu/gewassen/tulp/tbv-beelden-nabloei> elérés: 2019.5.3.

27. BOS, L. (1995): Viruses of ornamentals: historical perspectives, In: LOEBENSTEIN, G., LAWSON, R. H., BRUNT, A. A. (Szerk.) *Virus and Virus like Diseases of Bulb and Flower Crops*. Wiley, Chichester, 15–22 p.
28. BRIERLEY, P., MCKAY, M. B. (1938): Experiments with aphids as vectors of tulip breaking. *Phytopathology* 28, 123-129 pp.
29. BRUNT, A. A. (1995a): Major genera of plant viruses, In: LOEBENSTEIN, G., LAWSON, R. H., BRUNT, A. A. (Szerk.) *Virus and Virus like Diseases of Bulb and Flower Crops*. Wiley, Chichester, 29–66 p.
30. BRUNT, A. A. (1995b): *Narcissus*, In: LOEBENSTEIN, G., LAWSON, R. H., BRUNT, A. A. (Szerk.) *Virus and Virus like Diseases of Bulb and Flower Crops*. Wiley, Chichester, 322–334 p.
31. BRUNT, A. A. (Szerk.) (1996): Viruses of plants: descriptions and lists from the VIDE database. CAB International, Wallingford, Oxon, UK.
32. BRYAN, J. E. (2002): *Bulbs*, Rev. ed. kiad. Timber Press, Portland, Or.
33. BRYAN, J. E. (2005): Timber Press pocket guide to bulbs, Timber Press pocket guides. Timber Press, Portland, Or.
34. BYTHER, R. S., CHASTAGNER, G. A. (1993): Diseases, In: DE HERTOOGH, A. A., LE NARD, M. (Szerk.) *The Physiology of Flower Bulbs: A Comprehensive Treatise on the Physiology and Utilization of Ornamental Flowering Bulbous and Tuberous Plants*. Elsevier, Amsterdam, 71–99 p.
35. CAYLEY, D. M. (1928a): „Breaking” in tulips. *Annals of Applied Biology* 15, 529–539. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1928.tb07775.x>
36. CAYLEY, D. M. (1928b): „Breaking” in tulips. *The Gardener’s Chronicle* 83, 435–436.
37. CAYLEY, D. M. (1932): „Breaking” in tulips II. *Annals of Applied Biology* 19, 153–172. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1932.tb04313.x>
38. CERVERA, M. T., RIECHMANN, J. L., MARTIN, M. T., GARCIA, J. A. (1993): 3’-Terminal sequence of the plum pox virus PS and o6 isolates: evidence for RNA recombination within the potyvirus group. *Journal of General Virology* 74, 329–334. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-74-3-329>
39. CHEN, C. C., HSU, H. T., CHENG, Y. H., HUANG, C. H., LIAO, J. Y., TSAI, H. T., CHANG, C. A. (2006a): Molecular and serological characterization of a distinct potyvirus causing latent infection in calla lilies. *Botanical Studies* 47, 369–378.
40. CHEN, C. C., HSU, H. T., CHIANG, F. L., CHANG, C. A. (2006b): Serological and molecular properties of five potyviruses infecting calla lily. *Acta Horticulturae* 259–270. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2006.722.32>
41. CHEN, J., CHEN, J. P., LANGEVELD, S. A., DERKS, A. F. L. M., ADAMS, M. J. (2003): Molecular characterization of carla- and potyviruses from *Narcissus* in China. *Journal of Phytopathology* 151, 26–29. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0434.2003.00674.x>
42. CHEN, J., LU, Y.-W., SHI, Y.-H., ADAMS, M. J., CHEN, J.-P. (2006): Complete nucleotide sequence of the genomic RNA of *Narcissus* yellow stripe virus from Chinese narcissus in

Zhangzhou city, China. *Archives of Virology* 151, 1673–1677. <https://doi.org/10.1007/s00705-006-0788-x>

43. CHEN, J., SHI, Y.-H., ADAMS, M. J., ZHENG, H.-Y., QIN, B.-X., CHEN, J.-P. (2007): Characterisation of an isolate of Narcissus degeneration virus from Chinese narcissus (*Narcissus tazetta* var. *chinensis*). *Archives of Virology* 152, 441–448. <https://doi.org/10.1007/s00705-006-0841-9>
44. CHIANG, F. L., CHEN, C. C. (2011): Identification of a grape hyacinth-infecting virus and the production of its serological and molecular detection tools. *Plant Protection Bulletin (Taipei)* 53, 69–81.
45. CHIRKOV, S., IVANOV, P., SHEVELEVA, A., KUDRYAVTSEVA, A., MITROFANOVA, I. (2018): Molecular characterization of Plum pox virus Rec isolates from Russia suggests a new insight into evolution of the strain. *Virus Genes* 54, 328–332. <https://doi.org/10.1007/s11262-018-1541-8>
46. CHIRKOV, S., IVANOV, P., SHEVELEVA, A., ZAKUBANSKIY, A., OSIPOV, G. (2017): New highly divergent Plum pox virus isolates infecting sour cherry in Russia. *Virology* 502, 56–62. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2016.12.016>
47. CHUNG, B. Y.-W., MILLER, W. A., ATKINS, J. F., FIRTH, A. E. (2008): An overlapping essential gene in the Potyviridae. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105, 5897–5902. <https://doi.org/10.1073/pnas.0800468105>
48. CLUSIUS, C. (1576): *Caroli Clusii Atrebat Rariorum alioquot stirpium per Hispanias observatarum historia, libris duobus expressas ad Maximilianum II. Imperatorem. Ex officina Christophori Plantini, Architypographi Regij, Antverpiae.* <https://doi.org/10.5962/bhl.title.847>
49. DEKKER, E. L., DERKS, A. F. L. M., ASJES, C. J., LEMMERS, M. E. C., BOL, J. F., LANGEVELD, S. A. (1993): Characterization of potyviruses from tulip and lily which cause flower-breaking. *Journal of General Virology* 74, 881–887. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-74-5-881>
50. DENNIN, T. (2019): From tulips to bitcoins: a history of fortunes made and lost in commodity markets.
51. DERKS, A. F. L. M. (1992): Some unusual serological reactions among potyviruses, In: BARNETT, O. W. (Szerk.) *Potyvirus Taxonomy*. Springer Vienna, Vienna, 77–79 p. https://doi.org/10.1007/978-3-7091-6920-9_9
52. DERKS, A. F. L. M. (1995): *Hippeastrum (Amaryllis)*, In: LOEBENSTEIN, G., LAWSON, R. H., BRUNT, A. A. (Szerk.) *Virus and Virus like Diseases of Bulb and Flower Crops*. Wiley, Chichester, 293–297 p.
53. DERKS, A. F. L. M., VINK-VAN DEN ABEELE, J. L. (1980): Hyacinth mosaic virus: symptoms in hyacinths, serological detection, and relationships with other potyviruses, In: *Acta Horticulturae*. Előadás III International Symposium on Flower Bulbs, International Society for Horticultural Science (ISHS), Leuven, Belgium, Nyborg, Denmark, 495–502 p. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1980.109.74>
54. DESBIEZ, C., LECOQ, H. (2004): The nucleotide sequence of *Watermelon mosaic virus* (WMV, *Potyvirus*) reveals interspecific recombination between two related potyviruses in the 5' part of the genome. *Archives of Virology* 149. <https://doi.org/10.1007/s00705-004-0340-9>

