

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

## **Fokhagymán előforduló vírusok molekuláris vizsgálata**

**KOCZOR ÁDÁM ANDRÁS**

Témavezető:

DR. PALKOVICS LÁSZLÓ



Budapest

2024.



## **A doktori iskola**

**megnevezés:** Kertészettudományi Doktori Iskola

**tudományág:** Növénytermesztési és kertészeti tudományok

**vezetője:** Zámboriné Dr. Németh Éva  
tanszékvezető egyetemi tanár, DSc.  
Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Gyógy- és  
Aromanövények Tanszék

**témavezető:** Dr. Palkovics László Amand  
egyetemi tanár, DSc.  
Széchenyi István Egyetem, Növénytudományi Tanszék

.....  
Az iskolavezető jóváhagyása

.....  
A témavezető jóváhagyása



# TARTALOMJEGYZÉK

|                                                                                      |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------|----|
| ÁBRÁK JEGYZÉKE.....                                                                  | 3  |
| TÁBLÁZATOK JEGYZÉKE .....                                                            | 5  |
| JELÖLÉSEK ÉS RÖVIDÍTÉSEK .....                                                       | 8  |
| 1. BEVEZETÉS .....                                                                   | 9  |
| 2. CÉLKITŰZÉSEK.....                                                                 | 10 |
| 3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....                                                          | 11 |
| 3.1. A fokhagyma származása és morfológiája .....                                    | 11 |
| 3.2. A magyar fokhagyma világpiaci helyzete .....                                    | 12 |
| 3.3. A fokhagymavírusok kutatásának magyarországi és nemzetközi alakulása .....      | 13 |
| 3.4. A <i>Potyvirus</i> nemzetség, és fokhagymát fertőző fajai .....                 | 21 |
| 3.5. A <i>Carlavirus</i> nemzetség, és fokhagymát fertőző fajai .....                | 24 |
| 3.6. Az <i>Allexivirus</i> nemzetség, és fokhagymát fertőző fajai .....              | 27 |
| 3.7. A fokhagymát fertőző vírusok termésmennyiségre gyakorolt hatása .....           | 32 |
| 4. ANYAG ÉS MÓDSZER .....                                                            | 36 |
| 4.1. Vizsgálatok helye .....                                                         | 36 |
| 4.2. Vizsgálatok anyaga és módszere .....                                            | 36 |
| 4.2.1. Növények fenntartása, mintaszedés .....                                       | 41 |
| 4.2.2. Primerek tervezése, szakirodalmi primerek kiválasztási szempontjai .....      | 41 |
| 4.2.2.1. Saját primerek tervezésének szempontrendszere.....                          | 41 |
| 4.2.2.2. HaPoty, HaCarla és HaAllexi primerkészlet .....                             | 43 |
| 4.2.2.3. Gupta- és Yoshida-féle primerek optimalizációja .....                       | 45 |
| 4.2.2.4. Fajspecifikus <i>Allexivirus</i> primerek .....                             | 48 |
| 4.2.2.5. Saját LYSV primerkészlet .....                                              | 51 |
| 4.2.3. Nukleinsav kivonás .....                                                      | 54 |
| 4.2.4. cDNS szintézis .....                                                          | 54 |
| 4.2.5. PCR reakció.....                                                              | 55 |
| 4.2.6. Gélből izolálás.....                                                          | 58 |
| 4.2.7. Szekvenciaanalízis, BLAST analízis, filogenetikai törzsfák .....              | 58 |
| 4.2.8. Mesterséges inokuláció .....                                                  | 58 |
| 4.2.8.1. Mesterséges fertőzés LYSV izolátummal.....                                  | 58 |
| 4.2.8.2. Kevert <i>Carlavirus</i> fertőzés létrehozásának provokációs kísérlete..... | 59 |

|        |                                                                                   |     |
|--------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 5.     | EREDMÉNYEK ÉS AZOK MEGVITATÁSA .....                                              | 62  |
| 5.1.   | A PCR vizsgálatok eredményei, vírusfajok- és nemzetségek kimutatása.....          | 62  |
| 5.1.1. | Eredmények a HaPoty, HaCarla és HaAllexi primerkészlettel.....                    | 63  |
| 5.1.2. | Eredmények a Gupta- és Yoshida-féle módosított primerkészlettel.....              | 69  |
| 5.1.3. | Eredmények a fajspecifikus <i>Allexivirus</i> primerekkel.....                    | 71  |
| 5.1.4. | Eredmények a saját fejlesztésű LYSV primerekkel.....                              | 73  |
| 5.2.   | 23A (PotyAS3) LYSV izolátum szekvenciaadataival elért eredmények.....             | 75  |
| 5.3.   | Mesterséges fertőzési vizsgálatok eredményei.....                                 | 77  |
| 5.3.1. | A 23A minta szövetnedvével végzett mesterséges fertőzés eredményei.....           | 77  |
| 5.3.2. | Kevert <i>Carlavirus</i> fertőzés létrehozásának provokációs kísérlete .....      | 78  |
| 6.     | KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK .....                                               | 80  |
| 7.     | ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK .....                                                    | 85  |
| 8.     | ÖSSZEFOGLALÁS.....                                                                | 86  |
| 9.     | SUMMARY.....                                                                      | 87  |
| 10.    | MELLÉKLETEK .....                                                                 | 88  |
| M1.    | Irodalomjegyzék .....                                                             | 88  |
| M2.    | HaPoty, HaCarla és HaAllexi primerek felhasználásával nyert szekvenciaadatok ..   | 103 |
| M3.    | A Gupta- és Yoshida-féle módosított primerkészlettel nyert szekvenciaadatok ..... | 120 |
| M4.    | Fajspecifikus allexivírus primerekkel nyert szekvenciaadatok .....                | 123 |
| M5.    | Eredmények a saját LYSV full genom primerekkel nyert szekvenciaadatok .....       | 128 |
| M6.    | Vizsgált minták fertőzöttségét mutató táblázat.....                               | 134 |
| M7.    | Gupta- és Yoshida-féle primerek optimalizációja .....                             | 136 |
| M8.    | Vizsgált szakirodalmi allexivírus primerek .....                                  | 137 |
| M9.    | A 23A (PotyAS3) LYSV izolátum szekvenciaadataival elért eredmények .....          | 140 |
| 11.    | KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....                                                          | 149 |

# ÁBRÁK JEGYZÉKE

|                                                                                                                                                                                                    |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. ábra: Potyvírusok genomszerveződése a dohány karcolatos vírus példáján (KING et al., 2011).....                                                                                                 | 21 |
| 2. ábra: A carlavírusok genomszerveződése a burgonya M vírus példáján (KING et al., 2011) .....                                                                                                    | 24 |
| 3. ábra: A mogoróhagyma X allexivírus faj genomiális felépítése (KING et al., 2011).....                                                                                                           | 27 |
| 4. ábra: A ShVX vírus genomiális felépítése (ARKHIPOV et al., 2013).....                                                                                                                           | 27 |
| 5. ábra: Lehetséges TGB3 gén genomiális elhelyezkedése (LEZZHOV et al., 2015).....                                                                                                                 | 28 |
| 6. ábra: Egészséges (balra) és tünetes (jobbra) növények a tanszéki üvegházban.....                                                                                                                | 36 |
| 7. ábra: A mintagyűjtés magyarországi helyszínei.....                                                                                                                                              | 36 |
| 8. ábra: A 23A minta rokonsági viszonyai az NCBI adatbázis LYSV teljes genomot tartalmazó feltöltéseinek köpenyfehérje régiója alapján (1000 ismétléses bootstrap analízis, UPGMA módszerrel)..... | 45 |
| 9. ábra: A GarV-B fajon belül konzervált, de az Allexivirus nemzetségen belül variábilis régió.....                                                                                                | 48 |
| 10. ábra: A saját LYSV primerkészlet fejlesztése során felhasznált referencia izolátumok rokonsági viszonyai filogenetikai törzsfán (1000 ismétléses bootstrap analízis, UPGMA módszerrel).....    | 51 |
| 11. ábra: Néhány fokhagymaminta HaPoty és M4 primerpárral végzett RT-PCR analízise.....                                                                                                            | 63 |
| 12. ábra: A 23A mintából származó LYSV izolátum filogenetikai törzsfája a köpenyfehérjét kódoló régió alapján (1000 ismétléses bootstrap analízis, UPGMA módszerrel).....                          | 63 |
| 13. ábra: Néhány fokhagymaminta HaCarla és M4 primerpárral végzett RT-PCR analízise.....                                                                                                           | 64 |
| 14. ábra: Az általunk vizsgált mintákból származó carlavírus izolátumok filogenetikai törzsfája a köpenyfehérjét kódoló régió alapján (1000 ismétléses bootstrap analízis, UPGMA módszerrel).....  | 65 |
| 15. ábra: Néhány fokhagymaminta HaAllexi és M4 primerpárral végzett RT-PCR analízise.....                                                                                                          | 66 |
| 16. ábra: Az általunk vizsgált mintákból származó allexivírus izolátumok filogenetikai törzsfája a köpenyfehérjét kódoló gén alapján (1000 ismétléses bootstrap analízis, UPGMA módszerrel).....   | 67 |
| 17. ábra: A Gupta-féle primerkészlettel 50-55 °C anellációs hőmérsékleten végzett hagyományos PCR eredményei.....                                                                                  | 69 |
| 18. ábra: A Gupta-féle primerkészlettel 52 > 40 °C anellációs hőmérsékleten végzett td-PCR eredményei.....                                                                                         | 69 |
| 19. ábra: A Gupta-féle primerkészlettel 60 > 45 °C anellációs hőmérsékleten végzett td-PCR eredményei.....                                                                                         | 69 |
| 20. ábra: A Gupta-féle primerkészlettel 65 > 48 °C anellációs hőmérsékleten végzett td-PCR eredményei.....                                                                                         | 69 |
| 21. ábra: Szakirodalmi eredetű és saját fejlesztésű allexivírus primerpárokkal elért RT-PCR eredmények.....                                                                                        | 70 |
| 22. ábra: Az általunk vizsgált mintákból származó allexivírus izolátumok filogenetikai törzsfája a köpenyfehérjét kódoló gén alapján (1000 ismétléses bootstrap analízis, UPGMA módszerrel).....   | 71 |
| 23. ábra: A saját LYSV primerkészlettel 48 °C anellációs hőmérsékleten végzett hagyományos PCR eredményei.....                                                                                     | 73 |
| 24. ábra: A saját LYSV primerkészlettel 50 °C anellációs hőmérsékleten végzett hagyományos PCR eredményei.....                                                                                     | 73 |
| 25. ábra: A saját LYSV primerkészlettel 52 > 40 °C anellációs hőmérsékleten végzett td-PCR eredményei.....                                                                                         | 73 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>26. ábra:</b> A saját LYSV primerkészlettel 60 > 45 °C anellációs hőmérsékleten végzett td-PCR eredményei.....                                                                                                                                                                                           | 73  |
| <b>27. ábra:</b> A saját LYSV primerkészlettel 65 > 48 °C anellációs hőmérsékleten végzett td-PCR eredményei (1).....                                                                                                                                                                                       | 73  |
| <b>28. ábra:</b> A saját LYSV primerkészlettel 65 > 48 °C anellációs hőmérsékleten végzett td-PCR eredményei (2).....                                                                                                                                                                                       | 73  |
| <b>29. ábra:</b> A 23A LYSV izolátum megismert szekvenciaadatainak elhelyezkedése a LYSV genomján.....                                                                                                                                                                                                      | 75  |
| <b>30. ábra:</b> A PotyAS1-8 sorozat mesterséges LYSV inokulációjának eredményei.....                                                                                                                                                                                                                       | 76  |
| <b>31. ábra:</b> A PotyAP1-8 sorozat mesterséges LYSV inokulációjának eredményei.....                                                                                                                                                                                                                       | 76  |
| <b>32. ábra:</b> A CarlaAS1-10 sorozatban létrejött carlavírus fertőzöttség mesterséges inokuláció hatására.....                                                                                                                                                                                            | 77  |
| <b>33. ábra:</b> A CarlaAS11-20 sorozatban létrejött carlavírus fertőzöttség mesterséges inokuláció hatására.....                                                                                                                                                                                           | 77  |
| <b>34. ábra:</b> Az általunk vizsgált mintákból származó SLV izolátumok rokonsági viszonyai a köpenyfehérjét kódoló gén alapján (1000 ismétléses bootstrap analízis, UPGMA módszerrel).....                                                                                                                 | 76  |
| <b>M1. ábra:</b> PotyAS3 mintából, a LYSV P1 - yshd F és R primerpárral, 50 °C anellációs hőmérsékletű PCR protokollal kimutatott LYSV izolátum rokonsági viszonyai P1 fehérjét kódoló régió alapján (1000 ismétléses bootstrap analízis, UPGMA módszerrel, filogenetikai törzsfa részlet).....             | 139 |
| <b>M2. ábra:</b> PotyAS3 mintából, a LYSV CP F és LYSV CP R primerpárral, 55 °C anellációs hőmérsékletű td-PCR protokollal kimutatott LYSV izolátum rokonsági viszonyai CP fehérjét kódoló régió alapján (1000 ismétléses bootstrap analízis, UPGMA módszerrel, filogenetikai törzsfa részlet).....         | 140 |
| <b>M3. ábra:</b> PotyAS3 mintából, a LYSV Nib F és LYSV Nib R primerpárral, 52 > 40 °C anellációs hőmérsékletű td-PCR protokollal kimutatott LYSV izolátum rokonsági viszonyai Nib fehérjét kódoló régió alapján (1000 ismétléses bootstrap analízis, UPGMA módszerrel, filogenetikai törzsfa részlet)..... | 141 |
| <b>M4. ábra:</b> PotyAS3 mintából, a LYSV2 FOR és LYSV2 REV primerpárral, 50 °C-os anellációs hőmérsékletű PCR protokollal kimutatott LYSV izolátum rokonsági viszonyai CI fehérjét kódoló régió alapján (1000 ismétléses bootstrap analízis, UPGMA módszerrel, filogenetikai törzsfa részlet).....         | 142 |
| <b>M5. ábra:</b> PotyAS3 mintából, a LYSV2 FOR és LYSV2 REV primerpárral, 65 > 48 °C-os anellációs hőmérsékletű td-PCR protokollal kimutatott LYSV izolátum rokonsági viszonyai CI fehérjét kódoló régió alapján (1000 ismétléses bootstrap analízis, UPGMA módszerrel, filogenetikai törzsfa részlet)..... | 143 |
| <b>M6. ábra:</b> PotyAS3 mintából, a LYSV4 FOR és LYSV4 REV primerpárral, 48 °C-os anellációs hőmérsékletű PCR protokollal kimutatott LYSV izolátum rokonsági viszonyai CI fehérjét kódoló régió alapján (1000 ismétléses bootstrap analízis, UPGMA módszerrel, filogenetikai törzsfa részlet).....         | 144 |
| <b>M7. ábra:</b> PotyAS3 mintából, a LYSV4 FOR és LYSV4REV primerpárral, 60 > 45 °C-os anellációs hőmérsékletű td-PCR protokollal kimutatott LYSV izolátum rokonsági viszonyai CI fehérjét kódoló régió alapján (1000 ismétléses bootstrap analízis, UPGMA módszerrel, filogenetikai törzsfa részlet).....  | 145 |
| <b>M8. ábra:</b> PotyAS3 mintából, a LYSV8 FOR és LYSV8 REV primerpárral, 50 °C-os anellációs hőmérsékletű PCR protokollal kimutatott LYSV izolátum rokonsági viszonyai CP fehérjét kódoló régió alapján (1000 ismétléses bootstrap analízis, UPGMA módszerrel, filogenetikai törzsfa részlet).....         | 146 |
| <b>M9. ábra:</b> PotyAS3 mintából, a LYSV8 FOR és LYSV8 REV primerpárral, 65 > 48 °C-os anellációs hőmérsékletű td-PCR protokollal kimutatott LYSV izolátum rokonsági viszonyai CP fehérjét kódoló régió alapján (1000 ismétléses bootstrap analízis, UPGMA módszerrel, filogenetikai törzsfa részlet)..... | 147 |

# TÁBLÁZATOK JEGYZÉKE

|                                                                                                                                                         |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>1. táblázat:</b> Az <i>Allium</i> nemzetséget fertőző vírusok rendszertani besorolása                                                                | 16  |
| <b>2. táblázat:</b> Az <i>Allium</i> nemzetséget fertőző vírusok gazdanövényköre, elterjedése, hazai jelenléte és ismert jelentősége fokhagyma növényen | 17  |
| <b>3. táblázat:</b> A kutatás során begyűjtött fokhagymaminták                                                                                          | 37  |
| <b>4. táblázat:</b> A HaPoty, HaCarla és HaAllexi primerkészlet és primerpárok tulajdonságai                                                            | 43  |
| <b>5. táblázat:</b> A HaPoty, HaCarla és HaAllexi primerkészlet                                                                                         | 44  |
| <b>6. táblázat:</b> A Gupta- és Yoshida-féle primerkészlet tulajdonságai                                                                                | 46  |
| <b>7. táblázat:</b> Az optimalizált Gupta- és Yoshida-féle primerkészlet                                                                                | 47  |
| <b>8. táblázat:</b> A fajspecifikus, Allexivirus kimutatásra szolgáló primerkészletek tulajdonságai                                                     | 49  |
| <b>9. táblázat:</b> Allexivírusok fajspecifikus kimutatásához használt szakirodalmi és saját fejlesztésű primerek                                       | 50  |
| <b>10. táblázat:</b> A saját LYSV teljes genom kimutatásra szolgáló primerkészletek tulajdonságai                                                       | 52  |
| <b>11. táblázat:</b> A saját LYSV primerkészlet                                                                                                         | 53  |
| <b>12. táblázat:</b> cDNS szintézis reakcióelegye                                                                                                       | 54  |
| <b>13. táblázat:</b> A PCR készítéshez összemért alapanyagok mennyisége                                                                                 | 55  |
| <b>14. táblázat:</b> A HaPoty, HaCarla és HaAllexi primerkészlethez alkalmazott PCR protokoll                                                           | 56  |
| <b>15. táblázat:</b> A Gupta- és Yoshida-féle primerkészlethez alkalmazott PCR és td-PCR protokollok                                                    | 56  |
| <b>16. táblázat:</b> Az allexivírusok fajspecifikus kimutatásához használt primereknél alkalmazott PCR protokoll                                        | 57  |
| <b>17. táblázat:</b> A saját LYSV primerkészletnél alkalmazott PCR és td-PCR protokollok                                                                | 57  |
| <b>18. táblázat:</b> Mesterségesen fertőzött póréhagyma és fokhagymaminták                                                                              | 61  |
| <b>19. táblázat:</b> A HaCarla és M4 primerpárral nyert szekvenciaadatok BLAST analízisének eredményei                                                  | 64  |
| <b>20. táblázat:</b> A HaAllexi és M4 primerpárral nyert szekvenciaadatok BLAST analízisének eredményei                                                 | 66  |
| <b>21. táblázat:</b> A Gupta- és Yoshida-féle primerpárokkal nyert szekvencia adatok BLAST analízisének eredményei                                      | 68  |
| <b>22. táblázat:</b> BLAST analízis eredménye a fajspecifikus allexivirus primerekkel nyert szekvenciaadatokon                                          | 71  |
| <b>23. táblázat:</b> BLAST analízis eredménye saját LYSV primerekkel nyert szekvenciaadatokon                                                           | 72  |
| <b>24. táblázat:</b> A PotyAP1-8, a PotyAS1-8 és a CarlaAS1-20 sorozat mesterséges fertőzésének eredményei                                              | 78  |
| <b>M1. táblázat:</b> 23A minta LYSV köpenyfehérjét kódoló régió szekvenciaadatai a HaPoty és M4 primerek felhasználásával, 5'-3' irányban               | 102 |
| <b>M2. táblázat:</b> 1A minta GCLV köpenyfehérjét kódoló régió szekvenciaadatai a HaCarla és M4 primerek felhasználásával, 5'-3' irányban               | 103 |
| <b>M3. táblázat:</b> 17A minta SLV köpenyfehérjét kódoló régió szekvenciaadatai a HaCarla és M4 primerek felhasználásával, 5'-3' irányban               | 104 |
| <b>M4. táblázat:</b> 17B minta SLV köpenyfehérjét kódoló régió szekvenciaadatai a HaCarla és M4 primerek felhasználásával, 5'-3' irányban               | 105 |