55. DOMINGO, E., PARISH, C. R., HOLLAND, J. J. (Szerk.) (2008): Origin and Evolution of Viruses, 2. kiad. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374153-0.X0001-X>
56. DUFRÉNOY, J. (1931): Mosaïque des tulipes. *Comptes rendus des séances de la Société de biologie et de ses filiales* 108, 51–53.
57. FAUQUET, C. M., MAYO, M. A., MANIHOFF, J., DESSELBERGER, U., BALL, L. A. (Szerk.) (2005): Virus taxonomy. Eighth report of the International Committee on the Taxonomy of Virus. Elsevier Academic Press, Amsterdam.
58. FELSENSTEIN, J. (1981): Evolutionary trees from DNA sequences: A maximum likelihood approach. *Journal of Molecular Evolution* 17, 368–376. <https://doi.org/10.1007/BF01734359>
59. FELSENSTEIN, J. (1985): Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39, 783–791. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1985.tb00420.x>
60. FELSENSTEIN, J. (1989): PHYLIP - Phylogeny Inference Package (Version 3.2). *Cladistics* 5, 164–166. <https://doi.org/10.1111/j.1096-0031.1989.tb00562.x>
61. FENNER, F. (Szerk.) (1976): Classification and Nomenclature of Viruses: Second Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. S. Karger AG, Basel, Switzerland. <https://doi.org/10.1159/isbn.978-3-8055-8846-1>
62. GAGARINOVA, A. G., BABU, M., STRÖMVIK, M. V., WANG, A. (2008): Recombination analysis of *Soybean mosaic virus* sequences reveals evidence of RNA recombination between distinct pathotypes. *Virology Journal* 5, 143. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-5-143>
63. GARCÍA, J. A., GLASA, M., CAMBRA, M., CANDRESSE, T. (2014): Plum pox virus and sharka: a model potyvirus and a major disease: *Plum pox virus*. *Molecular Plant Pathology* 15, 226–241. <https://doi.org/10.1111/mpp.12083>
64. DE GEUSS, T. (2017): De teelt van tulpen. Stichting Bollenacademie, Hillegom.
65. GIBBS, A. J., HAJZADEH, M., OHSHIMA, K., JONES, R. A. C. (2020): The Potyviruses: An evolutionary synthesis is emerging. *Viruses* 12, 132. <https://doi.org/10.3390/v12020132>
66. GIBBS, A. J., OHSHIMA, K., PHILLIPS, M. J., GIBBS, M. J. (2008): The prehistory of potyviruses: their initial radiation was during the dawn of agriculture. *PLoS ONE* 3, e2523. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002523>
67. GIBBS, A., OHSHIMA, K. (2010): Potyviruses and the digital revolution. *Annual Review of Phytopathology* 48, 205–223. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-073009-114404>
68. GIBBS, M. J., ARMSTRONG, J. S., GIBBS, A. J. (2000): Sister-Scanning: a Monte Carlo procedure for assessing signals in recombinant sequences. *Bioinformatics* 16, 573–582. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/16.7.573>
69. GLASA, M., CANDRESSE, T. (2005): Partial sequence analysis of an atypical Turkish isolate provides further information on the evolutionary history of Plum pox virus (PPV). *Virus Research* 108, 199–206. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2004.09.009>
70. GLASA, M., KÚDELA, O., MARIE-JEANNE, V., QUIOT, J. B. (2001): Evidence of a naturally occurring recombinant isolate of *Plum pox virus* from Slovakia. *Plant Disease* 85, 920–920. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2001.85.8.920C>

71. GLASA, M., PALKOVICS, L., KOMÍNEK, P., LABONNE, G., PITTNEROVÁ, S., KÚDELA, O., CANDRESSE, T., ŠUBR, Z. (2004): Geographically and temporally distant natural recombinant isolates of Plum pox virus (PPV) are genetically very similar and form a unique PPV subgroup. *Journal of General Virology* 85, 2671–2681. <https://doi.org/10.1099/vir.0.80206-0>
72. GLEASON, M. L., DAUGHTREY, M. L., CHASE, A. R., MOORMAN, G. W., MUELLER, D. S. (2009): Diseases of herbaceous perennials. APS Press, St. Paul.
73. GLITS, M., FOLK, GY. (1993): Kertészeti növénykórtan. Mezőgazda Kiadó, Budapest.
74. GLITS, M., FOLK, GY. (2001): Kertészeti növénykórtan. Mezőgazda Kiadó, Budapest.
75. GREEN, K. J., BROWN, C. J., GRAY, S. M., KARASEV, A. V. (2017): Phylogenetic study of recombinant strains of Potato virus Y. *Virology* 507, 40–52. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2017.03.018>
76. GUINDON, S., GASCUEL, O. (2003): A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by Maximum Likelihood. *Systematic Biology* 52, 696–704. <https://doi.org/10.1080/10635150390235520>
77. GÜRCAN, K., TEBER, S., CANDRESSE, T. (2019): Genetic analysis suggests a long and largely isolated evolutionary history of plum pox virus strain D in Turkey. *Plant Pathology* ppa.13115. <https://doi.org/10.1111/ppa.13115>
78. HÁMORI, Z. (2006): Felszedés nélkül tartott tulipánok életképessége és hosszú távú túlélési esélyei (PhD). Budapesti Corvinus Egyetem, Budapest.
79. HANKS, G. R., CHASTAGNER, G. A. (2018): Diseases of Daffodil (*Narcissus*), In: MCGOVERN, R. J., ELMER, W. H. (Szerk.) *Handbook of Florists' Crops Diseases*. Springer International Publishing, Cham, 1129–1228 p. https://doi.org/10.1007/978-3-319-39670-5_43
80. HE, Y., GAO, F., SHEN, J., LIAO, F., CHEN, X., ZHANG, H., YANG, H., CHEN, S. (2019): A multiplex RT-PCR method for the simultaneous detection of *Narcissus yellow stripe virus*, *Narcissus latent virus* and *Narcissus mosaic virus*. *Canadian Journal of Plant Pathology* 41, 115–123. <https://doi.org/10.1080/07060661.2018.1513074>
81. DE HERTOIGH, A. A., LE NARD, M. (1993a): Botanical aspects of flower bulbs, In: DE HERTOIGH, A. A., LE NARD, M. (Szerk.) *The Physiology of Flower Bulbs: A Comprehensive Treatise on the Physiology and Utilization of Ornamental Flowering Bulbous and Tuberous Plants*. Elsevier, Amsterdam, 7–20 p.
82. DE HERTOIGH, A. A., LE NARD, M. (1993b): *Tulipa*, In: DE HERTOIGH, A. A., LE NARD, M. (Szerk.) *The Physiology of Flower Bulbs: A Comprehensive Treatise on the Physiology and Utilization of Ornamental Flowering Bulbous and Tuberous Plants*. Elsevier, Amsterdam, 617–682 p.
83. HESSAYON, D. G. (1997): Hagymás növények. Park Könyvkiadó, Budapest.
84. HOLMES, E. C., WOROBAY, M., RAMBAUT, A. (1999): Phylogenetic evidence for recombination in dengue virus. *Molecular Biology and Evolution* 16, 405–409. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026121>
85. HONFI, P., KOHUT, I., MOSONYI, I. D., ÖRDÖGH, M., STEINER, M., SÜTÖRINÉ DIÓSZEGI, M., TILLYNÉ MÁNDY, A. (2014): Modern dísznövénytermesztés és kereskedelem. Budapesti

Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar, Dísznövénytermesztési és Dendrológiai Tanszék, Budapest.