|                                                                                                                                                                                             |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>M5. táblázat:</b> 19A minta SLV köpenyfehérjét kódoló régió szekvenciaadatai a HaCarla és M4 primerek felhasználásával, 5'-3' irányban.....                                              | 106 |
| <b>M6. táblázat:</b> 23A minta GCLV köpenyfehérjét kódoló régió szekvenciaadatai a HaCarla és M4 primerek felhasználásával, 5'-3' irányban.....                                             | 107 |
| <b>M7. táblázat:</b> 43A minta GCLV köpenyfehérjét kódoló régió szekvenciaadatai a HaCarla és M4 primerek felhasználásával, 5'-3' irányban.....                                             | 108 |
| <b>M8. táblázat:</b> 43B minta GCLV köpenyfehérjét kódoló régió szekvenciaadatai a HaCarla és M4 primerek felhasználásával, 5'-3' irányban.....                                             | 109 |
| <b>M9. táblázat:</b> 1A minta GarV-X köpenyfehérjét kódoló régió szekvenciaadatai a HaAllexi és M4 primerek felhasználásával, 5'-3' irányban.....                                           | 110 |
| <b>M10. táblázat:</b> 7A minta GarV-D köpenyfehérjét kódoló régió szekvenciaadatai a HaAllexi és M4 primerek felhasználásával, 5'-3' irányban.....                                          | 111 |
| <b>M11. táblázat:</b> 11A minta GarV-D köpenyfehérjét kódoló régió szekvenciaadatai a HaAllexi és M4 primerek felhasználásával, 5'-3' irányban.....                                         | 112 |
| <b>M12. táblázat:</b> 16A minta GarV-D köpenyfehérjét kódoló régió szekvenciaadatai a HaAllexi és M4 primerek felhasználásával, 5'-3' irányban.....                                         | 113 |
| <b>M13. táblázat:</b> 19A minta GarV-D köpenyfehérjét kódoló régió szekvenciaadatai a HaAllexi és M4 primerek felhasználásával, 5'-3' irányban.....                                         | 114 |
| <b>M14. táblázat:</b> 23A minta GarV-B köpenyfehérjét kódoló régió szekvenciaadatai a HaAllexi és M4 primerek felhasználásával, 5'-3' irányban.....                                         | 115 |
| <b>M15. táblázat:</b> 43A minta GarV-D köpenyfehérjét kódoló régió szekvenciaadatai a HaAllexi és M4 primerek felhasználásával, 5'-3' irányban.....                                         | 116 |
| <b>M16. táblázat:</b> 43B minta GarV-D köpenyfehérjét kódoló régió szekvenciaadatai a HaAllexi és M4 primerek felhasználásával, 5'-3' irányban.....                                         | 117 |
| <b>M17. táblázat:</b> 49A minta GarV-X köpenyfehérjét kódoló régió szekvenciaadatai a HaAllexi és M4 primerek felhasználásával, 5'-3' irányban.....                                         | 118 |
| <b>M18. táblázat:</b> PotyAS3 mesterségesen fertőzött minta LYSV köpenyfehérjét kódoló régió szekvenciaadatai a Gupta-féle optimalizált primerkészlet felhasználásával, 5'-3' irányban..... | 119 |
| <b>M19. táblázat:</b> PotyAS3 mesterségesen fertőzött minta LYSV N1b fehérjét kódoló régió szekvenciaadatai a Gupta-féle optimalizált primerkészlet felhasználásával, 5'-3' irányban.....   | 120 |
| <b>M20. táblázat:</b> PotyAS3 mesterségesen fertőzött minta LYSV P1 fehérjét kódoló régió szekvenciaadatai a Yoshida-féle primerkészlet felhasználásával, 5'-3' irányban.....               | 121 |
| <b>M21. táblázat:</b> 9A minta GarV-B ORF4 régió szekvenciaadatai a saját fejlesztésű GarV-B primerkészlet felhasználásával, 5'-3' irányban.....                                            | 122 |
| <b>M22. táblázat:</b> 32A minta GarV-D ORF4 régió szekvenciaadatai a saját fejlesztésű GarV-D primerkészlet felhasználásával, 5'-3' irányban.....                                           | 123 |
| <b>M23. táblázat:</b> 34B minta GarV-D ORF4 régió szekvenciaadatai a saját fejlesztésű GarV-D primerkészlet felhasználásával, 5'-3' irányban.....                                           | 124 |

|                                                                                                                                                                                                          |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>M24. táblázat:</b> BAJA minta GarV-D ORF4 régió szekvenciaadatai a saját fejlesztésű GarV-D primerkészlet felhasználásával, 5'-3' irányban.....                                                       | 125 |
| <b>M25. táblázat:</b> BAJA minta GarV-C ORF4-5 régió szekvenciaadatai a szakirodalmi eredetű GarV-C-brd primerkészlet felhasználásával, 5'-3' irányban.....                                              | 126 |
| <b>M26. táblázat:</b> PotyAS3 minta LYSV HC-Pro – P3 fehérjét kódoló régió szekvenciaadatai saját fejlesztésű LYSV primerkészlet felhasználásával, 50 °C-os PCR protokollal, 5'-3' irányban.....         | 127 |
| <b>M27. táblázat:</b> PotyAS3 minta LYSV HC-Pro – P3 fehérjét kódoló régió szekvenciaadatai saját fejlesztésű LYSV primerkészlet felhasználásával, 65 > 48 °C-os td-PCR protokollal, 5'-3' irányban..... | 128 |
| <b>M28. táblázat:</b> PotyAS3 minta LYSV CI fehérje kódoló régió szekvenciaadatai saját fejlesztésű LYSV primerkészlet felhasználásával, 48 °C-os PCR protokollal, 5'-3' irányban.....                   | 129 |
| <b>M29. táblázat:</b> PotyAS3 minta LYSV CI fehérje kódoló régió szekvenciaadatai saját fejlesztésű LYSV primerkészlet felhasználásával, 60 > 45 °C-os PCR protokollal, 5'-3' irányban.....              | 130 |
| <b>M30. táblázat:</b> PotyAS3 minta LYSV köpenyfehérjefehérje kódoló régió szekvenciaadatai saját fejlesztésű LYSV primerkészlet felhasználásával, 60 > 45 °C-os PCR protokollal, 5'-3' irányban.....    | 131 |
| <b>M31. táblázat:</b> PotyAS3 minta LYSV köpenyfehérjefehérje kódoló régió szekvenciaadatai saját fejlesztésű LYSV primerkészlet felhasználásával, 65 > 48 °C-os PCR protokollal.....                    | 132 |
| <b>M32. táblázat:</b> A HaPoty, HaCarla, HaAllexi és M4 primerpárokkal vizsgált 45 minta vírushatózótsága.....                                                                                           | 133 |
| <b>M33. táblázat:</b> A Gupta- és Yoshida-féle primerkészlet optimalizálása a KP258216 referencia izolátum szekvenciaadatai alapján.....                                                                 | 135 |
| <b>M34. táblázat:</b> A fajspecifikus Allexivirus primerek kiválasztása során vizsgált primerek.....                                                                                                     | 136 |

## JELÖLÉSEK ÉS RÖVIDÍTÉSEK

| Rövidítés | Jelentése                                             |
|-----------|-------------------------------------------------------|
| 6K1       | első 6 kD-os fehérje                                  |
| 6K2       | második 6 kD-os fehérje                               |
| BLAST     | Basic Local Alignment Search Tool                     |
| bp        | bázispár                                              |
| cDNS      | complementer DNS                                      |
| CI        | henger alakú zárványfehérje                           |
| CP        | coat protein, köpenyfehérje                           |
| DNS       | deoxiribonukleinsav                                   |
| eIF4E     | eukarióta transzlációs iniciátor faktor 4E fehérje    |
| for       | forward, szenz                                        |
| GCLV      | <i>Garlic common latent virus</i>                     |
| GarMbFV   | <i>Garlic mite-borne filamentous virus</i>            |
| GarV-A    | <i>Garlic virus A</i>                                 |
| GarV-B    | <i>Garlic virus B</i>                                 |
| GarV-C    | <i>Garlic virus C</i>                                 |
| GarV-D    | <i>Garlic virus D</i>                                 |
| GarV-E    | <i>Garlic virus E</i>                                 |
| GarV-X    | <i>Garlic virus X</i>                                 |
| GLV       | <i>Garlic latent virus</i>                            |
| HC-Pro    | segítő fehérje és proteáz                             |
| ICTV      | International Committee on Taxonomy of Viruses        |
| kb        | kilobázis                                             |
| kDa       | kilodalton                                            |
| LYSV      | <i>Leek yellow stripe virus</i>                       |
| M         | marker                                                |
| mRNS      | hírvivő RNS (messenger RNS)                           |
| [n.a.]    | nincs adat                                            |
| NB        | nukleinsav kötő (Nucleic acid binding)                |
| NCBI      | National Center for Biotechnology Information         |
| Nla       | kis sejtmagi zárványfehérje                           |
| Nlb       | nagy sejtmagi zárványfehérje                          |
| nm        | nanométer                                             |
| ORF       | nyílt leolvasási keret ( <i>Open reading frame</i> )  |
| OYDV      | <i>Onion yellow dwarf virus</i>                       |
| P1-Pro    | első fehérje                                          |
| P3        | harmadik fehérje                                      |
| PCR       | polimeráz láncreakció                                 |
| rev       | reverz, antiszenz                                     |
| RNS       | ribonukleinsav                                        |
| RT        | reverz transzkripció                                  |
| RT-PCR    | reverz transzkripciós polimeráz láncreakció           |
| ShVX      | <i>Shallot virus X</i>                                |
| SLV       | <i>Shallot latent virus</i>                           |
| ssRNS     | single-stranded, egyszálú RNS                         |
| YSV       | <i>Shallot yellow stripe virus</i>                    |
| td-PCR    | touchdown PCR                                         |
| TGB       | három génblokk (triple gene block)                    |
| TRNS      | összRNS                                               |
| UTR       | nem transzlálódó régió ( <i>untranslated region</i> ) |
| VPg       | viral genome-linked protein                           |

| Rövidítés | Nukleitod(ok)                              |
|-----------|--------------------------------------------|
| A         | Adenin                                     |
| C         | Citozin                                    |
| G         | Guanin                                     |
| T         | Timin                                      |
| W         | Adenin vagy timin                          |
| S         | Citozin vagy guanin                        |
| R         | Adenin vagy guanin                         |
| Y         | Citozin vagy Timin                         |
| K         | Guanin vagy timin                          |
| M         | Adenin vagy citozin                        |
| N         | Adenin vagy citozin vagy guanin vagy timin |

# 1. BEVEZETÉS

A fokhagyma (*Allium sativum* L.) nemcsak gasztronómiai és gyógyászati felhasználása miatt kiemelkedő növény, hanem gazdasági jelentősége is meghatározó, hiszen termesztett zöldségnövényként a fokhagyma iránti piaci kereslet állandónak tekinthető, ugyanakkor a termesztést számos kihívás nehezíti. Az egyik legnagyobb problémát a vírusos betegségek jelentik, amelyek nemcsak a termésmennyiséget csökkentik, hanem a növény beltartalmi értékeit is jelentősen rontják. A fokhagyma vegetatív úton történő szaporítása különösen fogékonyra teszi a növényt ezekre a fertőzésekre, emiatt a fokhagyma vírusos leromlása egy jól ismert jelenségnek tekinthető.

A fokhagymát fertőző vírusok közül a *Potyvirus*, *Carlavirus* és *Allexivirus* nemzetségekbe tartozó fajok kiemelten veszélyesek, mivel ezek okozzák a legnagyobb gazdasági károkat. E vírusok egyedi és kevert fertőzései gyakran a termés hozam jelentős csökkenéséhez vezetnek, amely különösen súlyos problémát jelent a magyar fokhagymatermesztésben is. Ennek ellenére a fokhagyma szaporítóanyag vizsgálat általában kizárólag a *Potyvirus* fajokra terjed ki.

Doktori kutatásom célja, hogy hozzájáruljak a fokhagymát fertőző vírusok jobb megértéséhez és az ellenük való hatékonyabb védekezéshez. Kutatásom során molekuláris diagnosztikai módszerekkel vizsgáltam a *Potyvirus*, *Carlavirus* és *Allexivirus* nemzetségek hazánkban előforduló fajait, különös tekintettel a kevert fertőzésekre, amelyek az eddigi eredmények szerint a legnagyobb terméskiesést okozzák. Kutatásom során nemcsak a vírusok jelenlétét, hanem a különböző izolátumok közötti rokonsági viszonyokat is kutattam. A vírus izolátumok közötti rokonsági viszonyok átfogóbb megértésére a szekvenciaadatok mélyebb megismerésén keresztül van mód. Ehhez saját fejlesztésű, szakirodalmi eredetű, de általunk optimalizált és szakirodalmi eredetű primerpárok felhasználására volt szükségünk. Fontos továbbá a vírusfajok gazdanövény viszonyainak vizsgálata, amely a betegség terjedésének egyik meghatározó tulajdonsága lehet.

Kutatásom nemcsak a hazai fokhagymatermesztés szempontjából lehet jelentős, hanem szélesebb nemzetközi kontextusban is. A fokhagymát érintő vírusos betegségek a globális piacokon könnyen terjednek az import-export csatornákon keresztül, így a helyi eredmények nemzetközi viszonylatban is hasznosak lehetnek.

Kutatásaimat a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Növényvédelmi Intézet, Budai Campus, Növénykórtani Tanszékén végeztem.

## 2. CÉLKITŰZÉSEK

Munkánk során az alábbi célokat fogalmaztuk meg:

- Fokhagymát fertőző vírusfajok azonosítása hazánkban.
- A fokhagymát fertőző *Allexivirus* nemzetségbe tartozó vírusfajok nemzetség- és fajspecifikus azonosítása saját tervezésű és szakirodalmi eredetű primerekkel.
- A fokhagymát fertőző legfontosabb *Carlavirus* nemzetségbe tartozó vírusfajok azonosítása saját tervezésű és szakirodalmi eredetű primerekkel.
- A fokhagymát fertőző *Potyvirus* nemzetségbe tartozó vírusfajok azonosítása saját tervezésű és szakirodalmi eredetű primerekkel.
- Az általunk azonosított, magyarországi LYSV izolátum szekvenciaadatainak meghatározása saját tervezésű és szakirodalmi eredetű, valamint szakirodalmi eredetű, de általunk módosított primerkészlettel.
- A komplex fertőzések előfordulásának vizsgálata, azok sajátosságainak értékelése.
- Az általunk azonosított, magyarországi LYSV izolátum átviteli tulajdonságainak tesztelése és értékelése.
- A vizsgált izolátumok nukleotid szekvenciaadatainak vizsgálata és a rokonsági viszonyok megállapítása.

### 3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

#### 3.1. A fokhagyma származása és morfológiája

A fokhagyma (*Allium sativum* L.) a zárvatermők törzsébe (*Magnoliophyta*) az egyszikűek osztályába (*Liliopsida*), a spárgavirágúak rendjébe (*Asparagales*) és az amarilliszfélék családjába (*Amaryllidaceae*) tartozó növényfaj. Közelebbi természetű rokonai a vöröshagyma (*Allium cepa* L.) és a póréhagyma (*Allium porrum* L.). Géncentruma a nyugat-kínai Tien-shan hegységtől Kazahsztánig és Kirgizisztánig terjed (PETROVSKA és CEKOVSKA, 2010). Életformája geofita, vagyis a telet a földalatti fiókhagymáival vészeli át (AYDIN *et al.*, 2015), a Raunkiaer-féle életforma osztályozási rendszer alapján „G” életformájú növény.

Az egyszikűekre általánosan jellemző párhuzamos erezetű levelekkel rendelkezik, az epidermiszt szürkés kutikula védi. Levélállása keresztben átellenes, levelei töállók, csúcsrüggyi eredetűek. Az allelvélhónalji rügyek raktározó szervvé és egyben vegetatív szaporítóképletté, fiókhagymává (*bulbus*) alakultak. A hagymafejen belül a fiókhagymák (gerezdek) elhelyezkedése és mérete fajtánként változó (BARNÓCZKI, 2004). A tönkből hajtás eredetű bojtos (homorhiz) gyökérzet fejlődik, amely a tápanyagfelvételt, valamint a növény talajhoz rögzítését szolgálja (ENGLONER, 2007).

A generatív szervek vizsgálata a változatok csoportosítására alkalmas. A virágzati szár képzése nemcsak termesztéstechnológiai módszerekkel szabályozható, hanem genetikailag kódolt tulajdonság is, bizonyos változatok virágzati szarát egyáltalán nem képeznek. Amennyiben a fokhagyma virágzati szarát képez, a rajta lévő virágok elkorcsosultak, sterilek. Helyükön sarjhagymák (*bulbillus*) találhatók, amelyek a fokhagyma vegetatív terjedéséért felelnek (SZALAY, 2004). A virágzati száron találhatók még a virágzati fellevelek, valamint maga a virágzat. A virágzatot hártás állományú murvalevél (szpáta) burkolja, melynek csúcsa a virágzaton túlnyúló (SIMON, 1994).

A fokhagyma jellegzetes, csípős ízét a benne található kénvegyületek, az alliszulfidok biztosítják. Illatanyagának felszabadulását enzimatis reakció okozza, amely kémiai átalakulás során a fokhagymában található allin, az allináz enzim hatására allicinné alakul (GHANI, 2010).

A termesztett fokhagymára jellemző sterilitásnak a kérdése máig megoldatlan probléma. A téma komoly szakirodalmi múlttal rendelkezik, az okok feltárásának története az 1970-es évekig nyúlik vissza (KOUL és GOHIL, 1970), de a közelmúltban is született szakirodalom a témába (SHEMESH-MAYER *et al.*, 2015). Kielégítő eredményt a közel ötvenéves múltba visszatekintő kutatás azonban mind a mai napig nem hozott (DHALL, 2015).

A virágok sterilitásának okairól a szakirodalom több lehetőséget vázol: ilyen a polleneket tápláló tapétum szövet degenerációja (NOVAK, 1972), a virág morfológiája, a szexuális reprodukcióra ható vírus, mikoplazma (fitoplazma) és/vagy rikettsia okozta degeneratív betegségek sora (KONVICKA, 1978), de elképzelhető, hogy az általunk ismert steril termesztett fokhagyma két fertilis ősz hibridjeként alakult ki (POOLER és SIMON, 1994). A fokhagyma géncentrumának számító Tien-shan hegységben magérlelésre képes fokhagymát is találtak, ám a csírázási ereje gyengének, mindössze 10-12%-nak bizonyult (KAMENETSKY *et al.*, 2002).

A jellemzően vegetatívan szaporított termesztett fokhagyma generatív szaporítása a mai napig megoldatlan, holott a fertilis magképzéséből számos előnyünk származna termesztési és gazdaságossági szempontból egyaránt; egyszerűsödne a szaporítóanyag szállíthatósága, továbbá a fokhagyma vírusos megbetegedéseivel szembeni küzdelemben is jelentős előrelépést hozhatna (DHALL, 2015).

A magyarországi termesztési gyakorlat tavaszi és őszi termesztést különít el, melynek technológiája és fajtaválasztási szempontjai is eltérnek, egymással föl nem cserélhetők (BUDAI *et al.*, 1999).

### **3.2. A magyar fokhagyma világpiaci helyzete**

A fokhagyma 2020-ban a világ 21. legnagyobb mennyiségben termelt növénye volt 28.054.318 tonna összmennyiséggel. A világ elsőszámú fokhagymatermesztője 2020-ban is Kína volt, amely 825.302 hektáron 20.712.087 tonna fokhagymát termelt - ez a világon megtermelt összes mennyiség 73,8%-a, a világ teljes fokhagyma termőterületének 50,5%-án. Európa és egyben az Európai Unió legjelentősebb fokhagymatermesztője Spanyolország a 2020-ban megtermelt, mintegy 269.090 tonna mennyiséggel. Magyarország 2020-ban a világ 56. legnagyobb fokhagymatermesztő országa volt, a FAOSTAT adatai szerint 5.210 tonna megtermelt fokhagyma mennyiséggel, mely eredményét 6,29 t/ha termés kihozatal mellett érte el. Ugyanezen év eredményét a KSH 5.216 tonnában határozza meg (KSH, 2020). Ez az eredmény messze elmarad a ~17,19 t/ha-os világátlagtól (FAOSTAT, 2020) és elmarad a Magyarországon szakirodalmi adatok alapján reálisan megvalósítható 12-16 t/ha mennyiségtől is (SZALAY, 2004).

A makói termőtáj bár a vöröshagyma miatt vált ismertté, a fokhagymatermesztés szempontjából is nagy jelentőségű. Említést érdemel még továbbá Bács-Kiskun vármegye, Győr-Moson-Sopron vármegye, Békés vármegye és Szabolcs-Szatmár-Bereg vármegye (LACZKÓ, 2003a), illetve Csongrád-Csanád vármegye, ahol a magyar fokhagyma-termesztőterületek 85%-a található (AGROFÓRUM, 2017). Habár a magyar hagymatermesztés nemzetgazdasági jelentőségét jól mutatja az, hogy 2013-ban Makói Hagyma néven a makói vöröshagymát

Hungaricum má nyilvánítták (HUNGARIKUM BIZOTTSÁG, 2013), Magyarország mégsem számít a térségen belül kimondottan nagy hagymatermesztőnek. A 2020-es eredmények alapján a térség elsőszámú fokhagymatermesztője Ukrajna 211.680 tonna megtermelt mennyiséggel, ezt követi Románia 27.590 tonnával, majd Lengyelország 13.500 tonnával (FAOSTAT, 2020).

A magyarországi fokhagymatermesztés elmúlt 10 évről elmondható, hogy stagnáló t/ha terménykihozatal mellett termelünk. Mindemellett folyamatos, jellemzően holland importra szorulunk. A Magyarországon termelt fokhagyma 2018-ban szeptembertől februárig volt csak képes ellátni a hazai igényeket. Emiatt a fokhagyma export nem is jellemző hazánkra, általában 600-800 tonnát exportálunk a szomszédos Romániába és Szerbiába (AGROFÓRUM, 2018; AGROINFORM, 2018), de más forrás szerint ez a szám mára alig haladhatja meg a 300 tonnát. Hodossi Sándor az Agrofórumban megjelent egyik cikkében a hazai fokhagymatermesztés lesújtó állapotát az öntözés hiányára, a nagy élőlomkaigényre, a raktározási költségekre és a megváltozott fogyasztási szokásokra vezeti vissza. Cikkében így fogalmaz: „Magyarországon a fokhagyma termesztése napjainkra kritikus helyzetbe került.” (HODOSSI, 2019).

A nemzeti fajtajegyzékben szereplő fajták közül az EU egész területén forgalmazható a 'Bugar', a 'Lelexir' és a 'Makói Őszi', a származási régió területén forgalmazható a 'Makói Tavaszi' és a 'Bátyai Őszi' (NÉBIH, 2018). A Magyarországon termesztett két legfontosabb fajta a 'Makói Őszi' és a 'Makói Tavaszi'. Előbbinél a robusztusabb megjelenés és a nagyobb fejméret, utóbbinál a kiemelkedő fűszerező érték említendő meg (LACZKÓ, 2003b).

### 3.3. A fokhagymavírusok kutatásának magyarországi és nemzetközi alakulása

A hagymaféléket jelen ismereteink szerint 10 víruscsalád 36 faja fertőzi (1. táblázat). Ezek közül 24 faj, változó jelentőséggel ugyan, de bizonyítottan fertőzi a fokhagymát is, 13 fajta szakirodalom veszélyesnek minősít, ugyanakkor ezen fajok nagy részének jelenlétét hazánkban eddig még nem dokumentálták.

A magyarországi hagymatermesztés eredményessége és a hagymát fertőző vírusok okozta veszély kapcsolatára először Szirmai János hívta fel a figyelmet 1958-ban (SZIRMAI, 1958). Az általa megnevezett hagyma sárgacsíkosságot, hagymamozaikot (*Marmor cepae* H.), illetve törpülő sárgaságot (*Yellow dwarf*) okozó vírus, az USA-beli Iowa államban, 1929-ben leírt (1. táblázat) **hagyma sárga törpesége és levélcsíkosága vírust** (*Onion yellow dwarf virus*, **OYDV**) jelöli (MELHUS *et al.*, 1929). Megjegyzendő ugyanakkor, hogy a megbetegedés okozta tünetek között a vírusos hagymák magasabb víztartalmának említésénél idézi Bremer 1937-es cikkét is, mely cikket azóta már a **póréhagyma sárga csíkosság vírus** (*Leek yellow stripe virus*, **LYSV**) első leírásaként (1. táblázat) tartunk számon (BREMER, 1937). A makói térséget sújtó vírusos leromlás

veszélyeire Szirmai már ekkor figyelmeztet, és a makói hagyma szelekciós rezisztencianemesítését sürgeti. Korábbi, 1956-os szemléik során fertőzött maghozó vöröshagyma táblákat vizsgáltak, ahol feltűnően egészséges példányokra is akadtak. Ezeket a példányokat robusztusabb, felfelé törő habitus jellemezte, leveleiken vastagabb, „kékes-hamvas” viaszréteggel. A fertőzött táblán tünetmentesnek tetsző növényeket Szirmai a rezisztencianemesítés céljaihoz alkalmas kiindulóanyagnak tartotta, noha azt nem tisztázta, hogy ezek a vírusos megbetegedésre rezisztens példányok voltak-e, toleránsok vagy a betegség a fertőzést követően csupán látenciában maradt (SZIRMAI, 1958).

1987-ben a „Hagymafélék termesztése” című, gyakorlati tanácsokat is tartalmazó szakkönyvben Tóbiás István, Szirmaihoz hasonlóan, elsősorban a vektorok elleni védekezésre és az egészséges szaporítóanyag fontosságára hívta fel a figyelmet (TÓBIÁS, 1987). Említést tett a LYSV víusról is, azonban ennek első bizonyított leírása hazánkban még nem történt meg.

1991-ben Regős Antal számolt be röviden a fokhagyma víruskutatás akkori állásáról a Magyar Mezőgazdaság című folyóiratban. Ebben kitért a komplex fertőzések jelentőségére, a vírusok okozta terménykiesésre, illetve a vírusmentesítés fontosságára is (REGŐS, 1991). Kutatási eredményeit részletesen 1992-ben tette közzé a Kertgazdaság folyóiratban. Az ELISA módszerrel végzett vizsgálatok eredményeképpen hazánkban először mutatta ki szerológiai módszerrel az **OYDV**-t, továbbá első hazai leírását adta közzé (2. táblázat) a **mogyoróhagyma rejtett vírusának** (*Shallot latent virus*, **SLV**) és a fokhagyma rejtett vírusának (*Garlic latent virus*, **GLV**) (REGŐS, 1992).

Valamivel később, a fokhagyma növényvédelmét részletező, Növényvédelem folyóiratban megjelent cikkükben a szerzők továbbra is a fenti három kórokozót emelik ki, mint hazánkban bizonyítottan fellelt és károsító vírusfajt (BUDAI *et al.*, 1999). Ugyanebben a számban tudósítanak a Távol-Keleten azonosított új, atkavektorral terjedő fokhagymavírusokról. A koreai kutatás eredményire hivatkozva ezeket a vírusokat ekkor még a *Rymovirus* nemzetségbe sorolták, köztük a fokhagyma atkák által terjesztett mozaik vírust (*Garlic mite-borne mosaic virus*, **GarMbMV**) is, amelyet ma az *Allexivirus* nemzetségbe tartozó **fokhagyma C vírus** (*Garlic virus C*, **GarV-C**) kórokozóként (2. táblázat) azonosítunk (KOO, 1999; NCBI, 2019a).

A kétezres években a fokhagyma víruskutatása visszaszorult hazánkban, noha a termesztés gazdaságossági és technológiai akadályai továbbra is a figyelem középpontjában maradtak. Elsősorban termesztéstechnológiai és fajtaválasztási kérdésekkel foglalkoztak az akkori szerzők (LACZKÓ, 2003a; LACZKÓ, 2003b; SOMOGYI, 2006).

2010-ben a Debreceni Egyetemen indult el újra a kutatás a fokhagyma vírusos megbetegedéseit vizsgálva. A témából készült MSc. diplomamunka Makó környéki vörös-, és fokhagymamintákat vizsgált. A kutatás célja az írisz sárga foltosság vírus (*Iris yellow spotted*

virus, IYSV) a **LYSV**, az **OYDV** és a **fokhagyma közösleges rejtett vírus** (*Garlic common latent virus*, **GCLV**) felderítése volt, a mintákat DAS-ELISA módszerrel vizsgálták. Eredményeikben csak a **GCLV** jelenlétét tudták megerősíteni (SZARVAS, 2010).

2011-ben a Nyugat-Magyarországi Egyetemen született a fokhagymatermesztéssel kapcsolatos doktori dolgozat, amely érintőlegesen a vírusos megbetegedések okozta termesztéstechnológiai kihívásokra is kitér, virológiai szempontból új eredményeket nem közöl (GOMBKÖTŐ, 2011).

A Szent István Egyetem Növénykórtani Tanszékén 2015-ben indultak meg a fokhagyma vírusfertőzöttségével kapcsolatos kutatások, ahol a nemzetközi szakirodalom által említett három legfontosabb nemzetség (*Potyvirus*, *Carlavirus*, *Allexivirus*) fokhagymára veszélyes vírusfajait vizsgáltuk, hazánkban először, nukleinsav alapú, molekuláris diagnosztikai módszerekkel.

1. táblázat: Az *Allium* nemzetséget fertőző vírusok rendszertani besorolása

| Család                   | Nemzetség              | Vírusfaj                                        | Hivatkozás                                                                                                          |
|--------------------------|------------------------|-------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Potyviridae</i>       | <i>Potyvirus</i>       | <i>Onion yellow dwarf virus</i>                 | (MELHUS <i>et al.</i> , 1929),                                                                                      |
|                          |                        | <i>Leek yellow stripe virus</i>                 | (BREMER, 1937)                                                                                                      |
|                          |                        | <i>Shallot yellow stripe virus</i>              | (VAN DIJK és SUTARYA, 1992;<br>VAN DER VLUGT <i>et al.</i> , 1999)                                                  |
|                          |                        | <i>Turnip mosaic virus</i>                      | (STEFANAC és PLESE, 1980; GERA<br><i>et al.</i> , 1997)                                                             |
|                          |                        | <i>Potato virus A</i>                           | (RONGCHANG, 1992)                                                                                                   |
|                          |                        | <i>Potato virus Y</i>                           | (RONGCHANG, 1992)                                                                                                   |
|                          |                        | <i>Alstroemeria mosaic virus</i>                | (WALKEY, 1990)                                                                                                      |
|                          |                        | <i>Hippeastrum mosaic virus</i>                 | (WALKEY, 1990)                                                                                                      |
|                          |                        | <i>Scallion mosaic virus</i>                    | (OHSHIMA <i>et al.</i> , 2016)                                                                                      |
| <i>Betaflexiviridae</i>  | <i>Macluravirus</i>    | <i>Narcissus latent virus</i>                   | (WALKEY, 1990)                                                                                                      |
|                          | <i>Carlavirus</i>      | <i>Garlic common latent virus</i>               | (DELÉCOLLE és LOT, 1981)                                                                                            |
|                          |                        | <i>Shallot latent virus</i>                     | (BOS <i>et al.</i> , 1978)                                                                                          |
|                          |                        | <i>Carnation latent virus</i>                   | (CONCI <i>et al.</i> , 1992; MAVRIC és<br>RAVNIKAR, 2005)                                                           |
| <i>Alphaflexiviridae</i> | <i>Allexivirus</i>     | <i>Garlic virus A</i>                           | (SUMI <i>et al.</i> , 1993; TSUNEYOSHI és<br>SUMI, 1996)                                                            |
|                          |                        | <i>Garlic virus B</i>                           | (SUMI <i>et al.</i> , 1993; TSUNEYOSHI és<br>SUMI, 1996)                                                            |
|                          |                        | <i>Garlic virus C</i>                           | (SUMI <i>et al.</i> , 1993; TSUNEYOSHI és<br>SUMI, 1996; YAMASHITA <i>et al.</i> ,<br>1996; NCBI, 2019a)            |
|                          |                        | <i>Garlic virus D</i>                           | (SUMI <i>et al.</i> , 1993; RYABOV <i>et al.</i> ,<br>1996; TSUNEYOSHI és SUMI, 1996;<br>SONG <i>et al.</i> , 1997) |
|                          |                        | <i>Garlic virus E</i>                           | (CHEN <i>et al.</i> , 2001a; CHEN és CHEN,<br>2002)                                                                 |
|                          |                        | <i>Garlic virus X</i>                           | (SONG <i>et al.</i> , 1997)                                                                                         |
|                          |                        | <i>Shallot virus X</i>                          | (KANYUKA <i>et al.</i> , 1992;<br>VISHNICHENKO <i>et al.</i> , 1993)                                                |
|                          |                        | <i>Garlic mite-borne filamentous virus</i>      | (VAN DIJK <i>et al.</i> , 1991; DOVAS <i>et al.</i> ,<br>2001b; MANSOURI <i>et al.</i> , 2021)                      |
|                          | <i>Potex</i>           | <i>Asparagus virus 3</i>                        | (WYLIE <i>et al.</i> , 2014)                                                                                        |
| <i>Peribunyaviridae</i>  | <i>Orthospovirus</i>   | <i>Iris yellow spot orthospovirus</i>           | (GERA <i>et al.</i> , 1998)                                                                                         |
|                          |                        | <i>Groundnut bud necrosis<br/>orthospovirus</i> | (SUJITHA <i>et al.</i> , 2012)                                                                                      |
|                          |                        | <i>Tomato spotted wilt orthospovirus</i>        | (TOMASSOLI <i>et al.</i> , 2009)                                                                                    |
|                          |                        |                                                 |                                                                                                                     |
| <i>Secoviridae</i>       | <i>Nepovirus</i>       | <i>Arabis mosaic virus</i>                      | (GRAICHEN, 1975; VAN DIJK,<br>1993a)                                                                                |
|                          |                        | <i>Tomato black ring virus</i>                  | (CALVERT és HARRISON, 1963;<br>GRAICHEN, 1975; VAN DIJK,<br>1993a)                                                  |
|                          |                        | <i>Artichoke yellow ringspot virus</i>          | (MALIOGKA <i>et al.</i> , 2006)                                                                                     |
| <i>Virgaviridae</i>      | <i>Tobravirus</i>      | <i>Tobacco rattle virus</i>                     | (VAN DIJK, 1993a)                                                                                                   |
|                          | <i>Tobamovirus</i>     | <i>Tobacco mosaic virus</i>                     | (VASILJEVA és MOZHAJEVA, 1978)                                                                                      |
| <i>Tombusviridae</i>     | <i>Betanecrovirus</i>  | <i>Leek white stripe virus</i>                  | (LOT <i>et al.</i> , 1996)                                                                                          |
|                          | <i>Alphanecrovirus</i> | <i>Tobacco necrosis virus A</i>                 | (VAN DIJK, 1993a)                                                                                                   |
| <i>Reoviridae</i>        | <i>Fijivirus</i>       | <i>Garlic dwarf virus</i>                       | (LOT <i>et al.</i> , 1994)                                                                                          |
| <i>Bromoviridae</i>      | <i>Cucumovirus</i>     | <i>Cucumber mosaic virus</i>                    | (ŠTEFANAC, 1980; ŠTEFANAC és<br>MILIČIĆ, 1992)                                                                      |
|                          | <i>Ilarvirus</i>       | <i>Tobacco streak virus</i>                     | (SIVAPRASAD <i>et al.</i> , 2010)                                                                                   |
| <i>Rhabdoviridae</i>     | <i>Cytorhabdovirus</i> | <i>Cytorhabdovirus lactucanecante</i>           | (SWARD, 1990)                                                                                                       |

Megjegyzés: a táblázat Diekmann (1997) és Katis (2012) nyomán készült, a fajnevek az International Committee on Taxonomy of Viruses weboldalán közölt aktuális nevezéktan szerint vannak aktualizálva. Rózsaszínnel kiemelve a jelen dolgozatban részletesebben tárgyalt fajok.