86. HOOG, J. (1933): The breaking of tulips. *The Gardener's Chronicle* 94, 471.
87. HOP, M. (2018): De veredeling van bloembollen. Stichting Bollenacademie, Hillegom.
88. HORST, R. K. (2013): Westcott's Plant Disease Handbook. Springer Netherlands, Dordrecht. <https://doi.org/10.1007/978-94-007-2141-8>
89. HORVÁTH, J., GÁBORJÁNYI, R. (1999): Növényvírusok és virológiai vizsgálati módszerek. Mezőgazda Kiadó, Budapest.
90. HU, W.-C., HUANG, C.-H., LEE, S.-C., WU, C.-I., CHANG, Y.-C. (2010): Detection of four calla potyviruses by multiplex RT-PCR using nad5 mRNA as an internal control. *European Journal of Plant Pathology* 126, 43–52. <https://doi.org/10.1007/s10658-009-9519-y>
91. HUANG, C. H., HU, W. C., YANG, T. C., CHANG, Y. C. (2007): Zantedeschia mild mosaic virus, a new widespread virus in calla lily, detected by ELISA, dot-blot hybridization and IC-RT-PCR. *Plant Pathology* 56. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2006.01485.x>
92. HUSON, D. H., BRYANT, D. (2006): Application of phylogenetic networks in evolutionary studies. *Molecular Biology and Evolution* 23, 254–267. <https://doi.org/10.1093/molbev/msj030>
93. ICTV REPORT CONSORTIUM (2003): Fast track proposals from the Potyviridae SG - 2003.P016-029.
94. INTERNATIONAL ASSOCIATION OF HORTICULTURAL PRODUCERS (AIPH) (2018): International statistics: flowers and plants 2018, International statistics: flowers and plants. International Association of Horticultural Producers (AIPH)., Hannover.
95. JACOB, F., JÄGER, E. I., OHMANN, E. (1985): Botanikai kompendium. Natura, Budapest.
96. JAYASHINGHE, U., DIJKSTRA, J. (1979): Hippeastrum mosaic virus and another filamentous virus in *Eucharis grandiflora*. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 85, 47–65. <https://doi.org/10.1007/BF02349765>
97. JELITTO, L., SCHACHT, W., EPP, M. E., BAUMGARDT, J. P., FESSLER, A. (1995): Hardy herbaceous perennials. Timber Press, Portland, Or.
98. JELKMANN, W., SANDERSON, D., BERWARTH, C., JAMES, D. (2018): First detection and complete genome characterization of a Cherry (C) strain isolate of plum pox virus from sour cherry (*Prunus cerasus*) in Germany. *Journal of Plant Diseases and Protection* 125, 267–272. <https://doi.org/10.1007/s41348-018-0155-7>
99. JIN, L., NEI, M. (1990): Limitations of the evolutionary parsimony method of phylogenetic analysis. *Molecular Biology and Evolution* 7, 82–102. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040588>
100. JONES, D. T., TAYLOR, W. R., THORNTON, J. M. (1992): The rapid generation of mutation data matrices from protein sequences. *Bioinformatics* 8, 275–282. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/8.3.275>

101. JORDAN, R., HAMMOND, J. (1991): Comparison and differentiation of potyvirus isolates and identification of strain-, virus-, subgroup-specific and potyvirus group-common epitopes using monoclonal antibodies. *Journal of General Virology* 72, 25–36. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-72-1-25>
102. KAMENETSKY, R., OKUBO, H. (Szerk.) (2013): Ornamental geophytes from basic science to sustainable production. CRC Press, Boca Raton, Fla.
103. KATOH, K., MISAWA, K., KUMA, K., MIYATA, T. (2002): MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Research* 30, 3059–3066. <https://doi.org/10.1093/nar/gkf436>
104. KING, A. M. Q., ADAMS, M. J., CARSTENS, E. B., LEFKOWITZ, E. J. (Szerk.) (2011): Virus taxonomy. Ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses, Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Elsevier, Amsterdam.
105. KOMISZÁR, L. (2003): Virághagymatermesztés, Élő dísznövények sorozat. Szent István Egyetem, Kertészettudományi Kar, Dísznövénytermesztés és Dendrológia Tanszék, Budapest.
106. KONINKLIJKE ALGEMEENE VEREENIGING VOOR BLOEMBOLLENCULTUUR (KAVB) (2021): Ornamental Plant Database. Koninklijke Algemeene Vereeniging voor Bloembollencultuur (KAVB), Hillegom.
107. KRABBENDAM, P., BAARDSE, A. A. (1966): Bloembollenteelt / 2, De tulp., 15. kiad., Leidraad voor het land- en tuinbouwonderwijs. 36. Serie B ; Tjeenk Willink, Zwolle.
108. KRAUSE-SAKATE, R., FAKHFAKH, H., PEYPELUT, M., PAVAN, M. A., ZERBINI, F. M., MARRAKCHI, M., CANDRESSE, T., LE GALL, O. (2003): A naturally occurring recombinant isolate of *Lettuce mosaic virus*. *Archives of Virology* 149, 191–197. <https://doi.org/10.1007/s00705-003-0201-y>
109. KUMAR, S., STECHER, G., LI, M., KNYAZ, C., TAMURA, K. (2018): MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution* 35, 1547–1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
110. LAI, M. M. C. (1992): Genetic Recombination in RNA Viruses, In: HOLLAND, J. J. (Szerk.) *Genetic Diversity of RNA Viruses*, Current Topics in Microbiology and Immunology. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 21–32 p. https://doi.org/10.1007/978-3-642-77011-1_2
111. LAM, H. M., RATMANN, O., BONI, M. F. (2018): Improved Algorithmic Complexity for the 3SEQ Recombination Detection Algorithm. *Molecular Biology and Evolution* 35, 247–251. <https://doi.org/10.1093/molbev/msx263>
112. LANGEVELD, S. A., DORE, J. M., MEMELINK, J., DERKS, A. F. L. M., VAN DER VLUGT, C. I. M., ASJES, C. J., BOL, J. F. (1991): Identification of potyviruses using the polymerase chain-reaction with degenerate primers. *Journal of General Virology* 72, 1531–1541. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-72-7-1531>
113. LARKIN, M. A., BLACKSHIELDS, G., BROWN, N. P., CHENNA, R., MCGETTIGAN, P. A., MCWILLIAM, H., VALENTIN, F., WALLACE, I. M., WILM, A., LOPEZ, R., THOMPSON, J. D., GIBSON, T. J., HIGGINS, D. G. (2007): Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics* 23, 2947–2948. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm404>
114. VAN DER LEE, H. (2019): Bollenrevolutie start op Mechanisatiebeurs. *Greenity* 32, 50.

115. LESEMANN, D.-E., WINTER, S. (2002): Konjac mosaic virus, Dasheen mosaic virus and unknown potyviruses infecting *Zantedeschia* spp. and other cultivated *Araceae*. *Acta Horticulturae* 135–141. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2002.568.19>
116. LESNAW, J. A., GHABRIAL, S. A. (2000): Tulip breaking: Past, present, and future. *Plant Disease* 84, 1052–1060. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2000.84.10.1052>
117. LIPPAY, J. (1753): *Posoni Kert. Mellyben minden Kerti Munkák, Rendelések, Virágokkal, Veteményekkel, Fákkal, Gyümölcsökkel, és Kerti Csemetékkel való bajmolódások: azonak Nemek, Nevek, hasznok, bé-csinálások bőségesen Magyar nyelven nagy haszonnal leirattatnak, kiváltképen azok, a'mellyek Esztergami Érsek Urnak Lippai György Hertzeg Ur Ó Nagyságának Kertében akkori údóben találtattak. Striebig Gergely János, Királyi, Püspöki és Városi privil. Könyv-nyomtató, Győrött.*
118. LUVISI, A., RIZZO, D., STEFANI, L., PANATTONI, A., MATERAZZI, A. (2016): Occurrence of viruses in Calla and Peruvian lily in Tuscan nurseries and evidence of new viral records in Italy. *Advances in Horticultural Science* 30, 53–56. <https://doi.org/10.13128/ahs-18702>
119. MAINA, S., BARBETTI, M. J., EDWARDS, O. R., MINEMBA, D., AREKE, M. W., JONES, R. A. C. (2019): *Zucchini yellow mosaic virus* genomic sequences from Papua New Guinea: lack of genetic connectivity with Northern Australian or East Timorese genomes, and new recombination findings. *Plant Disease* 103, 1326–1336. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-18-1666-RE>
120. MAINA, S., COUTTS, B. A., EDWARDS, O. R., DE ALMEIDA, L., KEHOE, M. A., XIMENES, A., JONES, R. A. C. (2017): *Zucchini yellow mosaic virus* populations from East Timorese and Northern Australian cucurbit crops: molecular properties, genetic connectivity, and biosecurity implications. *Plant Disease* 101, 1236–1245. <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-16-1672-RE>
121. MARTIN, D. (2015): RDP4 Instruction Manual.
122. MARTIN, D. P., MURRELL, B., GOLDEN, M., KHOOSAL, A., MUHIRE, B. (2015): RDP4: Detection and analysis of recombination patterns in virus genomes. *Virus Evolution* 1. <https://doi.org/10.1093/ve/vev003>
123. MARTIN, D. P., MURRELL, B., KHOOSAL, A., MUHIRE, B. (2017): Detecting and analyzing genetic recombination Using RDP4, In: KEITH, J. M. (Szerk.) *Bioinformatics*. Springer New York, New York, NY, 433–460 p. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6622-6_17
124. MARTIN, D. P., POSADA, D., CRANDALL, K. A., WILLIAMSON, C. (2005): A modified Bootscan algorithm for automated identification of recombinant sequences and recombination breakpoints. *AIDS Research and Human Retroviruses* 21, 98–102. <https://doi.org/10.1089/aid.2005.21.98>
125. MARTIN, D., RYBICKI, E. (2000): RDP: detection of recombination amongst aligned sequences. *Bioinformatics* 16, 562–563. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/16.6.562>
126. MAYO, M. A. (2005): Changes to virus taxonomy 2004. *Archives of Virology* 150, 189–198. <https://doi.org/10.1007/s00705-004-0429-1>
127. MCGOVERN, R. J., ELMER, W. H. (2018): Diseases of Tulip, In: MCGOVERN, R. J., ELMER, W. H. (Szerk.) *Handbook of Florists' Crops Diseases*. Springer International Publishing, Cham, 1313–1337 p. https://doi.org/10.1007/978-3-319-39670-5_49