2. táblázat: Az *Allium* nemzetséget fertőző vírusok gazdanövényköre, elterjedése, hazai jelenléte és ismert jelentősége fokhagyma növényen

| Hagymaféléket fertőző vírusfaj                                                             | Gazdanövényköre (kultúr-, és gyomnövények)                                                                                                                                                                                                                                                                                   | Elterjedtsége                                                                                         | Hazai jelenléte                               | Jelentősége fokhagymán                                                 |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|
| <b><i>Onion yellow dwarf virus</i></b><br>A hagyma sárga törpesége és levélcsíkosága vírus | <i>Allium</i> sp.<br>(VAN DIJK, 1993b)                                                                                                                                                                                                                                                                                       | világszerte<br>(VAN DIJK, 1993b)                                                                      | jelen van<br>(SZIRMAI, 1958)                  | nagyon veszélyes kórokozó<br>(LOT <i>et al.</i> , 1998)                |
| <b><i>Leek yellow stripe virus</i></b><br>Póréhagyma sárga csíkosság vírus                 | <i>Allium</i> sp.<br>(LUNELLO <i>et al.</i> , 2002)                                                                                                                                                                                                                                                                          | világszerte<br>(VUČUROVIĆ <i>et al.</i> , 2017)                                                       | várható<br>(Szlovénia)<br>(EPPO, 2018)        | nagyon veszélyes kórokozó<br>(LOT <i>et al.</i> , 1998)                |
| <b><i>Shallot yellow stripe virus</i></b><br>Mogyoróhagyma sárga csíkossága vírus          | <i>Allium sativum</i><br>(CHEN <i>et al.</i> , 2002a)<br><br><i>Allium ascalonicum</i><br><i>Allium porrum</i><br>(HA <i>et al.</i> , 2008)                                                                                                                                                                                  | Ázsia<br>(CHEN <i>et al.</i> , 2002a;<br>HA <i>et al.</i> , 2008;<br>CHITTARATH <i>et al.</i> , 2017) | [n.a.]                                        | veszélyes kórokozó<br>(CHEN <i>et al.</i> , 2005)                      |
| <b><i>Scallion mosaic virus</i></b><br>Zöldhagyma mozaik vírus                             | <i>Allium macrostemon</i> ,<br><i>Allium chinense</i><br>(OHSHIMA <i>et al.</i> , 2016)                                                                                                                                                                                                                                      | Ázsia<br>(OHSHIMA <i>et al.</i> , 2016)                                                               | [n.a.]                                        | eddiggi eredmények alapján nem fertőzi<br>(CHEN <i>et al.</i> , 2002b) |
| <b><i>Turnip mosaic virus</i></b><br>Tarlórépa mozaik vírus                                | <i>Allium ampeloprasum</i><br>(GERA <i>et al.</i> , 1997)<br><br><i>Allium ampeloprasum</i> ,<br><i>Allium roseum</i><br>(DOVAS <i>et al.</i> , 2001b)<br><br><i>Vicia fabae</i> ,<br><i>Petunia hybrida</i> ,<br><i>Amaranthus caudatus</i> ,<br><i>Pisum sativum</i> ,<br><i>Phaseolus vulgaris</i><br>(PROCHÁZKOVÁ, 1980) | világszerte<br>(GREEN és DENG, 1985)                                                                  | jelen van<br>(SZATHMÁRY <i>et al.</i> , 2008) | kis jelentőségű<br>(DOVAS <i>et al.</i> , 2001b)                       |
| <b><i>Potato virus A</i></b><br>Burgonya A vírus                                           | <i>Allium</i> sp.<br><i>Solanum tuberosum</i><br>(THOMAS, 2004)                                                                                                                                                                                                                                                              | Európa, USA<br>(KEKARAINEN <i>et al.</i> , 1999)                                                      | [n.a.]                                        | kis jelentőségű<br>(KATIS <i>et al.</i> , 2012)                        |
| <b><i>Potato virus Y</i></b><br>Burgonya Y vírus                                           | <i>Allium sativum</i><br>(LAI <i>et al.</i> , 2011)<br><br><i>Solanum lycopersicum</i> ,<br><i>Solanum tuberosum</i><br>(NIE és MOLEN, 2015)<br><br><i>Capsicum frutescens</i><br>(MCDONALD és SINGH, 1996)<br><br>gyomnövények<br>(KALICIAK és SYLLER, 2009)                                                                | világszerte<br>(ELLIS <i>et al.</i> , 1997)                                                           | jelen van<br>(WOLF és HORVÁTH, 2000)          | kis jelentőségű<br>(KATIS <i>et al.</i> , 2012)                        |
| <b><i>Alstroemeria mosaic virus</i></b><br>Inkaliliom mozaik vírus                         | <i>Allium</i> sp.<br>(KATIS <i>et al.</i> , 2012)<br><br><i>Alstroemeria</i> sp.<br>(PEARSON <i>et al.</i> , 2009)                                                                                                                                                                                                           | világszerte<br>(VANZAAYEN <i>et al.</i> , 1994; WANG és CHANG, 2006; PEARSON <i>et al.</i> , 2009)    | [n.a.]                                        | kis jelentőségű<br>(KATIS <i>et al.</i> , 2012)                        |

|                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                         |                                                            |                                                                               |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|
| <b><i>Hippeastrum mosaic virus</i></b><br><b>Amarillisz mozaik vírus</b>                  | <i>Allium sp.</i><br>(WALKEY, 1990)<br><br><i>Hippeastrum sp.</i><br>(ALEXANDRE <i>et al.</i> , 2011)                                                                                                                 | világszerte<br>(BAKARDJIEVA és<br>DENKOVA, 1996;<br>PEARSON <i>et al.</i> , 2009;<br>ALEXANDRE <i>et al.</i> ,<br>2011; MALANDRAKI<br><i>et al.</i> , 2016; XU <i>et al.</i> ,<br>2017) | [n.a.]                                                     | kis jelentőségű<br>(KATIS <i>et al.</i> , 2012)                               |
| <b><i>Narcissus latent virus</i></b><br><b>Nárcisz rejtett vírus</b>                      | <i>Allium sativum</i><br>(WALKEY, 1990)<br><br><i>Narcissus sp.</i><br>(GAO <i>et al.</i> , 2018)<br><br><i>Iris sp.</i><br>(BRUNT, 1977)                                                                             | világszerte<br>(WEI <i>et al.</i> , 2007;<br>BERNIAK <i>et al.</i> , 2013;<br>GAO <i>et al.</i> , 2018)                                                                                 | várható<br>(AM 30/2018.<br>(X. 11.), 2018)                 | [n.a.]                                                                        |
| <b><i>Garlic common latent virus</i></b><br><b>Fokhagyma közönséges<br/>rejtett vírus</b> | <i>Allium sp.</i><br>(WARD <i>et al.</i> , 2009)                                                                                                                                                                      | világszerte<br>(DOVAS és VOVLAS,<br>2003; PAPPU <i>et al.</i> ,<br>2005; HAMED <i>et al.</i> ,<br>2013; KADWATI és<br>HIDAYAT, 2015)                                                    | jelen van<br>(REGŐS, 1992;<br>SZÁRVAS,<br>2010)            | veszélyes kórokozó<br>(KLUKACKOVA <i>et al.</i> , 2007)                       |
| <b><i>Shallot latent virus</i></b><br><b>Mogyoróhagyma látens<br/>vírus</b>               | <i>Allium sp.</i><br>(VAN DIJK, 1993a; KATIS<br><i>et al.</i> , 2012)                                                                                                                                                 | jellemzően Európa és<br>Ázsia<br>(DOVAS <i>et al.</i> , 2001b)                                                                                                                          | jelen van<br>(REGŐS, 1992)                                 | veszélyes kórokozó<br>(KLUKACKOVA <i>et al.</i> , 2007)                       |
| <b><i>Carnation latent virus</i></b><br><b>Szegfű látens vírus</b>                        | <i>Allium sativum</i><br>(MAVRIC és RAVNIKAR,<br>2005)<br><br><i>Dianthus barbatus</i><br>(HELGUERA <i>et al.</i> , 1997)                                                                                             | Európa<br>(MAVRIC és<br>RAVNIKAR, 2005)<br>Argentína<br>(CONCI <i>et al.</i> , 1992)                                                                                                    | várható<br>(Szlovénia)<br>(MAVRIC és<br>RAVNIKAR,<br>2005) | tisztázatlan,<br>valószínűleg nem<br>jelentős<br>(KATIS <i>et al.</i> , 2012) |
| <b><i>Garlic virus A</i></b><br><b>Fokhagyma A vírus</b>                                  | <i>Allium sp.</i><br>(YAMASHITA <i>et al.</i> , 1996;<br>WARD <i>et al.</i> , 2009; PARK<br><i>et al.</i> , 2011; MANSOURI <i>et al.</i> , 2021)                                                                      | világszerte<br>(KOO <i>et al.</i> , 2002;<br>CHODORSKA <i>et al.</i> ,<br>2014; MITUTI <i>et al.</i> ,<br>2015; MANSOURI és<br>RYŠÁNEK, 2021)                                           | várható<br>(Szlovénia)<br>(MAVRIC és<br>RAVNIKAR,<br>2005) | veszélyes kórokozók<br>(CONCI <i>et al.</i> , 2003)                           |
| <b><i>Garlic virus B</i></b><br><b>Fokhagyma B vírus</b>                                  | <i>Allium sp.</i><br>(WARD <i>et al.</i> , 2009;<br>BAMPI <i>et al.</i> , 2015;<br>PADUCH-CICHAL és<br>BEREDA, 2017;<br>MANSOURI <i>et al.</i> , 2021)                                                                |                                                                                                                                                                                         |                                                            |                                                                               |
| <b><i>Garlic virus C</i></b><br><b>Fokhagyma C vírus</b>                                  | <i>Allium sp.</i><br>(SHAHRAEEN <i>et al.</i> , 2008;<br>WARD <i>et al.</i> , 2009; BAMPI<br><i>et al.</i> , 2015; MANSOURI <i>et al.</i> , 2021)                                                                     |                                                                                                                                                                                         |                                                            |                                                                               |
| <b><i>Garlic virus D</i></b><br><b>Fokhagyma D vírus</b>                                  | <i>Allium sp.</i><br>(WARD <i>et al.</i> , 2009;<br>BAMPI <i>et al.</i> , 2015;<br>PADUCH-CICHAL és<br>BEREDA, 2017;<br>MANSOURI <i>et al.</i> , 2021)<br><br><i>Urginea maritima</i><br>(FIDAN <i>et al.</i> , 2012) |                                                                                                                                                                                         |                                                            |                                                                               |
| <b><i>Garlic virus E</i></b><br><b>Fokhagyma E vírus</b>                                  | <i>Allium sp.</i><br>(CHEN és CHEN, 2002;<br>BAMPI <i>et al.</i> , 2015;<br>MANSOURI <i>et al.</i> , 2021)                                                                                                            |                                                                                                                                                                                         |                                                            |                                                                               |
| <b><i>Garlic virus X</i></b><br><b>Fokhagyma X vírus</b>                                  | <i>Allium sp.</i><br>(SONG <i>et al.</i> , 1998;<br>MANSOURI <i>et al.</i> , 2021)                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                                         |                                                            |                                                                               |
| <b><i>Shallot virus X</i></b><br><b>Mogyoróhagyma X vírus</b>                             | <i>Allium sp.</i><br>(WARD <i>et al.</i> , 2009;<br>HAMED <i>et al.</i> , 2012b;<br>BAMPI <i>et al.</i> , 2015;<br>PADUCH-CICHAL és<br>BEREDA, 2017;<br>MANSOURI <i>et al.</i> , 2021)                                |                                                                                                                                                                                         |                                                            |                                                                               |

|                                                                                              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                                                                                                                                  |                                            |                                                           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|
|                                                                                              | <i>Beta vulgaris</i><br>(VISHNICHENKO és ZAVRIEV, 2001)                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                                                                                  |                                            |                                                           |
| <i>Garlic mite-borne filamentous virus</i><br>Fokhagyma atka által terjesztett fonalas vírus | <i>Allium sp.</i><br>(DOVAS <i>et al.</i> , 2001b;<br>MANSOURI <i>et al.</i> , 2021)                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                                  |                                            |                                                           |
| <i>Asparagus virus 3</i><br>Spárga 3 vírus                                                   | <i>Allium vineale</i><br>(WYLIE <i>et al.</i> , 2014)<br><i>Asparagus officinalis</i><br>(HASHIMOTO <i>et al.</i> , 2008)                                                                                                                                                                                                                              | Japán<br>(HASHIMOTO <i>et al.</i> , 2008)<br>Ausztrália<br>(WYLIE <i>et al.</i> , 2014)                                          | [n.a.]                                     | [n.a.]                                                    |
| <i>Iris yellow spot orthotospovirus</i><br>Írisz sárga foltosság vírus                       | <i>Allium sp.</i> ,<br><i>Amaranthus retroflexus</i> ,<br><i>Chenopodium album</i> ,<br><i>Kochia scoparia</i> ,<br><i>Lactuca serriola</i> ,<br><i>Tribulus terrestris</i> ,<br><i>Atriplex micrantha</i> ,<br><i>Setaria viridis</i> ,<br><i>Cichorium intybus</i> ,<br><i>Arctium minus</i> ,<br><i>Rumex crispus</i><br>(BAG <i>et al.</i> , 2015) | világszerte<br>(SMITH <i>et al.</i> , 2006)                                                                                      | várható<br>(Ausztria)<br>(EPPO, 2018)      | veszélyes kórokozó<br>(MUNOZ <i>et al.</i> , 2014)        |
| <i>Tomato spotted wilt orthotospovirus</i><br>Paradicsom foltos hervadás vírus               | <i>Allium sp.</i> ,<br><i>Solanum lycopersicum</i> ,<br><i>Capsicum annuum</i> ,<br><i>Chrysanthemum sp.</i> ,<br><i>Begonia elatior</i> ,<br><i>Nicotiana tabacum</i> ,<br><i>Arachis hypogaea</i><br>(SALAMON <i>et al.</i> , 2015)                                                                                                                  | világszerte<br>(SALAMON <i>et al.</i> , 2015; EPPO, 2018)                                                                        | jelen van<br>(JENSER <i>et al.</i> , 2009) | kis és lokális jelentőség<br>(KATIS <i>et al.</i> , 2012) |
| <i>Groundnut bud necrosis orthotospovirus</i><br>Földimogyoró rügynekrózis vírus             | <i>Allium cepa</i><br>(SUJITHA <i>et al.</i> , 2012)<br><i>Solanum lycopersicum</i> ,<br><i>Arachis sp.</i><br>(DAIMEI <i>et al.</i> , 2017)<br><i>Phaseolus vulgaris</i> , <i>Vigna radiata</i><br>(AKRAM <i>et al.</i> , 2012)                                                                                                                       | India<br>(AKRAM <i>et al.</i> , 2012)<br>Irán<br>(GOLNARAGHI <i>et al.</i> , 2002)<br>Banglades<br>(AKHTER <i>et al.</i> , 2012) | [n.a.]                                     | [n.a.]                                                    |
| <i>Arabidopsis mosaic virus</i><br>Íkravirág mozaik vírus                                    | <i>Allium ascalonicum</i><br>(VAN DIJK, 1993a)<br><i>Vitis vinifera</i><br>(MARTELLI, 1968)<br>Számos kertészeti kultúra<br>(VALKONEN, 2014)                                                                                                                                                                                                           | világszerte<br>(EPPO, 2018)                                                                                                      | jelen van<br>(MARTELLI, 1968)              | [n.a.]                                                    |
| <i>Tomato black ring virus</i><br>Paradicsom fekete gyűrűsfoltosság vírus                    | <i>Allium ascalonicum</i><br>(VAN DIJK, 1993a)<br><i>Allium cepa</i> ,<br><i>Allium porrum</i><br>(CALVERT és HARRISON, 1963; GRAICHEN, 1975)<br><i>Cucumis sativus</i> ,<br><i>Solanum tuberosum</i> ,<br><i>Solanum lycopersicum</i><br>(JONCZYK <i>et al.</i> , 2004)                                                                               | világszerte<br>(EPPO, 2018)                                                                                                      | jelen van<br>(LEHOCZKY, 1986)              | [n.a.]                                                    |
| <i>Artichoke yellow ringspot virus</i><br>Articsóka sárga gyűrűsfoltosság vírus              | <i>Allium sp.</i> ,<br><i>Cynara cardunculus var. scolymus</i> ,<br><i>Vicia faba</i> ,<br><i>Cynara cardunculus</i> ,<br><i>Cucumis sativus</i> ,<br><i>Phaseolus vulgaris</i> ,<br><i>Nicotiana tabacum</i><br>(KATIS <i>et al.</i> , 2012)                                                                                                          | Görögország<br>(MALIOGKA <i>et al.</i> , 2006)<br>Törökország<br>(PAYLAN <i>et al.</i> , 2013)                                   | [n.a.]                                     | kis- és helyi jelentőségű<br>(KATIS <i>et al.</i> , 2012) |

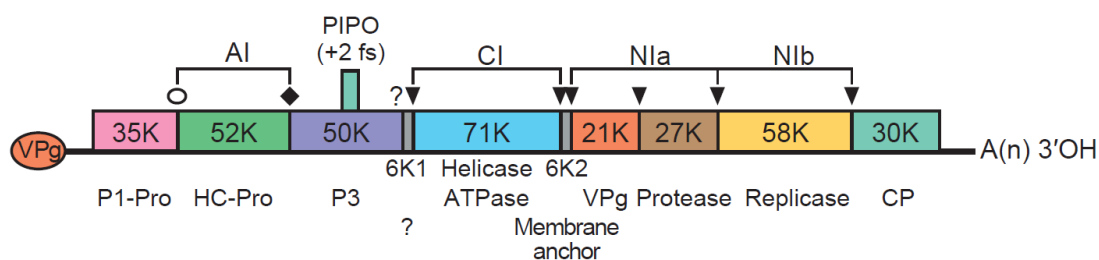
|                                                                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                                                                                                           |                                                                                   |                                                              |
|-------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|
| <b>Tobacco rattle virus</b><br><b>Dohány zörgőlevelűség vírus</b>             | <i>Allium vineale</i><br>(VAN DIJK, 1993a)<br><br><i>Allium cepa</i><br>(HAMED <i>et al.</i> , 2012a)<br><br><i>Allium ursinum</i> ,<br><i>Allium moly</i><br>(DIEKMANN, 1997)<br><br><i>Solanum tuberosum</i> ,<br><i>Solanum nigrum</i> ,<br><i>Brassica campestris</i> ,<br><i>Erodium cicutarium</i> ,<br><i>Solanum nigrum</i><br>(DAVIS és ALLEN, 1975) | világszerte<br>(CARDIN <i>et al.</i> , 2008;<br>WARD <i>et al.</i> , 2009;<br>LOCKHART és<br>MASON, 2010; ZHU <i>et al.</i> , 2018)       | jelen van<br>(JENSER és<br>SELJAHUDIN,<br>1978; AM<br>30/2018. (X.<br>11.), 2018) | [n.a.]                                                       |
| <b>Leek white stripe virus</b><br><b>Póréhagyma fehér csíkoltság vírus</b>    | <i>Allium porrum</i> ,<br><i>Chenopodium murale</i> ,<br><i>Chenopodium quinoa</i> ,<br><i>Vigna unguiculata</i><br>(LOT <i>et al.</i> , 1996)                                                                                                                                                                                                                | Franciaország<br>(LOT <i>et al.</i> , 1996)                                                                                               | [n.a.]                                                                            | kis- és helyi<br>jelentőségű<br>(KATIS <i>et al.</i> , 2012) |
| <b>Tobacco necrosis virus A</b><br><b>Dohány nekrozis vírus</b>               | <i>Allium ascalonicum</i><br>(VAN DIJK, 1993a)<br><br><i>Populus tremuloides</i><br>(HIBBEN <i>et al.</i> , 1979)<br><br><i>Beta vulgaris ssp. vulgaris</i><br><i>var. altissima</i><br>(SUBIKOVA, 1998)<br><br><i>Prunus domestica</i><br>(PAULECHOVA és<br>BAUMGARTNEROVA,<br>1980)<br><br><i>Glycine max</i><br>(XI <i>et al.</i> , 2008)                  | világszerte<br>(KEMP és BARR, 1978;<br>RAMACHANDRAIAH<br><i>et al.</i> , 1979; XI <i>et al.</i> ,<br>2008; BOBEV <i>et al.</i> ,<br>2018) | jelen van<br>(POGÁNY <i>et al.</i> , 2004;<br>KRIZBAI <i>et al.</i> ,<br>2010)    | [n.a.]                                                       |
| <b>Garlic dwarf virus</b><br><b>Fokhagyma törpülés vírus</b>                  | <i>Allium sativum</i><br>(LOT <i>et al.</i> , 1994)                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | Dél-Franciaország<br>(LOT <i>et al.</i> , 1994)                                                                                           | [n.a.]                                                                            | helyi jelentőségű<br>(KATIS <i>et al.</i> , 2012)            |
| <b>Cucumber mosaic virus</b><br><b>Uborka mozaik vírus</b>                    | Szélsőségesen polifág, több<br>mint 1200 gazdanövény,<br>számos kultúr- és<br>gyomnövény!<br>(SALÁNKI, 2012)                                                                                                                                                                                                                                                  | világszerte                                                                                                                               | jelen van<br>(SZIRMAI,<br>1941)                                                   | kis jelentőségű<br>(KATIS <i>et al.</i> , 2012)              |
| <b>Tobacco streak virus</b><br><b>Dohány csíkosság vírus</b>                  | <i>Phaseolus vulgaris</i> cv. 'Red<br>Kidney',<br><i>Lactuca sativa</i><br>(ABTAHI és HABIBI, 2008)<br><br>gyomnövények<br>(RAO <i>et al.</i> , 2003)                                                                                                                                                                                                         | világszerte<br>(EPPO, 2018)                                                                                                               | [n.a.]                                                                            | [n.a.]                                                       |
| <b>Cytorhabdovirus lactucae</b><br><b>A saláta nekrotikus sárgasága vírus</b> | <i>Allium sativum</i><br>(SWARD, 1990)<br><br><i>Cicer arietinum</i><br>(BEHNCKEN, 1983)<br><br><i>Lactuca sativa</i><br>(STUBBS és GROGAN,<br>1963)                                                                                                                                                                                                          | Olaszország<br>(BEHNCKEN, 1983)<br>Ausztrália<br>(STUBBS és GROGAN,<br>1963; SWARD, 1990)                                                 | [n.a.]                                                                            | kis jelentőségű<br>(SWARD, 1990)                             |

Megjegyzés: a táblázat Diekmann (1997), Katis (2012) és Mansouri (2021) nyomán készült, a fajnevek az International Committee on Taxonomy of Viruses weboldalán közölt aktuális nevezéktan szerint aktualizálva. Rózsaszínnel kiemelve a jelen dolgozatban részletesebben tárgyalt fajok

### 3.4. A *Potyvirus* nemzetség, és fokhagymát fertőző fajai

A potyvírusok a *Ribovirina* rend, *Potyviridae* családjának *Potyvirus* nemzetségébe tartozó vírusfajok. Típusfaja a burgonya Y vírus (*Potato virus Y*). A virion hajlékony, fonál alakú, hossza 680-900 nanométer (nm), átmérője 11-13 nm. A pozitív értelmű, egyszálú ribonukleinsav (+ssRNS) genom kb. 9700 bázispár (bp) hosszú, amely a virion tömegének kb. 5%-át teszi ki. A *Potyvirus* nemzetség a legnagyobb és legfontosabb növénypatogén vírusnemzetség. Jellemzően afidofil, stylet-borne vírusok, de szövetnedvvel, mechanikai úton és vegetatív szaporítással is átvihetők. A potyvírusok osztatlan genomja egyetlen nagy nyílt leolvasási kerettel (*open reading frame*, ORF) rendelkezik (1. ábra), amely egy közel 3000 aminosavból álló poliprotein prekursor kódol. Ez a transzláció során funkcionális fehérjékre tagolódik a vírus által kódolt proteázok segítségével. A potyvírusok ezen az úton 11 különböző génterméket állítanak elő (REVERS és GARCÍA, 2015).

#### Tobacco etch virus, TEV (9,496 nts)



1. ábra: Potyvírusok genomszerveződése a dohány karcolatos vírus példáján (KING et al., 2011)

A genomhoz kapcsolt vírus protein (*viral genome-linked protein*, VPg) egy, a vírusgenom 5'-végéhez kapcsolódó fehérje. Feladata az eukarióták hírvivő RNS-ére (*messenger RNS*, mRNS) jellemző *cap* struktúra helyettesítése, ezzel a vírus fertőzőképességéért felel. A kis sejtmagi zárványfehérje (*nuclear inclusion „a” protein*, NIa) N-terminális végéről válik le és nélkülözhetetlen szerepet játszik a vírus transzlációjában (CHARRON et al., 2008). Az eukarióta transzlációs iniciátor faktor 4E fehérje (eIF4E) és annak aminosav-szubsztitúciói recesszív rezisztenciát képesek okozni a potyvírus fajokkal szemben, a potenciális gazdanövények széles körében. A VPg fehérje képes ezzel a fehérjével fizikai kölcsönhatásba lépni, együtt pedig az eukarióta mRNS-ek 5'-végéhez hasonló struktúrát felvéve a riboszómák 40S alegységéhez csatlakozni úgy, hogy az így kialakult komplexet a riboszóma előnyben részesítse a gazdanövény saját mRNS-eivel szemben. Amennyiben ez a kölcsönhatás nem történik meg valamelyik fehérje mutációjának következtében, úgy a vírus elleni rezisztencia továbbra is fenn áll, ezért ez a kapcsolat kritikus a vírus életciklusának szempontjából (GRZELA et al., 2006).

Az első fehérje (*first protein/protease*, P1-Pro) egy 35 kDa tömegű szerin proteáz enzim, mely egy tripszin-szerin dipeptid kapcsolatnál katalizál autoproteolitikus hasítást a saját C-terminális vége és a segítő fehérje és proteáz (*helper component protease*, HC-Pro) között. A fehérjének nincs létfontosságú szerepe a vírus működésében, viszont a P1-Pro és a HC-Pro között elhelyezkedő egyedi hasítóhely fontos szerepet tölt be. A P1-Pro fehérje a potyvírus géntermékek között a legkevésbé konzervált, a fehérje N-terminális régiója hosszában és aminosav sorrendjében hipervariábilis. Ezen túl még nem specifikus RNS-kötő aktivitást is mutat (VERCHOT és CARRINGTON, 1995). Fenti jellemzői mellett stimulálja még a vírusgenom amplifikációját és a vírusfehérjék transzlációját is (MOHAMMED *et al.*, 2013).

A HC-Pro egy kb. 52 kDa tömegű, multifunkcionális fehérje, mely funkciókért három fehérje domén felel, amelyek a fehérjék funkcionálisan és strukturálisan jól elkülöníthető alegységei. Ezek közül a fehérje autoproteolitikus hasításáért a C-terminális végen található domén felel, amely egy glicin-glicin kapcsolatnál hasít a HC-Pro és a harmadik fehérje (*third protein*, P3) között (KASSCHAU *et al.*, 1997). A fehérje nevét a vírus terjedésében betöltött szerepe után kapta, mint a levéltetűvel történő terjedést segítő géntermék (*Helper Component*). Ezért a funkcióért az N-terminális végen található domén erősen konzervált KITC aminosav motívuma felel (BLANC *et al.*, 1998), segítségével a víruspartikulumok képesek a levéltetvek szájszervén nem perzisztens módon megtapadni (REVERS és GARCÍA, 2015). Az egyéb funkciókért vélhetően a centrális elhelyezkedésű, harmadik domén felel. Ennek szerepe lehet még a vírus replikációjában, a tünetek kialakításában, a poszttranszkripció gátlásában, a növényi védekezőrendszer működését (MAIA *et al.*, 1996), valamint szerepe van a vírus sejtről sejtre történő mozgásában is (KASSCHAU *et al.*, 1997).

A P3 egy 50 kDa tömegű fehérje, mely az eddig legkevésbé kutatott potyvírus fehérjék közé tartozik, pontos biokémiai funkciója eddig ismeretlen. Tudjuk, hogy kölcsönhatásba lép a henger alakú zárványfehérjével (*cylindrical inclusion protein*, CI) az NIa-val és a nagy sejtmagi zárványfehérjével (*nuclear inclusion „b” protein*, NIb) továbbá, hogy szerepet játszik a replikációs folyamatokban, illetve vélhetőleg a patogenitásban és a tünetek kialakulásában is. RNS kötő tulajdonsággal nem rendelkezik (REVERS és GARCÍA, 2015). Újabb kutatások szerint a P3 fehérje az endoplazmatikus retikulum membránjait veszi célba, amelyért a C-terminális végén található hidrofób régió felel. Itt a Golgi-apparátussal összeköttetésben alkot pontszerű zárványtesteket. Ezek a zárványtestek képesek az aktin szálakon közlekedni (CUI *et al.*, 2010).

A potyvírusokra jellemző nagy nyílt leolvasási keretből egy nagy poliprotein képződik, így a géntermékek minden esetben 1:1 arányban keletkeznek. A P3 fehérjét kódoló részen azonban létrejöhet egy transzlációs csúszás, ahol a leolvasási keret +1 irányú eltolódása által egy további

géntermék is keletkezhet. Ez a PIPO (*pretty interesting potyviridae* ORF), mely P3N-PIPO fehérje formájában a vírusok mozgásáért felelős (CHUNG *et al.*, 2008).

Az első 6 kD-os fehérje (*first 6K protein*, 6K1) és a második 6 kD-os fehérje (*second 6K protein*, 6K2) a legkisebb potyvírusok által kifejezett fehérjék, melyek a replikációs komplex kialakításában vesznek részt. A 6K1 fehérjéről kimutatták, hogy a fertőződés korai stádiumában játszik fontosabb szerepet a replikációs komplex kialakításában (CUI és WANG, 2016), szerepük lehet továbbá a tünetek kialakításában (RESTREPO-HARTWIG és CARRINGTON, 1994). A *Tobacco etch virus* vizsgálata során a 6K2 fehérjéről bebizonyították, hogy az eukarióta sejtek fehérjeszintéziséért felelős sejtservecskéje, az endoplazmatikus retikulum membránjához kötött (RESTREPO-HARTWIG és CARRINGTON, 1994).

A CI fehérje a potyvírusokra jellemző szélkerék alakú zárványok kialakulásáért felel. A HC-Pro fehérjéhez hasonlóan ez is egy multifunkcionális fehérje, ATPáz és RNS helikáz aktivitással is rendelkezik, mely tulajdonságok az RNS replikációhoz szükséges keretfeltételeket biztosítják (FERNÁNDEZ *et al.*, 1997), illetve szerepe van a víruspartikulumok rövid távú, plazmodezmákon keresztül történő mozgásában (CHEN *et al.*, 2002b). Megállapították, hogy a CI fehérjék jellemzően a plazmodezmákhoz közel helyezkednek el, a vírus köpenyfehérjéje (*coat protein*, CP) pedig képes ezekhez hozzákapcsolódni. A CI fehérje ezzel segíti a vírus plazmodezmákon keresztül történő átjutását (GABRENAITE-VERKHOVSKAYA *et al.*, 2008). Azt is megállapították, hogy a CI fehérje jelenlétében a plazmodezmák kallóztartalma csökken, ugyanakkor a CI fehérjéket a plazmodezmákon belül nem mutatták ki (ROBERTS *et al.*, 1998).

Az NIa és az NIb a potyvírusok nukleáris zárványfehérjéi. Az NIa fehérje két doménra osztható. Az N-terminális domén a már tárgyalt 21 kDa tömegű VPg fehérje, a másik pedig egy 27 kDa tömegű proteínáz enzim. Ez a proteáz végzi a poliprotein funkcionális fehérjékre történő feldarabolását azokban az esetekben, amikor az nem autoproteolízis útján történik meg (MARTINEZ *et al.*, 2016). Az NIb fehérje a nagyobbik nukleáris zárványfehérje, a citoplazmában betöltött funkciója szerint RNS-függő RNS-polimeráz (RESTREPO *et al.*, 1990), ezen felül szerepet játszik a különböző vírus-gazda kölcsönhatásokban is (SHEN *et al.*, 2020).

A CP három domént tartalmaz, amelyből az egyik az erősen konzervált központi (*core*) régió. Ennek feladata a virion felépítése, az RNS genom becsomagolása, enkapszidációja. A potyvírus viriont nagyjából 2000 CP alegység és az RNS genom alkotja (URCUQUI-INCHIMA, 2001). A fehérje N és C-terminális végein elhelyezkedő domének változékonnyabbak, mint a központi régió. Az N-terminális régió a levéltetűvel történő átvitelben játszik komoly szerepet, az itt található aszparaginsav-alanin-glicin (DAG) aminosav szekvencián végbement mutáció a levéltetűvel való terjedés képességének elvesztését okozhatja (ATREYA *et al.*, 1990). A

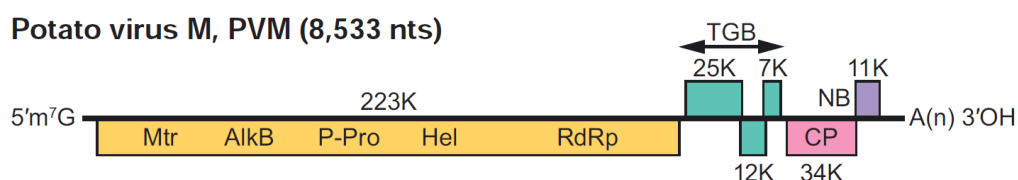
potyvírusok fajszintű határozása rendszerint a CP-t kódoló régió alapján történik, elsőként ausztrál kutatók javaslatára (SHUKLA és WARD, 1989).

A fokhagymáról napjainkig három potyvírus fajt írtak le, amelyek az **OYDV** (MELHUS *et al.*, 1929; HENDERSON, 1935), a **LYSV** (BREMER, 1937), és a **mogyoróhagyma sárga csíkossága vírus** (*Shallot yellow stripe virus*, **SYSV**) (1.-2. táblázat). Korábbi irodalmi források ennél több fajt is említene. A fentiek mellett a szakirodalomban létezett még a Japánban leírt *Garlic mosaic virus* (LEE *et al.*, 1979; ABIKO *et al.*, 1980), az észak-amerikai *Garlic yellow stripe virus* (DE CARVALHO, 1980), az új-zélandi *Garlic yellow streak virus* (MOHAMED és YOUNG, 1981) és a japán *Welsh onion yellow stripe virus* is (SAKO *et al.*, 1991). A *Garlic mosaic virus* egyik japán izolátumát (ABIKO *et al.*, 1980) később a szakirodalomban **OYDV-G**, azaz a vöröshagyma sárga törpülés vírusának fokhagymát fertőző törzseként határozták meg (VAN DIJK, 1993b) Más hivatkozás a **LYSV** szinonimájaként említi a korábbi *Garlic mosaic virus* faj megnevezést (NCBI, 2019b).

A másik japán *Garlic mosaic virus* izolátum (LEE *et al.*, 1979) a ma allexivírusokként, akkor „atkával terjedő vírusok” gyűjtőnévvel illetett csoportba került (VAN DIJK, 1993a). A *Welsh onion yellow stripe virus* fajról 1999-ben holland kutatók bebizonyították, hogy valójában nem önálló faj, hanem az **SYSV** vírusfaj egy törzse (VAN DER VLUGT *et al.*, 1999). A *Garlic yellow stripe virus* esetében arra született bizonyíték, hogy nem egy vírusfaj, hanem valójában egy vírusrkomplex (VAN DIJK, 1993b; FAJARDO *et al.*, 2001). A *Garlic yellow streak virus* fajt a **LYSV** fajhoz sorolták át (WEI *et al.*, 2006).

### 3.5. A *Carlavirus* nemzetség, és fokhagymát fertőző fajai

A carlavírusok a *Tymovirales* rend, *Betaflexiviridae* családjának *Carlavirus* nemzetségébe tartoznak. A virion kevésbé hajlékony, fonál alakú, kb. 610-700 nm hosszú és 12-15 nm átmérőjű. A virionban található vírusgenom kb. 8500 bp hosszúságú +ssRNS, amely 6 nyílt leolvasási kerettel rendelkezik (2. ábra) (KING *et al.*, 2011).



2. ábra: A carlavírusok genomszerveződése a burgonya M vírus példáján (KING *et al.*, 2011)

A carlavírusok 5'- és 3'-végükön rövid, nem transzlálódó régióval (*untranslated region*, UTR) rendelkeznek, amelyeknek többek között a riboszómához történő kötődésben és a

transzláció elindításában van nagy szerepük (JACKSON, 1993). Az ORF1 által kódolt polipeptid a vírus replikáz enzime, amely metiltranszferáz, papain-szerű proteáz, helikáz és RNS-függő RNS-polimeráz doméneket tartalmaz.

Mérete a burgonya M vírus (*Potato virus M*) példafaj esetében 223 kDa tömegű. Az ORF2, 3 és 4 kódolják a három génblokk (*triple gene block*, TGB) fehérjét, amelyek a vírus mozgásáért felelősek. Méretük 25, 12 és 7 kDa.

Az ORF5 régió kódolja a 34 kDa tömegű CP-t. Az ORF6 régió egy ciszteinben gazdag nukleinsav kötő (*nuclein acid binding*, NB), 11-16 kDa tömegű fehérjét kódol, melynek funkciója korábban ismeretlen volt, de valószínűsítették, hogy a vírus levéltetű vektorokkal történő terjedésében, a géncsendesítésben, vagy a genomi RNS replikációjában van szerepe (KING *et al.*, 2011). Orosz kutatók a krizantém B vírus (*Chrysanthemum virus B*) vizsgálata során megállapították azonban, hogy az itt képződő p12, vagy cink-ujj (*zinc-finger*) fehérje a sejtmagba transzlokálódik, majd a kromatinnal és növényi promóterekkel kapcsolatba lépve eukarióta transzkripció faktoraként viselkedik. Ezzel bizonyították, hogy egyes pozitív értelmű vírusok képesek a gazdaszervezet transzkripcióját eukarióta transzkripció faktorok útján szabályozni, és a gazdaszervezet sejtméretének, valamint a sejtek proliferációjának szabályozása útján a vírus számára kedvező környezetet teremteni (LUKHOVITSKAYA *et al.*, 2009; LUKHOVITSKAYA *et al.*, 2013a; LUKHOVITSKAYA *et al.*, 2013b). A genom poliadenilált véggel (*poly-A tail*) zárul.

A *Betaflexiviridae* családon belül a nemzetségek elkülönítése az eltérő genomi felépítésen és a vírus terjedésének eltérő módjain alapszik, de vizsgálják a nukleotid és az aminosav sorrendek azonosságát is, mely a nemzetségek között általában 45% alatti. A *Carlavirus* nemzetség fajait szintén a gazdanövénykör alapján különítik el továbbá, hogy a különböző fajok között nem alakulhat ki keresztvédettség. A CP-t és a polimerázt kódoló régióban a különböző fajok nukleotid sorrendjének az azonosság 72% alatti, aminosav szinten pedig 80% alatti azonosságot mutatnak (KING *et al.*, 2011).

A fokhagymát négy carlavírus faj fertőzi, melyek a **GCLV**, a **SLV** és a szegfű látens vírus (*Carnation latent virus*, CLV) (1.-2. táblázat). Utóbbi egyébként a nemzetség névadó faja is (KATIS *et al.*, 2012). A legfrissebb kutatási eredmények alapján egy negyedik vírusfaj létezésére is fény derülhet, melyet *Garlic yellow mosaic-associated virus* néven neveztek el és egy lehetséges *Betaflexiviridae* faj. Napjainkig sem a faj pontos besorolása, sem a létezésének hiteles bizonyítása nem történt meg (DA SILVA *et al.*, 2019).