128. MCGUIRE, G., WRIGHT, F. (2000): TOPAL 2.0: improved detection of mosaic sequences within multiple alignments. *Bioinformatics* 16, 130–134. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/16.2.130>
129. MCKAY, M. B., BRIERLEY, P., DIJKSTRA, T. P. (1929): Tulip „breaking” is proved to be caused by mosaic infection, In: EISENHOWER, M. S., CHEW, A. P. (Szerk.) *Yearbook of Agriculture 1928*. United States Department of Agriculture, Washington, 596–597 p.
130. MOELLING, K. (2016): Tulipomania - the first financial crisis by viruses. *Revue Roumaine De Chimie* 61, 637–645.
131. MORGULIS, A., COULOURIS, G., RAYTSELIS, Y., MADDEN, T. L., AGARWALA, R., SCHÄFFER, A. A. (2008): Database indexing for production MegaBLAST searches. *Bioinformatics* 24, 1757–1764. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btn322>
132. MOWAT, W. P. (1995): Tulip, In: LOEBENSTEIN, G., LAWSON, R. H., BRUNT, A. A. (Szerk.) *Virus and Virus like Diseases of Bulb and Flower Crops*. Wiley, Chichester, 352–383 p.
133. MOWAT, W. P., DUNCAN, G. H., DAWSON, S. (1988): Narcissus late season yellows potyvirus - symptoms, properties and serological detection. *Annals of Applied Biology* 113, 531–544. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1988.tb03330.x>
134. MURPHY, F. A., FAUQUET, C. M., BISHOP, D. H. L., GHABRIAL, S. A., JARVIS, A. W., MARTELLI, G. P., MAYO, M. A., SUMMERS, M. D. (Szerk.) (1995): *Virus Taxonomy*. Sixth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Springer Vienna, Vienna. <https://doi.org/10.1007/978-3-7091-6607-9>
135. NAGY, P. D. (2008): Recombination in Plant RNA Viruses, In: ROOSSINCK, M. J. (Szerk.) *Plant Virus Evolution*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 133–156 p. https://doi.org/10.1007/978-3-540-75763-4_8
136. NAVALINSKIENĖ, M., SAMUITIENĖ, M. (2001): Viruses affecting some bulb and corn flower crops. *Biologija* 40–42.
137. NAVRÁTIL, M., ŠAFÁŘOVÁ, D. (2019): Naturally occurring recombinant isolate of Pea seed-borne mosaic virus – Short Communication. *Plant Protection Science* 55, 167–171. <https://doi.org/10.17221/155/2018-PPS>
138. NEI, M., KUMAR, S. (2000): *Molecular evolution and phylogenetics*. Oxford University Press, Oxford ; New York.
139. NÉMETHY, ZS. (1990): A tulipán színtörés vírus (tulip breaking virus) előfordulása és tünetei tulipánon, In: *Lippay János Tudományos Ülésszak*. Előadás Lippay János Tudományos Ülésszak, Kertészeti és Élelmiszeripari Egyetem, Budapest, Hungary, 197 p.
140. NÉMETHY, ZS. (1992): Tulipán vírusbetegségeinek hazai előfordulása, In: *Növényvédelmi Tudományos Napok 1992*. Előadás 38. Növényvédelmi Tudományos Napok, Budapest, Hungary, 98 p.
141. NÉMETHY, ZS. (1994a): Survey on virus diseases of bulbous flowers in Hungary. *Acta Horticulturae* 377, 267–274. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1994.377.45>
142. NÉMETHY, ZS. (1994b): Vírusos tulipánok. *Kertészet és Szőlészet* 49, 5–6.

143. NIGAM, D., LATOURRETTE, K., SOUZA, P. F. N., GARCIA-RUIZ, H. (2019): Genome-wide variation in potyviruses. *Frontiers in Plant Science* 10, 1439. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01439>
144. OHIRA, K., NAMBA, S., MIYAGAWA, M., KUSUMI, T., TSUCHIAKI, T. (1994): Nucleotide-sequence of the coat protein-coding region of Tulip breaking virus. *Virus Genes* 8, 165–167. <https://doi.org/10.1007/BF01703074>
145. OHSHIMA, K. (2012): Plant potyvirus evolution: the survey of the genetic structure of populations. *Uirusu* 62, 151–160. <https://doi.org/10.2222/jsv.62.151>
146. OHSHIMA, K., MITOMA, S., GIBBS, A. J. (2018): The genetic diversity of narcissus viruses related to turnip mosaic virus blur arbitrary boundaries used to discriminate potyvirus species. *PLOS ONE* 13, e0190511. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190511>
147. OHSHIMA, K., NOMIYAMA, R., MITOMA, S., HONDA, Y., YASAKA, R., TOMIMURA, K. (2016): Evolutionary rates and genetic diversities of mixed potyviruses in *Narcissus*. *Infection Genetics and Evolution* 45, 213–223. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2016.08.036>
148. OKONECHNIKOV, K., GOLOSOVA, O., FURSOV, M. (2012): Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics* 28, 1166–1167. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts091>
149. PADIDAM, M., SAWYER, S., FAUQUET, C. M. (1999): Possible emergence of new geminiviruses by frequent recombination. *Virology* 265, 218–225. <https://doi.org/10.1006/viro.1999.0056>
150. PEARSON, M. N., COHEN, D., COWELL, S. J., JONES, D., BLOUIN, A., LEBAS, B. S. M., SHILLER, J. B., CLOVER, G. R. G. (2009): A survey of viruses of flower bulbs in New Zealand. *Australasian Plant Pathology* 38, 305–309. <https://doi.org/10.1071/AP09006>
151. PHAM, K., LANGEVELD, S. A., LEMMERS, M. E. C., DERKS, A. F. L. M. (2002): Detection and identification of potyviruses in *Zantedeschia*. *Acta Horticulturae* 143–148. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2002.568.20>
152. PHAM, K. T. K., DE KOCK, M. J. D., LEMMERS, M. E. C., DERKS, A. F. L. M. (2011): Molecular identification of potyviruses infecting bulbous ornamentals by the analysis of coat protein (cp) sequences, In: *Acta Horticulturae*. Előadás XII International Symposium on Virus Diseases of Ornamental Plants, International Society for Horticultural Science (ISHS), Leuven, Belgium, Haarlem, Netherlands, 167–172 p. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2011.901.21>
153. PILLER, M., BÁNHIDI, I. (2005): Hagymás dísznövények. Botanika Kft., Budapest.
154. PLEŠE, N. (1993): A presumable potyvirus infection of *Sternbergia lutea* (L.) Ker-G. (*Amaryllidaceae*). *Acta Botanica Croatica* 52, 5–7.
155. POLDER, G., VAN DER HEIJDEN, G. W. A. M., VAN DOORN, J., BALTISSEN, T. A. H. M. C. (2014): Automatic detection of Tulip breaking virus (TBV) in tulip fields using machine vision. *Biosystems Engineering* 117, 35–42. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2013.05.010>
156. POLDER, G., VAN DER HEIJDEN, G. W. A. M., VAN DOORN, J., CLEVERS, J. G. P. W., VAN DER SCHOOR, R., BALTISSEN, T. A. H. M. C. (2010): Detection of the tulip breaking virus