Fenti vírusok között gazdasági jelentőséggel a **GCLV** és a **SLV** bír (KLUKACKOVA *et al.*, 2007). A carlavírusok jellemzője, hogy képesek mechanikai úton terjedni, illetve a legtöbb faj nem-perzisztens módon, levéltetűvektorokkal is terjedhet (KING *et al.*, 2011), azonban feltételezhetően kevésbé hatékonyan, mint a potyvírusok (FAYAD-ANDRE *et al.*, 2011). Egyes

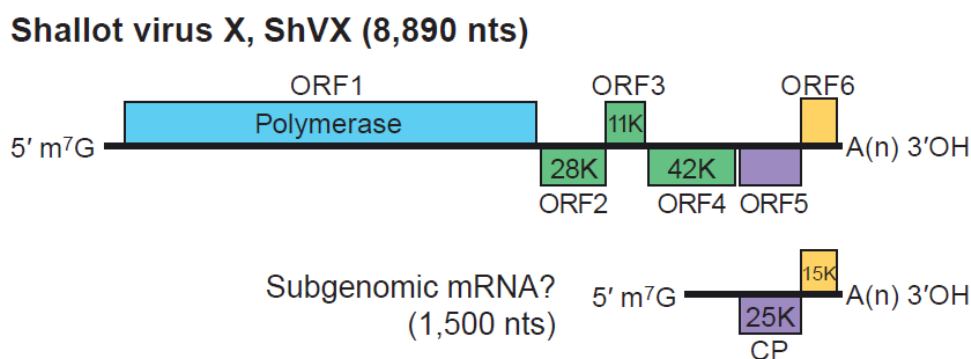
fajok képesek továbbá dohánymolytetű (*Bemisia tabaci*) vektorral is terjedni (BELAY *et al.*, 2012).

A GLV leírására először Japánban került sor (LEE *et al.*, 1979). Később francia kutatók is kimutatták (DELÉCOLLE és LOT, 1981), majd Németországban is leírták a fajt (GRAICHEN és LEISTNER, 1987), azonban ezek a japán izolátummal nem mutattak rokonságot. Kiderült, hogy a német és francia izolátumokat tévesen sorolták a GLV fajba, így azokat új fajba sorolták (VAN DIJK, 1993a) és megkapta a **GCLV** nevet, amely mai ismereteink szerint kb. 8600 bp hosszúságú (KUDELKOVA *et al.*, 2016), széleskörűen elterjedt (2. táblázat), de jellemzően csak *Allium* fajokat fertőző vírusfaj (WARD *et al.*, 2009). Első leírásaként a szakirodalom a francia publikációt említi (VAN DIJK, 1993a; KATIS *et al.*, 2012), továbbá a két fajból csak utóbbi szerepel az ICTV adatbázisában is. Ennek az az oka, hogy az eredeti japán GLV izolátumot a közeli szerológiai rokonság alapján később a holland kutatók által leírt **SLV** faj (BOS *et al.*, 1978) fokhagymát fertőző, **SLV-G** törzseként azonosították (VAN DIJK, 1993b; VAN DIJK, 1993a; KATIS *et al.*, 2012). Végül, ahogy a nukleotid szekvenciaadatok is elérhetővé váltak a kutatók számára, megállapították, hogy a GLV és a **SLV** egy és ugyanazon vírusfaj (TSUNEYOSHI *et al.*, 1998), ennek ellenére egyes kutatók még mindig használják a GLV elnevezést is (SONG *et al.*, 2002). A mai ismereteink szerint az **SLV** kb. 8300 bp hosszú, jellemzően Ázsiában és Európában megtalálható (2. táblázat) vírusfaj, amely a **GCLV** fajhoz hasonlóan leginkább az *Allium* fajokat fertőzi (1. táblázat).

Magyarországon 1992-ben Regős írta le először az **SLV** és a GLV fajt (REGŐS, 1992). Ez a leírás egy évvel megelőzi a Van Dijk-féle 1993-as névváltoztatási javaslatot, melyben a *Garlic latent virus* fajnév kivezetését javasolta és az addig a fajba tartozó izolátumokat az **SLV-G**, valamint a **GCLV** fajokba sorolták át (VAN DIJK, 1993b; VAN DIJK, 1993a). A Regős által azonosított GLV átsorolásáról nem áll rendelkezésre ismételt vizsgálat és szakirodalmi forrás, így az akkor leírt GLV izolátumról nem tudhatjuk, hogy az akkori új nomenklatura szerinti **SLV-G**, későbbi **SLV** fajba vagy a **GCLV** fajba tartozhat-e. Emiatt nem tekinthető egyértelműen a **GCLV** első magyarországi említésének, ugyanakkor a térbeli és időbeli átfedések miatt valószínűsíthető, hogy az francia és a német mintához hasonlóan **GCLV** vírusfaj első magyarországi azonosításáról lehetett szó.

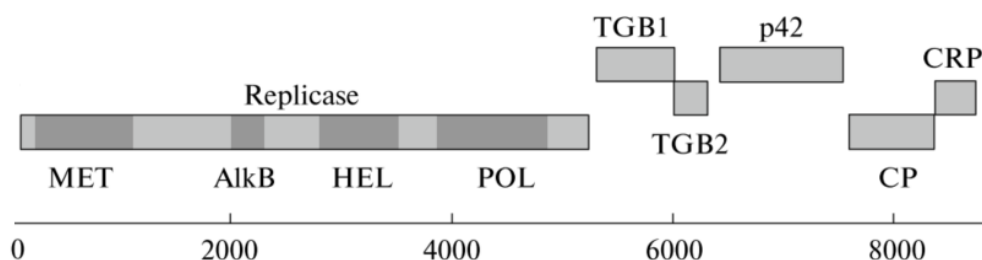
### 3.6. Az *Allexivirus* nemzetség, és fohagymát fertőző fajai

Az allexivírusok a *Tymovirales* rend, *Alphaflexiviridae* családjának *Allexivirus* nemzetségébe tartoznak, mely nemzetség ratifikációja 1999-ben történt meg (PRINGLE, 1999). A vékony, flexibilis szerkezetű, nagyjából 800 nm hosszú és 12 nm átmérőjű virion kb. 9000 bp hosszúságú +ssRNA genomot tartalmaz. A genomi RNS 6 nagy méretű ORF régióból áll (3. ábra) (KING *et al.*, 2011).



3. ábra: A mogoróhagyma *X allexivirus* faj genomiális felépítése (KING *et al.*, 2011)

Az 5'-véghez közel eső ORF1 régió ~195 kDa tömegű replikáz enzimet kódol (KING *et al.*, 2011), amely magában foglalja a metiltranszferáz (MET), az RNS-függő RNS-polimeráz és az NTPáz/helikáz konzervált doménjeit (4. ábra) (ADAMS *et al.*, 2004). A **mogoróhagyma X vírus** (*Shallot virus X*, **ShVX**) allexivírus faj replikáz kódoló régiója, a nemzetség többi fajtától eltérően, oxidatív demetiláz domént is tartalmaz (ARKHIPOV *et al.*, 2013).



4. ábra: A ShVX vírus genomiális felépítése (ARKHIPOV *et al.*, 2013)

Ezt három kisebb molekulatömegű fehérjét kódoló ORF követi, az ORF2, 3 és 4. Az ORF2 által kódolt 26 kDa tömegű fehérje és az ORF3 által kódolt 11 kDa tömegű fehérje a TGB régió első két fehérjéjére (TGB1, TGB2) hasonlít (KING *et al.*, 2011). Itt helyezkedik még el egy 7-8 kDa tömegű fehérjét kódoló szekvencia, amely azonban nem tartalmazza az AUG start kodont, ami a fehérjék első, metionin aminosavát meghatározó triplet.

Ugyanakkor ez a lehetséges TGB3 gén minden allexivírus fajban megtalálható, konzervált genetikai elem. Az AUG start kodon hiánya emiatt arra enged következtetni, hogy a TGB3 gén kifejeződése a szokásostól eltérő transzláció iniciációs mechanizmus révén megy végbe. Orosz kutatók kísérleteikben végül a CUG kodont mutatták ki, mint a TGB3 fehérje transzlációját valószínűleg elindító kodont (5. ábra), amely alighanem kevésbé hatékony, mint az AUG kodon, ezzel szabályozva a TGB3 szintézisének mértékét (LEZZHOV *et al.*, 2015).



5. ábra: Lehetséges TGB3 gén genomiális elhelyezkedése a vírusgenomon (LEZZHOV *et al.*, 2015)

Az ORF4-ről egy 43 kDa tömegű fehérje keletkezik, amely egyetlen más vírusgenomon kódolt fehérjével sem mutat homológiát és vélhetően a virion összeszerelésében vesz részt. Egyes források p42 fehérjeként hivatkoznak rá (4.-5. ábra). Az ORF5 a 28 kDa tömegű CP-t kódoló gén (KING *et al.*, 2011). Az ORF6, amely a genom 3'-végen helyezkedik el, egy 15 kDa tömegű, ciszteinben gazdag proteint kódol. Ez a fehérje hasonló a carlavírusokban megtalálható NB fehérjéhez, valószínűleg a gazdanövény génszabályozásában játszik közre (SENSHU *et al.*, 2011; ARKHIPOV *et al.*, 2013). A vírusgenom végül egy poliadenilált véggel zárul (SUMI *et al.*, 1993).

Az *Alphafexiviridae* családba tartozó fajok elkülönítésére használt rendszer szerint allexivírusnak kategorizálható az a vírus, amely az alábbi feltételeknek megfelel: kb. 800 nm-es virionnal rendelkezik, a genomon 6 ORF található, a replikációs fehérje 170-195 kDa tömegű, a CP 26-29 kDa tömegű, gazdaszervezetei növények. Az *Allexivirus* nemzetségbe tartozó fajok egymástól való elkülönítésére használt rendszer szerint a polimeráz enzimet és a CP-t kódoló régiót tekintve a különböző fajok nukleotid szinten 72% alatti, vagy aminosav szinten 80% alatti azonosságot mutatnak egymással, valamint az egyes fajok más-más antitestekkel lépnek reakcióba (KING *et al.*, 2011).

Az allexivírusok kutatásának története szakirodalmi szempontból nehezen követhető, mert rendszertani besorolásuk és a fajok nevei is sokszor változtak. Az *Allexivirus* nemzetség 1999-es ratifikációjáig a ma ide tartozó fajokat besorolták, mint egyszerű carlavírusok (LIN *et al.*, 1979), atkával terjedő potyvírusok (VAN DIJK *et al.*, 1991), a carlavírusok és potyvírusok közötti átmenet (KANYUKA *et al.*, 1992), jellemezték még hosszukban a potyvírusokra, hajlékonyságukban azonban a closterovírusokra hasonlító fajokként is (BARG *et al.*, 1993), végül megerősítetlen (*unassigned*) GarV-típusú vírusnak is kategorizálták ezeket (SUMI *et al.*, 1999).

Számos olyan vírusfaj neve is említésre kerül a ma allexivírusokként meghatározott nemzetség kapcsán, amelyeket egy ponttól nem használ tovább a szakirodalom, azonban arról nem

közölnek információt, hogy megszüntették-e, vagy esetleg valamelyik másik fajba sorolták át ezeket a fajokat.

Az *Onion mite-borne latent virus* (OMbLV) és a *Shallot mite-borne latent virus* (ShMbLV), habár a szerológiai vizsgálatok során közeli rokonságot mutatott az elsőként leírt, orosz **ShVX** mintával (KANYUKA *et al.*, 1992; VISHNICHENKO *et al.*, 1993), ezzel kapcsolatban mindössze annyi megállapítást tesznek a kutatók, hogy a fenti két vírus biztosan nem a potyvírusok közé tartozik (BARG *et al.*, 1993). Másik forrás szerint a ShMbLV egy mindmáig megerősítetlen allexivírus (NCBI, 2019d). Megint más forrás szerint az OMbLV -t és a ShMbLV-t átsorolták a **ShVX** fajba (MANSOURI és RYŠÁNEK, 2021).

Említésre kerülnek még olyan fajok is mint a *Russian onion mosaic virus* (GALOCHKINA és IVASHCHENKO, 1981), a *Philippine garlic mosaic virus* (AHMED és BENIGNO, 1984), a *Japanese garlic mosaic virus* (LEE *et al.*, 1979), melyekről szintén dokumentálták, hogy atkavektorral terjedő, fonál alakú vírusok, azonban ezeknek a neveknek a használatát a szakirodalom idővel elhagyta, kategorizálásuk nem történt meg (VAN DIJK *et al.*, 1991; VAN DIJK, 1993b). A szakirodalmi rendezetlenségre való tekintettel a továbbiakban csak az ICTV által elismert fajokat ismertetem.

Fokhagymáról napjainkig 8 allexivírus fajt írtak le, melyek a **fokhagyma A vírus** (*Garlic virus A*, **GarV-A**), a **fokhagyma B vírus** (*Garlic virus B*, **GarV-B**), a **fokhagyma D vírus** (*Garlic virus D*, **GarV-D**), a **fokhagyma E vírus** (*Garlic virus E*, **GarV-E**), a **fokhagyma X vírus** (*Garlic virus X*, **GarV-X**), továbbá a **GarV-C**, a **ShVX** és a **GarMbFV** (CELLI *et al.*, 2018). A fokhagymát fertőző valamennyi vírusfaj közös jellemzője, hogy vektoruk a hagymalevélatka (*Aceria tulipae*) (KANG *et al.*, 2007), terjednek továbbá növényi szövetnedvvel, de nem terjednek levéltetű vektorok útján (KING *et al.*, 2011).

1992-ben orosz kutatók Mongóliából származó mogyoróhagyma és vöröshagyma minták **OYDV** fertőzöttségét vizsgálták, amikor egy, a *Potyvirus* nemzetségre jellemző, fonál alakú partikulummal rendelkező, de azzal szerológiai rokonságot nem mutató vírust azonosítottak. Az újonnan kimutatott vírust **Shallot virus X** néven nevezték el (VISHNICHENKO *et al.*, 1993). A vírus nukleotid szekvenciaadatainak vizsgálata során arra jutottak, hogy a vírus a carlavírusokkal és a potexvírusokkal mutatja a legnagyobb genetikai azonosságot, azonban evolúciós szempontból a kettő között van, tehát nem sorolható be egyikbe sem (KANYUKA *et al.*, 1992). Az első azonosított allexivírusként az *Allexivirus* nemzetség típusfaja lett annak 1999-es ratifikációjakor (PRINGLE, 1999).

1993-ban kutatók japán fokhagyma növényeket vizsgáltak. A bennük azonosított vírusokat az elektronmikroszkópos vizsgálat alapján pálcika alakú, hajlékony vírusokként, míg a genomi RNS alapján poliadenilált véggel rendelkező, CP régiójuk nukleotid sorrendjében leginkább a

carlavírusokra és a potexvírusokra hasonlító vírusfajokként jellemezték. A nukleotid szekvenciák alapján négy reprezentatív és független cDNS klónt hoztak létre, melyeknek nukleotid sorrendjét Sanger-féle didezoxi-szekvenálással határozták meg. Az általuk létrehozott cDNS könyvtár négy független klónját GV-A, GV-B, GV-C és GV-D néven nevezték el (SUMI *et al.*, 1993). Az 1996-ban, japánban leírt *Garlic mite-borne mosaic virus* néven nevezett fajt (YAMASHITA *et al.*, 1996), később a Sumi és munkatársai (1993) által már leírt **GarV-C** fajba sorolták át (NCBI, 2019a). Szintén 1996-ban írta le egy orosz kutatócsapat a *Mite-borne filamentous virus* fajt (RYABOV *et al.*, 1996), amelyet utóbb a **GarV-D** európai izolátumaként azonosítottak. 1997-ben japán kutatók fokhagyma növényen írták le először a **GarV-X** fajt (SONG *et al.*, 1997), melynek egy évvel később már a teljes nukleotid szekvenciáját is meghatározták. Az ORF-ek vizsgálata alapján megállapították, hogy a 8106 bp hosszú genommal rendelkező új faj az **ShVX** fajjal mutat rokonságot, így a GarV típusú vírusok közé sorolták (SONG *et al.*, 1998), noha frissebb kutatási eredmények azt sugallják, hogy a **GarV-X** és a **GarV-B** valójában ugyanazon vírusfaj két eltérő izolátuma lehet (CELLI *et al.*, 2018).

A **GarV-A** és **GarV-C** teljes nukleotid szekvenciáját 1999-ben írták le, ekkor 8660 és 8415 bp hosszúságú vírusokként határozták meg ezeket (SUMI *et al.*, 1999).

2001-ben kínai kutatók Csöcsian tartományból származó fokhagymamintákat vizsgáltak. Céljuk a minták carlavírus, potyvírus és allexivírus fertőzöttségének meghatározása volt. Vizsgálatuk során két allexivírusfaj jelenlétét mutatták ki, melyek közül az egyik a már ismert **GarV-X** faj volt. A másik egy 8451 bp hosszú vírus volt, amelyet a filogenetikai vizsgálatok, illetve a vírusfehérjék és a nemzetségre jellemző konzervált régiók alapján egy eddig ismeretlen allexivírus fajként dokumentáltak. Az izolátumot a további vizsgálatok idejére **Garlic virus E** néven nevezték el (CHEN és CHEN, 2002). További kutatásukból kiderült, hogy a vírusgenom nukleotid sorrendje, ugyan hasonlított más allexivírus fajokéra, de ez az egyezés mindössze 62,8-64,8%-os volt. A kódolt fehérjék aminosav sorrendjében 40,4-79,7%-os egyezőséget mutattak ki, továbbá a **GarV-E** CP régióját a rokon fajok valamennyi hozzáférhető CP régiójának aminosav sorrendjével összehasonlítva is mindössze 63,9-79,8%-os egyezést mértek. Végül filogenetikai vizsgálatokat is végeztek. A filogenetikai törzsfán a **GarV-E** izolátum megbízhatóan elkülönült a többi rokon fajtól. Ezzel végső megerősítést nyert az új allexivírus faj létezése (CHEN és CHEN, 2002).

Lengyel kutatók a faj alacsony genetikai diverzitásáról számoltak be, ugyanakkor hozzátették, hogy az allexivírusok evolúciós mechanizmusai még nagy mértékben feltáratlanok (BEREDA *et al.*, 2015). Legkevesebb információ a **GarMbFV** esetében áll rendelkezésünkre. Egyes források szerint brazil kutatók írták le először (MELO *et al.*, 2004), mások szerint első leírására korábban, Argentínában került sor (HELGUERA *et al.*, 1997), pontosan azonban nem

határozható meg az első említés a szakirodalmi következetlenségek miatt. Noha az ICTV ma önálló vírusfajként fogadja el a **GarMbFV** fajt (KING *et al.*, 2011), egyes források felvetik, hogy a faj bizonyos izolátumai inkább más vírusfajokkal mutatnak genetikai azonosságot, így pl. az NCBI-on *Japanese garlic virus* néven jegyzett, de az ICTV 7. riportjában (FAUQUET *et al.*, 2005) a **GarMbFV** fajba sorolt, L38892 NCBI egyedi azonosítóval ellátott izolátum valójában a **GarV-D** vírusfajjal mutat nagyfokú genetikai azonosságot, míg az X98991 NCBI azonosítójú **GarMbFV** izolátum inkább a **GarV-A** fajhoz tartozhat (CHEN *et al.*, 2001a).

Valamennyi vírus elterjedési területét és ismert gazdanövénykörét a 2. táblázat részletezi. A felsorolt allexivírus fajok közös jellemzője, hogy a kis számú gazdanövényben, jellemzően csak alacsony koncentrációban találhatók meg. Ez nehezíti a vírus tisztítását és az azonosításhoz szükséges specifikus antiszérum elkészítését is (ALVES *et al.*, 2008).

A közelmúltban kínai kutatók több lehetséges új, fokhagymát fertőző allexivírus faj szekvenciaadatait töltötték fel az NCBI adatbázisába. Ezek a *Garlic virus F* (MN059330.1), a *Garlic virus G* (MN059331.1), a *Garlic virus H* (MN059332.1) a *Garlic virus I* (MN059334.1) és a *Garlic yellow virus* (MN059396.1). A filogenetikai vizsgálatok azt mutatják, hogy a *Garlic virus F*, *G* és *I* a **GarV-B**-vel mutatnak közeli rokonságot, míg a *Garlic virus H* a **GarV-X**-szel. A *Garlic yellow virus* esetében nem állt rendelkezésre megfelelő mennyiségű szekvenciaadat a filogenetikai vizsgálatokhoz. Fenti, lehetséges új vírusfajok további kutatása szükséges, jelenleg az ismereteink hiányosak, továbbá ezeket a fajokat az ICTV adatbázisa sem jegyzi különálló fajként (MANSOURI és RYŠÁNEK, 2021).

Az allexivírusok között sokáig csak a hagymaféléket fertőző fajok voltak ismertek, az elmúlt években azonban a nemzetség vírusfajainak gazdanövényköre új kutatási eredményekkel gyarapodott. Elsőként a **ShVX** ismert gazdanövényköre bővült a cukorrépa (*Beta vulgaris*) fajjal (VISHNICHENKO és ZAVRIEV, 2001).

A földiszeder E vírust (*Blackberry E virus*), amelyet sokáig a szeder nemzetség (*Rubus*) érsárgulását okozó betegségkomplex rendszertani szempontból kategorizálatlan vírusfajként tartottak számon (MARTIN *et al.*, 2013), később az allexivírusok közé sorolták át (SABANADZOVIC *et al.*, 2011).

2012-ben a **GarV-D** faj gazdanövényköre is új taggal bővült. Török kutatók a tengerihagymában (*Urginea maritima*) mutatták ki a **GarV-D** vírust. A faj magyar nevével ellentétben nem hagymaféle, rokonai a csillagvirágformájúak (*Scilloideae*) alcsaládjába tartozó jácint fajok (FIDAN *et al.*, 2012).

Kolumbiában földimogyorón azonosítottak egy allexivírus fajt, amelyet ma már pintoi mogyoró vírus (*Arachis pintoii virus*) néven ismerünk (SÁNCHEZ *et al.*, 2016). Amerikai kutatók szudáni lucernamintából mutatták ki a lucerna S vírus (*Alfalfa virus S*) néven elnevezett új

*Allexivirus* fajt (NEMCHINOV *et al.*, 2017). Ugyanezen évben vanília növényből mutattak ki két, az *Alphaflexiviridae* családba tartozó vírusfajt, amelyek közül az egyik a filogenetikai törzsfán allexivírus izolátumokkal mutatta a legnagyobb genetikai azonosságot. A vanília rejtett vírus (*Vanilla latent virus*) néven elnevezett kórokozó a kutatók állítása szerint mechanikai úton terjed a vanília növények között, szemmel látható tüneteket a növényeken nem okoz (GRISONI *et al.*, 2017).

A kasszia enyhe mozaik vírust (*Cassia mild mosaic virus*) sokáig carlavírusként kategorizálták, később megerősítették, hogy egy allexivíusról lehet szó (BESERRA *et al.*, 2011). A közelmúltban friss kutatások gyarapították a fajról való ismereteinket (ALVES *et al.*, 2020), a vírust egy szenna fajról (*Senna rizzinii*) írták le. Jelenleg pedig *Senna severe yellow mosaic virus* néven szerepel az ICTV adatbázisában, noha az NCBI ezt a *Cassia mild mosaic virus* név szinonimjaként kezeli (NCBI, 2020).

### 3.7. A fokhagymát fertőző vírusok termésmennyiségre gyakorolt hatása

A fokhagymát fertőző vírusok kutatásának gyakorlati értéke a megbetegedések okozta termésveszteség mérhetőségében mutatkozik meg, mely témával számos kutató foglalkozott az elmúlt 30 évben. Brazil kutatók a **LYSV** vírusfaj 'Californian Early' fokhagymafajtán kifejtett hatását vizsgálták. A két egymást követő évben átlagosan 13%-os fejtömeg csökkenést tapasztaltak (CARVALHO *et al.*, 1981).

Argentínában a 'Rosado Paraguayo' fajta vizsgálata során azt találták, hogy az **OYDV** egyedi fertőzése 24-39% fejtömeg veszteséggel jár (CANAVELLI *et al.*, 1998) míg a 'Blanco-IFFIVE' fajta esetében ez 47-68% is lehet. Komplex vírusfertőzés esetén a 'Rosado Paraguayo' fajta esetében a fejtömeg veszteség 43-53%-ra, a 'Blanco-IFFIVE' esetében pedig 41-78%-ra módosul (CONCI *et al.*, 2005).

Francia kutatók az **OYDV** és a **LYSV** potyvírus fajok hatását vizsgálták a 'Messidrome', a 'Germidour' és a 'Printanor' fokhagymafajtákra. Vizsgálataikban úgy találták, hogy a **LYSV** egyedi fertőzésekor a 'Messidrome' fajta esetén 17,2%-kal, a 'Germidour' fajtánál 26,5%-kal, a 'Printanor' fajta esetében pedig 54%-kal csökkent a fokhagymafejek átlagos tömege. Az **OYDV** fertőzése ennél súlyosabb veszteségeket okozott, a 'Messidrome' fajtánál 59%, a 'Germidour' fajtánál 39,7%, a 'Printanor' fajtánál pedig 57% volt az átlagos fejtömeg veszteség. A legkomolyabb károkat ebben az esetben is a komplex fertőzés okozta, a 'Messidrome' fajtánál 64,8%-kal, a 'Germidour' fajtánál 60,2%-kal, a 'Printanor' fajtánál pedig 77,8%-kal csökkent a fokhagymafejek átlagos tömege. Emellett az álszár és a levelek hosszának csökkenését is kimutatták a vírusmentes kontroll növényekhez képest (LOT *et al.*, 1998).

Argentínában ötéves kísérletsorozatban vizsgálták a vírusos leromlás összetett hatásait 'Blanco-IFFIVE' fokhagymafajtán. A kísérlet első évében vírusmentes fokhagymagerezdeket ültettek, ezeket minden évben kiértékelték majd visszaültették. Kísérletükben a termesztési körülmények hatására bekövetkező természetes megfertőződés gyorsaságát és hatékonyságát, az okozott termésveszteség mértékét és a fertőzött példányok visszaültetésekből eredő fejtömeg- és fejátmérő csökkenést vizsgálták. Az **OYDV** vírusfajt már akár az első éves kiértékelés során is, a **LYSV** fajt pedig a második éves kiértékeléstől a vizsgált állomány 100%-ában képesek voltak kimutatni. A **GarV-A** vírusfajt átlagosan a kísérleti növények 7,5%-ában mutatták ki az első kísérleti év kiértékelése során, 18%-ában pedig az ötödik kísérleti év kiértékelésekor. A vírusmentes növényekkel minden évben szignifikánsan magasabb terménykihozatalt értek el, mint a fertőzött példányokkal, a visszaültetett gerezdek pedig évről évre rosszabb eredményt nyújtottak. A víruskomplexszel mesterségesen fertőzött növényekhez képest az első éves vírusmentes növények fejtömege 66-216%-kal, a fejátmérő pedig 13-51%-kal volt nagyobb, míg a negyedik évi visszaültetésben ez a különbség 49%-ra csökkent a fejtömeg, 16%-ra a fejátmérő tekintetében (CONCI *et al.*, 2003).

Az allexivírusok terméskiesésre gyakorolt hatásának átfogóbb vizsgálatára először szintén Argentínában került sor. A kutatók a **GarV-A** és a **GarV-C** fajokkal fertőztek mesterségesen 'Morado-INTA' és 'Blanco-IFFIVE' fajtájú fokhagyma növényeket. Pozitív kontrollként potyvírusokkal, carlavírusokkal és allexivírusokkal is fertőzött szövetnedvvel mesterségesen fertőztek vírusmentes növényeket, továbbá vírusmentes, negatív kontrollt is használtak.

A két egymást követő évben végzett kísérletet levéltetvek ellen védő vektorhálóval fedett, és szabadföldi körülmények között is elvégezték. A **GarV-A** vírusfaj a 'Blanco-IFFIVE' fajtán 32% és 14% fejtömeg csökkenést, továbbá 11% és 6% fejátmérő csökkenést okozott vektoroktól elzárt körülmények között. Szabadföldi körülmények között a fejtömeg 25% és 17%-kal csökkent a két egymást követő évben, a fejátmérő pedig 10% és 7%-kal csökkent.

Ugyanezen a fokhagymafajtán a **GarV-C** vírusfaj 15% és 5% fejtömegcsökkenést, valamint 10% és 5% fejátmérőcsökkenést okozott vektormentes környezetben. Szabadföldi körülmények között az első évben a **GarV-C** vírusfajjal mesterségesen fertőzött, és a negatív kontroll növények között szignifikáns eltérés nem mutatkozott, a második évben a fejtömegcsökkenés 9%-os, a fejátmérőcsökkenés pedig 4%-os volt. A pozitív kontrollként felhasznált, víruskomplexszel fertőzött növényeken a fertőzés átlagosan körülbelül 61%-os fejtömegcsökkenést és 30%-os fejátmérőcsökkenést eredményezett a 'Blanco-IFFIVE' fajtán.

A **GarV-A** vírusfaj vektormentes körülmények között 25% és 14% fejtömegcsökkenést, valamint 11% és 7% fejátmérőcsökkenést eredményezett a 'Morado-INTA' fokhagymafajtán. Szabadföldi körülmények között a fejtömegcsökkenés 27% és 31%-ra, a fejátmérőcsökkenés

pedig 8% és 10%-ra emelkedett. A **GarV-A** vírussal történő mesterséges fertőzés okozta hozamveszteség nem tért el szignifikánsan a víruskomplexet tartalmazó pozitív kontrolltól. A **GarV-C** vírusfaj a 'Morado-INTA' fokhagymafajtán sem vektormentes körülmények között, sem szabadföldön nem okozott a negatív kontrolltól szignifikánsan eltérő hozamveszteséget (CAFRUNE *et al.*, 2006).

Brazil kutatók az 'Amarante' fokhagymafajtát vizsgálták hároméves kísérletükben. Ekkor azt találták, hogy a növények 47%-a fertőződött meg a fokhagymát fertőző vírusok valamelyikével, illetve hogy a harmadik év végén mért terméseredmény 27%-kal maradt el az első évestől (TANABE, 1999).

Később hatéves kísérletsorozatban vizsgálták tovább az 'Amarante' fokhagymafajta vírusos leromlását általános termesztési körülmények között. Az első éves növények magassága átlagosan 52,19 cm, a fokhagymafejek átlagos tömege 17,22 g a hektáronkénti terménykihozatal pedig 10,74 t/ha volt, míg a hetedik évi kiértékeléskor az átlagos magasság 42,58 cm-re, a fokhagymafejek átlagos tömege 13,23 g-ra, a hektáronkénti terménykihozatal pedig 4,93 t/ha-ra, vagyis kevesebb, mint felére csökkent. Kutatásukban a terményveszteséget a fokhagyma állományban felmért levéltetű fajok vektortevékenysége és az uralkodó szélirány összefüggésében is vizsgálták, azonban e tekintetben nem találtak kapcsolatot (MELO *et al.*, 2006).

Argentínában a fokhagymát fertőző vírusok széles körének hatásait vizsgálták a 'Blanco-IFFIVE' fajtán. Vizsgálatukban a mintákat mesterségesen fertőzték **OYDV**, **LYSV**, **GCLV**, **GarV-A** és **GarV-C** fajokat tartalmazó víruskomplexszel, illetve az egyes mintákat a **LYSV** fajjal egyedileg is. A vizsgálatokat két egymást követő évben, szabadföldi körülmények között és vektorhálóval elkülönített állományon is elvégezték. A szabadföldön vizsgált, vírusmentesen telepített kontroll növények 100%-a fertőződött meg az **OYDV** fajjal az első évben, újbóli telepítést követően 65%-a a második évben. A **LYSV** fajjal az első évben a vizsgált növények 68%-a, a második évben pedig a 15%-a vált fertőzötté.

A **GarV-A** fertőződés 96-97%-os volt azokon a szabadföldi kísérletben vizsgált növényeken, melyeket előzetesen **LYSV** izolátummal mesterségesen fertőztek, míg vírusmentes állapotban telepített kontrollból csak 12-68%-ban mutatták ki. Ebből az eredményből a kutatók valamilyen fennálló szinergista hatást feltételeznek a két vírusfaj között. A **LYSV** vírus egyedi fertőzését nem találták jelentősnek a vírusmentes kontrollhoz képest. A víruskomplexszel fertőzött növények eredménye azonban 38-65%-ban elmaradt a vírusmentes kontrolltól a fokhagymafej tömegének tekintetében (LUNELLO *et al.*, 2007).

Egy másik kísérletben az *Allexivirus* nemzetség tagjaival végeztek mesterséges fertőzést. A 'Blanco-IFFIVE' fajtájú fokhagyma növényekből négy csoportot alkottak. Az első csoportot a vírusmentes kontroll, a másodikat a **GarV-A**-val, a harmadikat a **GarV-C**-vel, a negyediket pedig

egy víruskomplexszel fertőzött csoport alkotta. A vizsgálat négy évig folyt, a kiértékelt mintákat minden évben visszaültették. Az első kísérleti évben a vírusmentes növények 137%-kal, a **GarV-A**-val fertőzöttek 96%-kal, a **GarV-C**-vel fertőzöttek pedig 116%-kal teljesítettek jobban, mint a víruskomplexszel kezelt növények. A visszaültetések következtében a negyedik évre azonban nem maradt szignifikáns különbség a négy különböző kezelés között (PEROTTO *et al.*, 2010).

Ezek alapján megállapítható, hogy a fokhagymát fertőző fontosabb vírusfajok komoly gazdasági kárt képesek okozni, illetve a legnagyobb termésveszteséget a komplex fertőzések okozzák az egyedi fertőzésekkel szemben (CONCI *et al.*, 2003). Az eredmények továbbá arra is következtetni engednek, hogy a víruskomplex kialakulása során a különböző nemzetségekbe tartozó fajok nemcsak a termésveszteség terén erősíthetik egymás hatását, de a már fertőzött növények könnyebben fertőződhetnek további jelentős vírusfajokkal (LUNELLO *et al.*, 2007).

Láthatjuk még, hogy a termésveszteség mértéke jelentősen eltérhet az egyes vizsgált fokhagymafajták esetében (LOT *et al.*, 1998), illetve hogy a fertőzött gerezdek visszaültetése évről évre rontja a potenciális terménykihozatait (CONCI *et al.*, 2003; PEROTTO *et al.*, 2014).

## 4. ANYAG ÉS MÓDSZER

### 4.1. Vizsgálatok helye

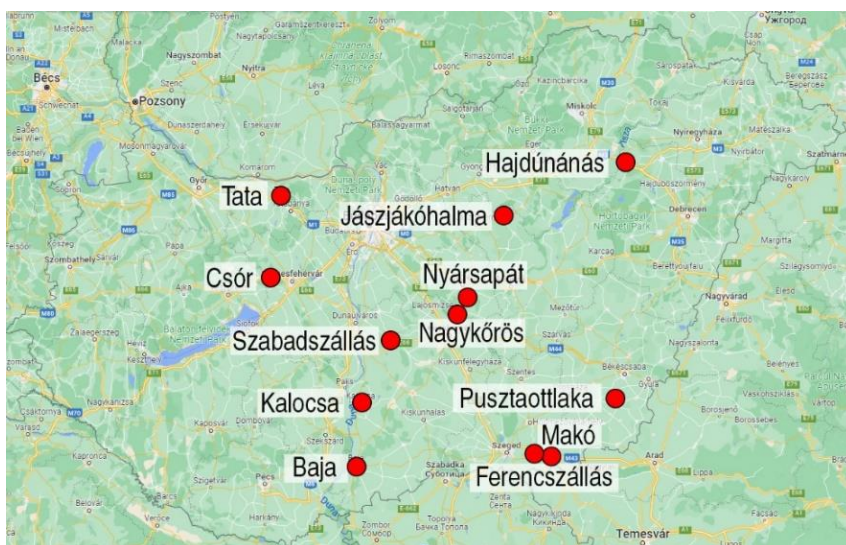
Kutatásomat a Szent István Egyetem, Kertészettudományi Kar, Növénykórtani Tanszékének (jogutód: Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Növényvédelmi Intézet, Budai Campus, Növénykórtani Tanszék) laboratóriumában és annak üvegházában végeztem (6. ábra). A tisztított vírus izolátumok nukleotid szekvenciáinak meghatározásához a Hollandiában működő BaseClear cég Barcode Sequencing szolgáltatását vettük igénybe.



6. ábra: Egészséges (balra) és tünetes (jobbra) növények a tanszéki üvegházban

### 4.2. Vizsgálatok anyaga és módszere

A gyűjtött minták Kínából, Romániából, Magyarországról, Ausztriából, Csehországból, Franciaországból, Portugáliából, Hollandiából és Spanyolországból származtak. A magyarországi mintáinkat Hajdúnánás, Pusztaszentlászló, Makó, Ferencszállás, Baja, Kalocsa, Tata, Jászfényszőlős, Nagykőrös, Szabadszállás, Nyársapát és Csór településekről szereztük be (7. ábra). Kutatásunkba a magyarországi szabályozások szerint certifikált vetőgerezdeket, illetve házikerti és piaci mintákat is egyaránt bevontunk (3. táblázat).