- (TBV) in tulips using optical sensors. *Precision Agriculture* 11, 397–412. <https://doi.org/10.1007/s11119-010-9169-2>
157. POLDER, G., VAN DER HEIJDEN, GERIE W. A. M., G. W. A. M., VAN DOORN, JOOP, J., BALTISSEN, T. A. H. M. C. (2012): Automatic detection of tulip breaking virus (TBV) in tulip fields using machine vision.
 158. POLDER, G., WESTERINGH, N. VAN DE, KOOL, J., KHAN, H. A., KOOTSTRA, G., NIEUWENHUIZEN, A. (2019): Automatic Detection of Tulip Breaking Virus (TBV) Using a Deep Convolutional Neural Network. *IFAC-PapersOnLine* 52, 12–17. <https://doi.org/10.1016/j.ifacol.2019.12.482>
 159. POLLAN, M. (2001): *The botany of desire a plant's eye view of the world*. Random House, New York.
 160. POSADA, D., CRANDALL, K. A. (2001): Evaluation of methods for detecting recombination from DNA sequences: Computer simulations. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98, 13757–13762. <https://doi.org/10.1073/pnas.241370698>
 161. RANDAG, C. J.-J. (2004): Calla lily plant named „Picasso”. US00PP15282P2.
 162. VAN REGENMORTEL, M. H. V., FAUQUET, C. M., BISHOP, D. H. L., CARSTENS, E. B., ESTES, M. K., LEMON, S. M., MANILOFF, J., MAYO, M. A., MCGEOCH, D. J., PRINGLE, C. R., WICKNER, R. B. (Szerk.) (2000): Virus taxonomy. Seventh report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Acad. Press, San Diego. <https://doi.org/10.1007/s007050170203>
 163. REVERS, F., GARCÍA, J. A. (2015): Molecular Biology of Potyviruses, In: *Advances in Virus Research*. Elsevier, 101–199 p. <https://doi.org/10.1016/bs.aivir.2014.11.006>
 164. REVERS, F., LE GALL, O., CANDRESSE, T., LE ROMANCER, M., DUNEZ, J. (1996): Frequent occurrence of recombinant potyvirus isolates. *Journal of General Virology* 77, 1953–1965. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-77-8-1953>
 165. RIECHMANN, J. L., LAIN, S., GARCIA, J. A. (1992): Highlights and prospects of potyvirus molecular biology. *Journal of General Virology* 73, 1–16. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-73-1-1>
 166. VAN RIJN, J. F. A. T., PFAFF, H. G. M., VAN AARTRIJK, J., VAN NES, C. R., PETERS, J. M. M., RAVEN, P. W. J., DE ROOY, M. (1995): Ziekten en afwijkingen bij bolgewassen: *Amaryllidaceae, Araceae, Begoniaceae, Compositae, Iridaceae, Oxalidaceae, Ranunculaceae*. Laboratorium voor Bloembollenonderzoek, Lisse.
 167. VAN RIJN, R. (1634): *Flora*.
 168. RIVAS, E. B., DE ALMEIDA BÔDI, E. C., HARAKAVA, R., GREGORI, F., GONÇALVES, M. C. (2016): Occurrence and molecular analysis of quarantine virus in lily cultivation areas in Brazil. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira* 51, 615–622. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2016000500023>
 169. ROZEWICKI, J., LI, S., AMADA, K. M., STANDLEY, D. M., KATOH, K. (2019): MAFFT-DASH: integrated protein sequence and structural alignment. *Nucleic Acids Research* 47, 5–10. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz342>

170. RUBLEVA, N., GNUTOVA, R., SIBIRYAKOVA, I. (1990): Hippeastrum mosaic virus - purification, properties and immunodiagnosis. *Izvestiya Akademii Nauk Sssr Seriya Biologicheskaya* 845–853.
171. SAITOU, N., NEI, M. (1987): The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454>
172. SALAMON, P., PALKOVICS, L. (2005): Occurrence of Colombian datura virus in *Brugmansia* hybrids, *Physalis peruviana* L. and *Solanum muricatum* Ait. in Hungary. *Acta Virologica* 49, 117–122.
173. SAMBROOK, J., RUSSELL, D. W. (2001): Molecular cloning: a laboratory manual, 3. kiad. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.
174. SANGER, F., COULSON, A. R. (1975): A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. *Journal of Molecular Biology* 94, 441–448. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(75\)90213-2](https://doi.org/10.1016/0022-2836(75)90213-2)
175. SASTRY, K. S., MANDAL, B., HAMMOND, J., SCOTT, S. W., BRIDDON, R. W. (2019): Encyclopedia of Plant Viruses and Viroids. Springer India, New Delhi. <https://doi.org/10.1007/978-81-322-3912-3>
176. VAN SCHEEPEN, J. (1996): Classified list and international register of Tulip names. Koninklijke Algemeene Vereeniging voor Bloembollencultuur (KAVB), Hillegom.
177. SCHMIDT, G., BORÓCZKY, M., GERZSON, L., HÁMORI, Z., IMRE, Cs., JÁMBORNÉ BENCZÚR, E., KOMISZÁR, L., NAGY, T., NEMÉNYI, A., SZAFIÁN, Zs., SZÁNTÓ, M., SZŐRINÉ ZIELIŃSKA, A., TILLYNÉ MÁNDY, A., TÓTH, I., TURINÉ FARKAS, Zs. (2000): Növényházi dísznövények termesztése. Mezőgazda Kiadó, Budapest.
178. SERÇE, Ç. U., CANDRESSE, T., SVANELLA-DUMAS, L., KRIZBAI, L., GAZEL, M., ÇAĞLAYAN, K. (2009): Further characterization of a new recombinant group of Plum pox virus isolates, PPV-T, found in orchards in the Ankara province of Turkey. *Virus Research* 142, 121–126. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2009.01.022>
179. SMITH, J. M. (1992): Analyzing the mosaic structure of genes. *Journal of Molecular Evolution* 34. <https://doi.org/10.1007/BF00182389>
180. SOKAL, R. R., MICHENER, C. D. (1958): A statistical method for evaluating systematic relationships. *The University of Kansas Science Bulletin* 38, 1409–1438.
181. ŠUBR, Z., KAMENCAJOVÁ, M., GLASA, M. (2015): Experimental mixed infection by plum pox virus strains confirms their natural host preference. *Acta Horticulturae* 29–32. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2015.1063.2>
182. ŠUBR, Z., PITTNEROVÁ, S., GLASA, M. (2004): A simplified RT-PCR-based detection of recombinant Plum pox virus isolates. *Acta Virologica* 48, 173–176.
183. SZATHMÁRY, E., PALKOVICS, L. (2009): Natural deletion is not unique in the coat protein (CP) of recombinant Plum pox virus (PPV) isolates in Hungary. *Julius-Kühn-Archiv* 427, 151–155.

184. TAMURA, K. (1992): The rate and pattern of nucleotide substitution in *Drosophila* mitochondrial DNA. *Molecular Biology and Evolution*. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040763>
185. TAMURA, K., NEI, M. (1993): Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution*. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040023>
186. TAVARÉ, S. (1986): Some probabilistic and statistical problems in the analysis of DNA sequences, In: *Some Mathematical Questions in Biology: DNA Sequence Analysis*. American Mathematical Society, Providence, 57–86 p.
187. THOMPSON, J. D., HIGGINS, D. G., GIBSON, T. J. (1994): CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* 22, 4673–4680. <https://doi.org/10.1093/nar/22.22.4673>
188. Uitvoeringsrichtlijn *Tulipa* 2014 (2014): . Bloembollenkeuringsdienst (BKD), Lisse.
189. Uitvoeringsrichtlijn *Tulipa* 2018 (2018): . Bloembollenkeuringsdienst (BKD), Lisse.
190. URCUQUI-INCHIMA, S., HAENNI, A.-L., BERNARDI, F. (2001): Potyvirus proteins: a wealth of functions. *Virus Research* 74, 157–175. [https://doi.org/10.1016/S0168-1702\(01\)00220-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1702(01)00220-9)
191. VALVERDE, R. A., SABANADZOVIC, S., HAMMOND, J. (2012): Viruses that enhance the aesthetics of some ornamental plants: beauty or beast? *Plant Disease* 96, 600–611. <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-11-0928-FE>
192. VAN DER VEER, R. (2019): In het spoor van Tesla en Google : Bollenrevolutie 4.0 brengt nieuwe technologieën samen. *Greenity* 34, 36–38.
193. VOIGT, C. A., MARTINEZ, C., WANG, Z.-G., MAYO, S. L., ARNOLD, F. H. (2002): Protein building blocks preserved by recombination. *Nature Structural Biology*. <https://doi.org/10.1038/nsb805>
194. Voorlopige statistiek Gladiol 2018 per groep (2018): . Bloembollenkeuringsdienst (BKD), Lisse.
195. Voorlopige statistiek Gladiol 2019 per groep (2020): . Bloembollenkeuringsdienst (BKD), Lisse.
196. Voorlopige statistiek Lelie 2018 per groep (2018): . Bloembollenkeuringsdienst (BKD), Lisse.
197. Voorlopige statistiek Lelie 2019 per groep (2019): . Bloembollenkeuringsdienst (BKD), Lisse.
198. Voorlopige statistiek voorjaarsbloeiers 2018-2019 per groep (2019): . Bloembollenkeuringsdienst (BKD), Lisse.
199. Voorlopige statistiek voorjaarsbloeiers 2019-2020 per groep (2020): . Bloembollenkeuringsdienst (BKD), Lisse.

200. Voorlopige statistiek *Zantedeschia* 2018 per groep (2018): . Bloembollenkeuringsdienst (BKD), Lisse.
201. Voorlopige statistiek *Zantedeschia* 2019 per groep (2019): . Bloembollenkeuringsdienst (BKD), Lisse.
202. WALKER, S. E., LORSCH, J. (2013): Sanger Dideoxy Sequencing of DNA, In: *Methods in Enzymology*. Elsevier, 171–184 p. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-418687-3.00014-8>
203. WARD, C. W., SHUKLA, D. D. (1991): Taxonomy of Potyviruses: Current Problems and Some Solutions. *Intervirology* 32, 269–296. <https://doi.org/10.1159/000150211>
204. WARD, L. I., VEERAKONE, S., TANG, J., CLOVER, G. R. G. (2009): First report of *Narcissus degeneration virus*, *Narcissus late season yellows virus*, and *Narcissus symptomless virus* on *Narcissus* in New Zealand. *Plant Disease* 93, 964–964. <https://doi.org/10.1094/PDIS-93-9-0964A>
205. WCSP (2020): World checklist of selected plant families. Royal Botanic Gardens, Kew.
206. WEILLER, G. F. (1998): Phylogenetic profiles: a graphical method for detecting genetic recombinations in homologous sequences. *Molecular Biology and Evolution* 15, 326–335. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a025929>
207. WHITE, J. L., KAPER, J. M. (1989): A simple method for detection of viral satellite RNAs in small plant tissue samples. *Journal of Virological Methods* 23, 83–93. [https://doi.org/10.1016/0166-0934\(89\)90122-5](https://doi.org/10.1016/0166-0934(89)90122-5)
208. WYLIE, S. J., ADAMS, M. J., CHALAM, C., KREUZE, J., LÓPEZ-MOYA, J. J., OHSHIMA, K., PRAVEEN, S., RABENSTEIN, F., STENGER, D., WANG, A., ZERBINI, F. M., ICTV REPORT CONSORTIUM (2017): ICTV Virus Taxonomy Profile: *Potyviridae*. *Journal of General Virology* 98, 352–354. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000740>
209. WYLIE, S. J., JONES, M. G. K. (2012): Complete genome sequences of seven carlavirus and potyvirus isolates from *Narcissus* and *Hippeastrum* plants in Australia, and proposals to clarify their naming. *Archives of Virology* 157, 1471–1480. <https://doi.org/10.1007/s00705-012-1319-6>
210. WYLIE, S. J., JONES, R. A. C. (2009): Role of recombination in the evolution of host specialization within *Bean yellow mosaic virus*. *Phytopathology* 99, 512–518. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-99-5-0512>
211. XIMBA, S. P. F., IBABA, J. D., GUBBA, A. (2017): Potato virus Y strains infecting potatoes in the Msinga district in the province of KwaZulu-Natal, South Africa. *Crop Protection* 96, 188–194. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2017.02.010>
212. YASAKA, R., FUKAGAWA, H., IKEMATSU, M., SODA, H., KORKMAZ, S., GOLNARAGHI, A., KATIS, N., HO, S. Y. W., GIBBS, A. J., OHSHIMA, K. (2017): The timescale of emergence and spread of turnip mosaic potyvirus. *Scientific Reports* 7, 4240. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01934-7>
213. ZAKUBANSKIY, A., MITROFANOVA, I., SHEVELEVA, A., CHIRKOV, S. (2018): Analysis of canna yellow streak virus complete genomes provides evidence of multiple intraspecies recombination events. *Journal of Plant Pathology* 100, 575–580. <https://doi.org/10.1007/s42161-018-0111-1>

214. ZETTLER, F. W., HARTMAN, R. D. (1995): *Dieffenbachia*, *Caladium* and *Zantedeschia*, In: LOEBENSTEIN, G., LAWSON, R. H., BRUNT, A. A. (Szerk.) *Virus and Virus like Diseases of Bulb and Flower Crops*. Wiley, Chichester, 464–470 p.
215. ZEVENBERGEN, G. (2019): Robot op bollenbeurs. *Landbouwmecanisatie : vakblad voor akkerbouwers, veehouders en loonwerkers* 70, 16–17.
216. ZHENG, H. Y., CHEN, J., ZHAO, M. F., LIN, L., CHEN, J. P., ANTONIW, J. F., ADAMS, M. J. (2003): Occurrence and sequences of Lily mottle virus and Lily symptomless virus in plants grown from imported bulbs in Zhejiang province, China. *Archives of Virology* 148, 2419–2428. <https://doi.org/10.1007/s00705-003-0207-5>

10 MELLÉKLETEK

M1. – Ábrajegyzék

1. ábra. Tulipánt fertőző vírusfajok magyarországi előfordulása.....	30
2. ábra. Tulipán színtörés vírus által okozott tünetek tulipánon (Fotó: A-G, J, K - ÁGOSTON J.; H – SÁRAY R.; I, M, N – ALMÁSI A.; L – SALÁNKI K.).....	32
3. ábra. Rembrandt tulipán színtörés vírus által okozott tünetek tulipánon (Fotó: A - O - ÁGOSTON J.)	33
4. ábra. Liliom foltosság vírus által okozott tünetek (Fotó: A-F, H, K, L - ÁGOSTON J.; G, I, J – ALMÁSI A.).....	34
5. ábra. <i>Narcissus</i> Miscellaneous 'Tête-à-Tête'-n jelentkező kísérő tünetek zöld bimbós (A) és virágzó (B) állapotban, valamint elvirágzás után szabadföldön (C) (Fotó: ÁGOSTON J.).....	35
6. ábra. <i>Narcissus</i> Trumpet 'Dutch Master'-en jelentkező kísérő tünetek a tenyészidőszak elején (A) és végén (B) szabadföldön (Fotó: ÁGOSTON J.).....	35
7. ábra. Egészséges (A) és vírus fertőzött 'Picasso' kála növény torzsavirágzata (B) és levele (C) (Fotó: ÁGOSTON J.).....	36
8. ábra. Egészséges <i>Muscari armeniacum</i> növények (Fotó: ÁGOSTON J.).....	37
9. ábra. Gyöngyike mozaik vírus tünetei 'Helena' fajtán. (A) levél fonákon, (B) levél felszínén, (C) szabadföldön a virágbimbó felszínre törésekor (Fotó: ÁGOSTON J.).....	38
10. ábra. Gyöngyike klorotikus foltosság vírus tünetei 'Pink Sunrise' fajtán. (A) levél felszínén a virágbimbó felszínre törésekor és a fonákon (B) ugyan abban a fenológiai stádiumban (Fotó: ÁGOSTON J.).....	39
11. ábra. Egészséges (A) és vírusfertőzött (B) <i>Sternbergia lutea</i> növények (Fotó: ÁGOSTON J.)	39
12. ábra. Liliom foltosság vírus partikuluma (Fotó: VÁGI P.).....	40
13. ábra. Tulipán színtörés vírus partikuluma (Fotó: VÁGI P.).....	41
14. ábra. Gyöngyike mozaik vírus (A) és gyöngyike klorotikus foltosság vírus (B) fertőzés eredménye <i>Muscari armeniacum</i> magoncokon (Fotó: ÁGOSTON J.).....	42
15. ábra. Tulipa Darwin-hybrid 'van Eijk' fertőzés tulipán vírusokkal (Fotó: ÁGOSTON J.).....	43
16. ábra. Tulipánt fertőző vírus izolátumok teljes köpenyfehérje génjének ML törzsfája (Forrás: ÁGOSTON J.).....	47
17. ábra. Tulipánt fertőző vírus izolátumok teljes köpenyfehérje génjének SplitsTree törzshálója (Forrás: ÁGOSTON J.).....	48
18. ábra. Nárcisz késői sárgulás vírus és lovagsillag mozaik vírus izolátumok teljes köpenyfehérje génjének ML törzsfája (Forrás: ÁGOSTON J.).....	50

19. ábra. Lepoárd kontyvirág mozaik vírus izolátumok teljes köpenyfehérje génjének ML törzsfája (Forrás: ÁGOSTON J.).....	52
20. ábra. Magyarországról izolált lepoárd kontyvirág mozaik vírus rokonsági viszonyai a köpenyfehérje aminosav sorrendje alapján (Forrás: ÁGOSTON J.).....	53
21. ábra. Gyöngyike mozaik vírus és gyöngyike klorotikus foltosság vírus izolátumok teljes köpenyfehérje gén ML törzsfája közeli rokon potyvírus fajokkal (Forrás: ÁGOSTON J.).....	55
22. ábra. Nárcisz késői sárgulás vírus izolátumok teljes köpenyfehérje génjének ML törzsfája (Forrás: ÁGOSTON J.).....	58
23. ábra. Rekombinációs események sematikus ábrázolása a potyvírus genomban (Forrás: ÁGOSTON J.)	60
24. ábra. Az 1. rekombinációs esemény sematikus ábrázolása (Forrás: ÁGOSTON J.).....	62
25. ábra. Az 5. számú rekombinációs esemény sematikus ábrázolása (Forrás: ÁGOSTON J.)	63
26. ábra. A 4. számú rekombinációs esemény sematikus ábrázolása (Forrás: ÁGOSTON J.)	64
27. ábra. JN123341 izolátum leszármazása (Forrás: ÁGOSTON J.)	65
28. ábra. A 2. rekombinációs esemény sematikus ábrázolása (Forrás: ÁGOSTON J.)	67
29. ábra. A 3. rekombinációs esemény sematikus ábrázolása (Forrás: ÁGOSTON J.)	68
30. ábra. A 6. rekombinációs esemény sematikus ábrázolása (Forrás: ÁGOSTON J.)	69

M2. – Táblázatjegyzék

1. táblázat: Potyvírus fajoknál leírt rekombináns izolátumok.....	17
2. táblázat: A vizsgálatba vont minták adatai.....	19
3. táblázat: ELISA eredmények	27
4. táblázat: A vizsgálatba vont mintákban azonosított vírusok, és azok GenBank azonosítói	28
5. táblázat: Tulipán mintákhoz tartozó ábrák összefoglalása	31
6. táblázat: Összefoglalás a filogenetikai elemzésben felhasznált vírusok CP gén nukleotid sorrend azonosságáról (Egész %-ra kerekítve)	45
7. táblázat: Összefoglalás az N1b/CP hasítóhely aminosav sorrendjéről a P4 – P1' pozíciókban	45
8. táblázat: Gyöngyike mozaik vírus és gyöngyike klorotikus foltosság vírus köpenyfehérje gént kódoló részeinek páronkénti nukleotid sorrend azonossága a BALST analízis által hozzájuk közeli rokon fajként azonosított izolátumok nukleotid sorrend azonosságával.....	56
9. táblázat: Tulipán vírusok közötti rekombinációs események összefoglalása	59
10. táblázat: A rekombinációs események statisztikai megerősítésének összefoglalása	59

M3 táblázat: A filogenetikai elemzésben felhasznált vírusok CP régiójának nukleotid

sorrend azonossága egész %-ban kifejezve.

A: S44147 (LMoV)-hez viszonyítva

Azonosító	Vírus	Azonosság
S44147	LMoV	100
AB053256	LMoV	97
KF553658	LMoV	97
KJ561805	LMoV	97
MF781080	LMoV	97
AF531458	LMoV	96
FJ618539	LMoV	96
MH360239	LMoV	96
JN127341	LMoV	93
AB090385	LMoV	87
AJ310203	LMoV	87
EU267778	LMoV	87
MF983709	LMoV	87
MK368784	LMoV	87
MK368788	LMoV	87
MK368792	LMoV	87
MK368793	LMoV	87
MK368794	LMoV	87
MK368801	LMoV	87
MK368802	LMoV	87
MK368803	LMoV	87
MK368806	LMoV	87
MK368809	LMoV	87
AB078007	LMoV	86
MK368790	LMoV	86
MK368804	LMoV	86
JN127335	ReTBV	69
MK368780	ReTBV	69
MK368781	ReTBV	69
MK368782	ReTBV	69
AB674535	ReTBV	67
KF442403	TBV	63
MF983710	TBV	63
MK368785	TBV	63
MK368787	TBV	63
MK368789	TBV	63
MK368791	TBV	63
MK368795	TBV	63
MK368796	TBV	63
MK368797	TBV	63
MK368798	TBV	63
MK368799	TBV	63
MK368800	TBV	63
MK368805	TBV	63
MK368807	TBV	63
MK368808	TBV	63
XG3630	TBV	63
KT923168	TBV	62
MK368783	TBV	62
MK368786	TBV	62
NC_001555	TEV	59

B: XG3630 (TBV) -hez viszonyítva

Azonosító	Vírus	Azonosság
XG3630	TBV	100
MK368808	TBV	99
MK368807	TBV	99
MK368805	TBV	99
MK368799	TBV	99
MK368798	TBV	99
MK368797	TBV	99
MK368796	TBV	99
MK368795	TBV	99
MK368791	TBV	99
MK368789	TBV	99
MK368787	TBV	99
MK368785	TBV	99
KF442403	TBV	99
MK368800	TBV	98
MF983710	TBV	98
KT923168	TBV	98
MK368786	TBV	96
MK368783	TBV	96
MK368780	ReTBV	67
AB674535	ReTBV	67
MK368782	ReTBV	66
MK368781	ReTBV	66
JN127335	ReTBV	66
NC_001555	TEV	65
S44147	LMoV	63
MK368809	LMoV	63
MK368803	LMoV	63
MK368802	LMoV	63
MK368793	LMoV	63
MK368790	LMoV	63
MK368788	LMoV	63
MH360239	LMoV	63
MF781080	LMoV	63
KJ561805	LMoV	63
KF553658	LMoV	63
JN127341	LMoV	63
FJ618539	LMoV	63
AF531458	LMoV	63
AB090385	LMoV	63
AB078007	LMoV	63
AB053256	LMoV	63
MK368806	LMoV	62
MK368804	LMoV	62
MK368801	LMoV	62
MK368794	LMoV	62
MK368792	LMoV	62
MK368784	LMoV	62
MF983709	LMoV	62
EU267778	LMoV	62
AJ310203	LMoV	62

C: AB674535 (ReTBV) -hez viszonyítva

Azonosító	Vírus	Azonosság
AB674535	ReTBV	100
JN127335	ReTBV	97
MK368780	ReTBV	90
MK368781	ReTBV	90
MK368782	ReTBV	90
MK368784	LMoV	69
MK368788	LMoV	69
MK368792	LMoV	69
MK368793	LMoV	69
MK368794	LMoV	69
MK368801	LMoV	69
MK368802	LMoV	69
MK368803	LMoV	69
MK368806	LMoV	69
MK368809	LMoV	69
AB078007	LMoV	69
MF983709	LMoV	68
MK368790	LMoV	68
MK368804	LMoV	68
EU267778	LMoV	68
JN127341	LMoV	68
AJ310203	LMoV	68
FJ618539	LMoV	68
AB090385	LMoV	68
MK368783	TBV	67
MK368785	TBV	67
MK368786	TBV	67
MK368787	TBV	67
MK368789	TBV	67
MK368791	TBV	67
MK368795	TBV	67
MK368796	TBV	67
MK368797	TBV	67
MK368798	TBV	67
MK368799	TBV	67
MK368800	TBV	67
MK368805	TBV	67
MK368807	TBV	67
MK368808	TBV	67
MF983710	TBV	67
KF442403	TBV	67
KT923168	TBV	67
XG3630	TBV	67
S44147	LMoV	67
KF553658	LMoV	67
AB053256	LMoV	67
AF531458	LMoV	67
KJ561805	LMoV	67
MF781080	LMoV	67
MH360239	LMoV	67
NC_001555	TEV	61

D: NC_001555 (TEV) -hez viszonyítva

Azonosító	Vírus	Azonosság
NC_001555	TEV	100
MK368785	TBV	65
MK368787	TBV	65
MK368789	TBV	65
MK368791	TBV	65
MK368795	TBV	65
MK368796	TBV	65
MK368797	TBV	65
MK368798	TBV	65
MK368799	TBV	65
MK368800	TBV	65
MK368805	TBV	65
MK368807	TBV	65
MK368808	TBV	65
MF983710	TBV	65
KF442403	TBV	65
XG3630	TBV	65
MK368786	TBV	64
KT923168	TBV	64
MK368783	TBV	63
JN127335	ReTBV	62
MK368780	ReTBV	61
MK368781	ReTBV	61
MK368782	ReTBV	61
AB674535	ReTBV	61
FJ618539	LMoV	59
S44147	LMoV	59
KF553658	LMoV	59
AB090385	LMoV	59
AF531458	LMoV	59
KJ561805	LMoV	59
MF781080	LMoV	59
MH360239	LMoV	59
MF983709	LMoV	58
MK368784	LMoV	58
MK368788	LMoV	58
MK368790	LMoV	58
MK368792	LMoV	58
MK368793	LMoV	58
MK368794	LMoV	58
MK368801	LMoV	58
MK368802	LMoV	58
MK368803	LMoV	58
MK368804	LMoV	58
MK368806	LMoV	58
MK368809	LMoV	58
EU267778	LMoV	58
AB078007	LMoV	58
JN127341	LMoV	58
AJ310203	LMoV	58
AB053256	LMoV	58

M4 táblázat: Tulipánt fertőző vírusok NIb/CP hasítóhelyeinek aminosav sorrendje P4 – P1' pozíciókban

Azonosító	Vírus	NIb/CP aminosav sorrend
AB078007	LMoV	nem ismert
AB090385	LMoV	nem ismert
EU267778	LMoV	nem ismert
KJ561805	LMoV	nem ismert
MF781080	LMoV	nem ismert
AB053256	LMoV	VAFQ/A
AF531458	LMoV	VAFQ/A
AJ310203	LMoV	VAFQ/A
FJ618539	LMoV	VAFQ/A
JN127341	LMoV	VAFQ/A
KF553658	LMoV	VAFQ/A
MF983709	LMoV	VAFQ/A
MH360239	LMoV	VAFQ/A
MK368784	LMoV	VAFQ/A
MK368788	LMoV	VAFQ/A
MK368790	LMoV	VAFQ/A
MK368792	LMoV	VAFQ/A
MK368793	LMoV	VAFQ/A
MK368794	LMoV	VAFQ/A
MK368801	LMoV	VAFQ/A
MK368802	LMoV	VAFQ/A
MK368803	LMoV	VAFQ/A
MK368804	LMoV	VAFQ/A
MK368806	LMoV	VAFQ/A
MK368809	LMoV	VAFQ/A
S44147	LMoV	VAFQ/A
AB674535	ReTBV	VIFQ/A
JN127335	ReTBV	VIFQ/A
MK368780	ReTBV	VIFQ/A
MK368782	ReTBV	VIFQ/A
MK368781	ReTBV	VILQ/A
KF442403	TBV	VQFQ/A
KT923168	TBV	VQFQ/A
MF983710	TBV	VQFQ/A
MK368783	TBV	VQFQ/A
MK368785	TBV	VQFQ/A
MK368786	TBV	VQFQ/A
MK368787	TBV	VQFQ/A
MK368789	TBV	VQFQ/A
MK368791	TBV	VQFQ/A
MK368795	TBV	VQFQ/A
MK368796	TBV	VQFQ/A
MK368797	TBV	VQFQ/A
MK368798	TBV	VQFQ/A

MK368799	TBV	VQFQ/A
MK368800	TBV	VQFQ/A
MK368805	TBV	VQFQ/A
MK368807	TBV	VQFQ/A
MK368808	TBV	VQFQ/A
X63630	TBV	VQFQ/A

11 KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretnék köszönetet mondani konzulensemnek, Dr. PALKOVICS LÁSZLÓ professzor úrnak, az MTA doktorának, valamint társszerző kollégáimnak, Dr. SALÁNKI KATALINNAK, az MTA doktorának, Dr. ALMÁSI ASZTÉRIÁNAK és Dr. NEMES KATALINNAK, akik munkámat folyamatosan és önzetlenül segítették. Az ő közreműködésük, sokéves tapasztalatuk, folyamatos útmutatásuk nélkül nem sikerült volna kutatásomat eredményesen befejezni. Megtisztelő, hogy tőlük tanulhattam, és remélem, hogy a jövőben lesz még lehetőségünk együtt dolgozni.

Köszönöm Dr. VÁGI PÁLNAK az elektronmikroszkópos vizsgálatok elvégzését.

Szeretném továbbá megköszönni doktorandusz társaim, SÁRAY RÉKA, PINCZÉS DÓRA, LANTOS ANNA, KONCZ LÁSZLÓ, valamint a Növénykórtani Tanszéknek, az ELKH Agrártudományi Kutatóközpont Növényvédelmi Intézetének és az NJE Könyvtár és Információs Központ dolgozóinak türelmét és segítségét.

Szeretném megköszönni P. J. J. APELDOORN-nak, hogy 2014-ben engedélyezte a 'Zomerschoon' Rembrandt tulipán fajtáról a mintavételt a tulipán fajta élő génbankjából.

Szeretném megköszönni JOHAN VAN SCHEEPEN-nek, hogy megengedte, hogy használjam a KAVB könyvtárát, és ott irodalmazhassak a cikkekhez és a disszertációhoz.

Szeretném megköszönni szüleim, testvérem és családom tagjainak a biztatást, és hogy sok évig tartó munkámban végig támogattak és mellettem álltak.

A kutatást az Innovációs és Technológiai Minisztériuma által meghirdetett Felsőoktatási Intézményi Kiválósági Program (NKFIH-1159-6/2019) a Szent István Egyetem növénynevelés, növényvédelemmel kapcsolatos kutatások alprogramja keretében támogatta. Köszönettel tartozunk a kutatás támogatásáért, amely az EFOP-3.6.1-16-2016-00006 „A kutatási potenciál fejlesztése és bővítése a Neumann János Egyetemen” pályázat keretében valósult meg. A projekt a Magyar Állam és az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával, a Széchenyi 2020 program keretében valósul meg.