7. ábra: A mintagyűjtés magyarországi helyszínei

3. táblázat: A kutatás során begyűjtött fokhagymaminták

| Minta neve | Származási ország       | Gyűjtési hely | Helység        | Fajta        | Beszerezés | Cég                    | Megjegyzés                 | Begyűjtött növényi szerv |
|------------|-------------------------|---------------|----------------|--------------|------------|------------------------|----------------------------|--------------------------|
| 1A         | Franciaország           | Franciaország | Grasse         | 'Messidrome' | Üzletlanc  | [n.a.]                 | certifikált szaporítóanyag | levél                    |
| 1B         | Franciaország           | Franciaország | Grasse         | 'Messidrome' | Üzletlanc  | [n.a.]                 | certifikált szaporítóanyag | levél                    |
| 2A         | Franciaország           | Franciaország | Grasse         | 'Messidrome' | Üzletlanc  | [n.a.]                 | certifikált szaporítóanyag | levél                    |
| 2B         | Franciaország           | Franciaország | Grasse         | 'Messidrome' | Üzletlanc  | [n.a.]                 | certifikált szaporítóanyag | levél                    |
| 3A         | Smržice, Csehország     | Szlovákia     | Pozsony        | 'Karel IV'   | Piac       | SEMO                   | lila, szaporítóanyag       | gerezd                   |
| 3B         | Smržice, Csehország     | Szlovákia     | Pozsony        | 'Karel IV'   | Piac       | SEMO                   | lila, szaporítóanyag       | gerezd                   |
| 4A         | Smržice, Csehország     | Szlovákia     | Pozsony        | 'Karel IV'   | Piac       | SEMO                   | lila, szaporítóanyag       | levél                    |
| 4B         | Smržice, Csehország     | Szlovákia     | Pozsony        | 'Karel IV'   | Piac       | SEMO                   | lila, szaporítóanyag       | gerezd                   |
| 5A         | Franciaország           | Szlovákia     | Pozsony        | 'Messidrome' | Piac       | Simon seeds s.r.o.     | snidlinges                 | gerezd                   |
| 5B         | Franciaország           | Szlovákia     | Pozsony        | 'Messidrome' | Piac       | Simon seeds s.r.o.     | snidlinges                 | gerezd                   |
| 6A         | Franciaország           | Szlovákia     | Pozsony        | 'Messidrome' | Piac       | Simon seeds s.r.o.     | snidlinges                 | levél                    |
| 6B         | Franciaország           | Szlovákia     | Pozsony        | 'Messidrome' | Piac       | Simon seeds s.r.o.     | snidlinges                 | gerezd                   |
| 7A         | Valencia, Spanyolország | Szlovákia     | Pozsony        | [n.a.]       | Piac       | Anecoop S.Coop.        | -                          | levél                    |
| 7B         | Valencia, Spanyolország | Szlovákia     | Pozsony        | [n.a.]       | Piac       | Anecoop S.Coop.        | -                          | levél                    |
| 8A         | Valencia, Spanyolország | Szlovákia     | Pozsony        | [n.a.]       | Piac       | Anecoop S.Coop.        | -                          | levél                    |
| 8B         | Valencia, Spanyolország | Szlovákia     | Pozsony        | [n.a.]       | Piac       | Anecoop S.Coop.        | -                          | levél                    |
| 9A         | Kína                    | Magyarország  | Ferencszállás  | [n.a.]       | Üzletlanc  | Köteles és társai Kft. | -                          | levél                    |
| 9B         | Kína                    | Magyarország  | Ferencszállás  | [n.a.]       | Üzletlanc  | Köteles és társai Kft. | -                          | levél                    |
| 10A        | Kína                    | Magyarország  | Ferencszállás  | [n.a.]       | Üzletlanc  | Köteles és társai Kft. | -                          | levél                    |
| 10B        | Kína                    | Magyarország  | Ferencszállás  | [n.a.]       | Üzletlanc  | Köteles és társai Kft. | -                          | levél                    |
| 11A        | Magyarország            | Magyarország  | Pusztatottlaka | [n.a.]       | Termesztő  | Paprikakert TЭСZ Kft.  | -                          | levél                    |
| 11B        | Magyarország            | Magyarország  | Pusztatottlaka | [n.a.]       | Termesztő  | Paprikakert TЭСZ Kft.  | -                          | levél                    |

|     |                  |              |                |                 |           |                            |                  |        |
|-----|------------------|--------------|----------------|-----------------|-----------|----------------------------|------------------|--------|
| 12A | Magyarország     | Magyarország | Pusztatottlaka | [n.a.]          | Termesztő | Paprikakert<br>TESZ Kft.   | -                | levél  |
| 13A | Kína             | Ausztria     | Bécs           | [n.a.]          | Piac      | Dorfinger<br>International | lila, 1 gerezdes | gerezd |
| 13B | Kína             | Ausztria     | Bécs           | [n.a.]          | Piac      | Dorfinger<br>International | lila, 1 gerezdes | gerezd |
| 14A | Kína             | Ausztria     | Bécs           | [n.a.]          | Piac      | Dorfinger<br>International | lila, 1 gerezdes | gerezd |
| 14B | Kína             | Ausztria     | Bécs           | [n.a.]          | Piac      | Dorfinger<br>International | lila, 1 gerezdes | gerezd |
| 15A | Sigleß, Ausztria | Ausztria     | Bécs           | [n.a.]          | Piac      | Biohof<br>Artner           | bio termesztés   | gerezd |
| 15B | Sigleß, Ausztria | Ausztria     | Bécs           | [n.a.]          | Piac      | Biohof<br>Artner           | bio termesztés   | gerezd |
| 16A | Sigleß, Ausztria | Ausztria     | Bécs           | [n.a.]          | Piac      | Biohof<br>Artner           | bio termesztés   | gerezd |
| 16B | Sigleß, Ausztria | Ausztria     | Bécs           | [n.a.]          | Piac      | Biohof<br>Artner           | bio termesztés   | gerezd |
| 17A | Románia          | Erdély       | Marosvásárhely | [n.a.]          | Házikert  | [n.a.]                     | egy fej          | gerezd |
| 17B | Románia          | Erdély       | Marosvásárhely | [n.a.]          | Házikert  | [n.a.]                     | egy fej          | gerezd |
| 18A | Románia          | Erdély       | Marosvásárhely | [n.a.]          | Házikert  | [n.a.]                     | egy fej          | gerezd |
| 18B | Románia          | Erdély       | Marosvásárhely | [n.a.]          | Házikert  | [n.a.]                     | egy fej          | gerezd |
| 19A | Magyarország     | Magyarország | Hajdúnánás     | [n.a.]          | Házikert  | [n.a.]                     | egy fej          | levél  |
| 19B | Magyarország     | Magyarország | Hajdúnánás     | [n.a.]          | Házikert  | [n.a.]                     | egy fej          | gerezd |
| 20A | Magyarország     | Magyarország | Hajdúnánás     | [n.a.]          | Házikert  | [n.a.]                     | egy fej          | gerezd |
| 21A | Magyarország     | Magyarország | Kalocsa        | [n.a.]          | Házikert  | [n.a.]                     | egy fej          | levél  |
| 21B | Magyarország     | Magyarország | Kalocsa        | [n.a.]          | Házikert  | [n.a.]                     | egy fej          | levél  |
| 22A | Magyarország     | Magyarország | Kalocsa        | [n.a.]          | Házikert  | [n.a.]                     | egy fej          | levél  |
| 22B | Magyarország     | Magyarország | Kalocsa        | [n.a.]          | Házikert  | [n.a.]                     | egy fej          | gerezd |
| 23A | Magyarország     | Magyarország | Makó           | ‘Makói Tavasz’  | Termesztő | [n.a.]                     | -                | gerezd |
| 23B | Magyarország     | Magyarország | Makó           | ‘Makói Tavasz’  | Termesztő | [n.a.]                     | -                | gerezd |
| 24A | Magyarország     | Magyarország | Makó           | ‘Makói Tavasz’  | Termesztő | [n.a.]                     | -                | gerezd |
| 24B | Magyarország     | Magyarország | Makó           | ‘Makói Tavasz’  | Termesztő | [n.a.]                     | -                | gerezd |
| 25A | Magyarország     | Magyarország | Makó           | ‘Őszi-Messidor’ | Termesztő | [n.a.]                     | -                | gerezd |
| 25B | Magyarország     | Magyarország | Makó           | ‘Őszi-Messidor’ | Termesztő | [n.a.]                     | -                | gerezd |
| 26A | Magyarország     | Magyarország | Makó           | ‘Őszi-Messidor’ | Termesztő | [n.a.]                     | -                | gerezd |
| 26B | Magyarország     | Magyarország | Makó           | ‘Őszi-Messidor’ | Termesztő | [n.a.]                     | -                | levél  |

|            |              |              |          |                 |           |        |           |        |
|------------|--------------|--------------|----------|-----------------|-----------|--------|-----------|--------|
| <b>27A</b> | Magyarország | Magyarország | Makó     | 'Őszi-Sprint'   | Termesztő | [n.a.] | -         | levél  |
| <b>27B</b> | Magyarország | Magyarország | Makó     | 'Őszi-Sprint'   | Termesztő | [n.a.] | -         | gerezd |
| <b>28A</b> | Magyarország | Magyarország | Makó     | 'Őszi-Sprint'   | Termesztő | [n.a.] | -         | gerezd |
| <b>28B</b> | Magyarország | Magyarország | Makó     | 'Őszi-Sprint'   | Termesztő | [n.a.] | -         | levél  |
| <b>29A</b> | Magyarország | Magyarország | Makó     | 'Őszi-Vayo'     | Termesztő | [n.a.] | -         | gerezd |
| <b>29B</b> | Magyarország | Magyarország | Makó     | 'Őszi-Vayo'     | Termesztő | [n.a.] | -         | gerezd |
| <b>30A</b> | Magyarország | Magyarország | Makó     | 'Őszi-Vayo'     | Termesztő | [n.a.] | -         | gerezd |
| <b>31A</b> | Magyarország | Magyarország | Makó     | 'Őszi-Vayo'     | Termesztő | [n.a.] | -         | gerezd |
| <b>31B</b> | Magyarország | Magyarország | Makó     | 'Őszi-Vayo'     | Termesztő | [n.a.] | -         | gerezd |
| <b>32A</b> | Magyarország | Magyarország | Makó     | 'Őszi-Vayo'     | Termesztő | [n.a.] | -         | gerezd |
| <b>32B</b> | Magyarország | Magyarország | Makó     | 'Őszi-Vayo'     | Termesztő | [n.a.] | -         | gerezd |
| <b>33A</b> | Magyarország | Magyarország | Makó     | 'Pritanor'      | Termesztő | [n.a.] | puha      | gerezd |
| <b>33B</b> | Magyarország | Magyarország | Makó     | 'Pritanor'      | Termesztő | [n.a.] | puha      | gerezd |
| <b>34A</b> | Magyarország | Magyarország | Makó     | 'Pritanor'      | Termesztő | [n.a.] | szemhibás | gerezd |
| <b>34B</b> | Magyarország | Magyarország | Makó     | 'Pritanor'      | Termesztő | [n.a.] | szemhibás | levél  |
| <b>35A</b> | Magyarország | Magyarország | Makó     | 'Flavor'        | Termesztő | [n.a.] | szemhibás | gerezd |
| <b>35B</b> | Magyarország | Magyarország | Makó     | 'Flavor'        | Termesztő | [n.a.] | szemhibás | levél  |
| <b>36A</b> | Magyarország | Magyarország | Makó     | 'Flavor'        | Termesztő | [n.a.] | puha      | levél  |
| <b>37A</b> | Magyarország | Magyarország | Makó     | 'Tavaszi sárga' | Termesztő | [n.a.] | szemhibás | levél  |
| <b>38B</b> | Magyarország | Magyarország | Makó     | 'Tavaszi sárga' | Termesztő | [n.a.] | puha      | levél  |
| <b>39A</b> | Magyarország | Magyarország | Makó     | 'Makói Tavasz'  | Termesztő | [n.a.] | -         | gerezd |
| <b>39B</b> | Magyarország | Magyarország | Makó     | 'Makói Tavasz'  | Termesztő | [n.a.] | -         | gerezd |
| <b>40A</b> | Magyarország | Magyarország | Makó     | 'Makói Tavasz'  | Termesztő | [n.a.] | -         | levél  |
| <b>40B</b> | Magyarország | Magyarország | Makó     | 'Makói Tavasz'  | Termesztő | [n.a.] | -         | gerezd |
| <b>41A</b> | Hollandia    | Magyarország | Budapest | 'Germidour'     | Piac      | [n.a.] | -         | gerezd |
| <b>41B</b> | Hollandia    | Magyarország | Budapest | 'Germidour'     | Piac      | [n.a.] | -         | gerezd |
| <b>42A</b> | Hollandia    | Magyarország | Budapest | 'Germidour'     | Piac      | [n.a.] | -         | gerezd |
| <b>42B</b> | Hollandia    | Magyarország | Budapest | 'Germidour'     | Piac      | [n.a.] | -         | gerezd |
| <b>43A</b> | Magyarország | Magyarország | Csór     | [n.a.]          | Házikert  | [n.a.] | -         | levél  |
| <b>43B</b> | Magyarország | Magyarország | Csór     | [n.a.]          | Házikert  | [n.a.] | -         | levél  |

|             |               |              |                                |                   |                           |        |               |        |
|-------------|---------------|--------------|--------------------------------|-------------------|---------------------------|--------|---------------|--------|
| <b>44A</b>  | Spanyolország | Olaszország  | Antica Corte                   | 'Monticelli'      | Piac                      | [n.a.] | -             | gerezd |
| <b>44B</b>  | Spanyolország | Olaszország  | Antica Corte                   | 'Monticelli'      | Piac                      | [n.a.] | -             | gerezd |
| <b>45A</b>  | Spanyolország | Olaszország  | Antica Corte                   | 'Monticelli'      | Piac                      | [n.a.] | -             | gerezd |
| <b>45B</b>  | Spanyolország | Olaszország  | Antica Corte                   | 'Monticelli'      | Piac                      | [n.a.] | -             | gerezd |
| <b>46A</b>  | Olaszország   | Olaszország  | Voghiera                       | 'Sapori Dintorni' | Piac                      | [n.a.] | -             | gerezd |
| <b>46B</b>  | Olaszország   | Olaszország  | Voghiera                       | 'Sapori Dintorni' | Piac                      | [n.a.] | -             | gerezd |
| <b>47A</b>  | Olaszország   | Olaszország  | Voghiera                       | 'Sapori Dintorni' | Piac                      | [n.a.] | -             | gerezd |
| <b>47B</b>  | Olaszország   | Olaszország  | Voghiera                       | 'Sapori Dintorni' | Piac                      | [n.a.] | -             | gerezd |
| <b>81/1</b> | Magyarország  | Magyarország | Tata                           | 'Arno'            | Házikert                  | [n.a.] | csúcsnekrózis | levél  |
| <b>81/2</b> | Magyarország  | Magyarország | Tata                           | 'Arno'            | Házikert                  | [n.a.] | csúcsnekrózis | gerezd |
| <b>81/3</b> | Magyarország  | Magyarország | Tata                           | 'Arno'            | Házikert                  | [n.a.] | -             | levél  |
| <b>81/4</b> | Magyarország  | Magyarország | Tata                           | 'Arno'            | Házikert                  | [n.a.] | -             | gerezd |
| <b>Baja</b> | Magyarország  | Magyarország | Baja                           | 'Lelexír'         | Certifikált<br>vetőgerezd | [n.a.] | -             | levél  |
| <b>Port</b> | Portugália    | Portugália   | Lisszabon                      | [n.a.]            | Piac                      | [n.a.] | -             | levél  |
| <b>48A</b>  | Magyarország  | Magyarország | Nagykőrös                      | 'Messidrome'      | Fokhagyma<br>földről      | [n.a.] | -             | levél  |
| <b>49A</b>  | Magyarország  | Magyarország | Szabadszállás,<br>Balázspusztá | 'Messidor'        | Fülpjaki<br>elágazás      | [n.a.] | -             | levél  |
| <b>50A</b>  | Magyarország  | Magyarország | Nyársapát                      | 'Messidor'        | Fokhagyma<br>földről      | [n.a.] | -             | levél  |
| <b>51A</b>  | Magyarország  | Magyarország | Nagykőrös                      | 'Sprint'          | Fokhagyma<br>földről      | [n.a.] | -             | levél  |

#### 4.2.1. Növények fenntartása, mintaszedés

A mintákat házikertekből, termesztőktől illetve üzletláncokból és piacokról gyűjtöttük. A gyűjtés során a legfontosabb szempontok a következők voltak: ismert eredet (legalább az ország), ha lehet ismert fajta, ránézésre egészséges (egyéb károsítóktól mentes). A mintákból egy-egy gerezedet ültettünk külön cserépbe, és ezeket a Tanszék üvegházában hajtottuk sikerrel. A növényekről friss leveleket gyűjtöttük 15 ml-es RNázmentesített centrifugacsövekbe úgy, hogy közben ügyeltünk a vírusok mechanikai átvitelének megelőzésére (gumikesztyű, fertőtlenítés). A levélmintákat -70 °C-on tároltuk.

#### 4.2.2. Primerek tervezése, szakirodalmi primerek kiválasztási szempontjai

Az általunk felhasznált primerek egy részét magunk terveztük míg másokat teljesen a szakirodalmi forrásokból nyertük, bizonyos esetekben pedig a szakirodalmi primereket módosítottuk a saját szempontjainknak megfelelően.

##### 4.2.2.1. Saját primerek tervezésének szempontrendszer

Az általunk készített primerek tervezésekor az alábbi szempontok szerint jártunk el:

- A primerek hossza 17 és 25 bp között legyen.
- A G/C arány 40-50% közé essen.
- Az olvadási hőmérséklet 45 és 65 °C közé essen. Az antiszenz és szenz primerek olvadási hőmérséklete közötti különbség minél kisebb legyen.
- A polimeráz láncreakciós (*polymerase chain reaction*, PCR) során keletkező termék hossza maximum 2500 bp legyen.
- A primereket olyan régiókra terveztük, amelyek a hozzáférhető szekvenciaadatok alapján, az adott nemzetségre, fajra, vagy génszakaszra konzerváltak, míg más nemzetségekre, fajokra, vagy génszakaszokra nézve variábilisak.
- A homo- és heterodimerek képződése esetén arra figyeltünk, hogy a  $\Delta G$  értéke egy nullához minél közelebbi, de -10 kcal/mol-nál lehetőleg nagyobb szám legyen.
- A primerek 3'-végét lehetőség szerint minél konzerváltabb régióra terveztük, kerültek a változó régiókat, ha lehetett, akkor több guanin és citozin bázist terveztünk ide, illetve amennyiben homo-, vagy heterodimerek képződhettek, úgy ügyeltük rá, hogy ezek ne a primer 3'-végre essenek.
- A primerek BLAST analízisét pozitívan értékeltük, ha az első három találat között szerepelt a célszervezet úgy, hogy a nagyobb homológiát mutató találatok között nem szerepeltek közeli rokonai a célszervezetnek.

- A célszekvencia specifikitást elégségesnek tekintettük, ha az NCBI adatbázisban rendelkezésre álló szekvenciaadatok vizsgálata alapján a célszekvencia 3000 bp környezetében a primer 3'-végén található utolsó 10 bp nem volt képes a nukleinsavhoz hibridizálni.
- A genom nagyobb egységeinek feltérképezését célzó primerek esetében legalább 3-400 bp átfedő régiót terveztünk az egymással szomszédos génszakaszt amplifikáló primerek tervezésekor.

Föntiektől csak szükség esetén, a lehető legkisebb mértékben igyekeztünk eltérni, a fenti feltételeknek történő megfelelést a 4., 6., 7. és 10. táblázatokban rögzítettük. A primerek tulajdonságainak feltérképezéséhez az IDTDNA OligoAnalyzer szolgáltatását alkalmaztuk.

#### 4.2.2.2. *HaPoty, HaCarla és HaAllexi primerkészlet*

A *Potyvirus* és *Carlavirus* nemzetségekbe tartozó vírusok fajspecifikus meghatározásához a szenz primereket (HaPoty, HaCarla) olyan, a nemzetségen belül konzervált, de a fajok között variábilis elhelyezkedésű genomi régiókra terveztük, melyek a PCR reakcióban használt M4 antiszenz primerrel együtt különböző hosszúságú PCR-terméket sokszorozítottak. Ennek az elvnek a segítségével az azonos nemzetségbe, de eltérő fajba tartozó vírusok esetében, a szenz primer eltérő elhelyezkedése miatt, más-más bp hosszúságú PCR-termék keletkezett, vagyis egy PCR reakcióban voltunk képesek a három fokhagymát fertőző potyvírus fajt, vagy a két carlavirus fajt egyidejűleg kimutatni (5. táblázat).

Az allexivírusok esetében a nemzetség-specifikus szenz primerrel történő fajspecifikus meghatározás lehetősége a magasabb fajszám miatt nem vált lehetővé, így az allexivírusok jelenlétét az általunk tervezett HaAllexi szenz és az M4 antiszenz primerpárral csak nemzetség-specifikusan voltunk képesek kimutatni (5. táblázat). Valamennyi primert a primerkészítés 4.2.2.1. alfejezetben tárgyalt elvei szerint külön is megvizsgáltuk (4. táblázat).

Az általunk tervezett szenz primerek mellé a kínai kutatók által publikált M4-M4T primereket használtuk (CHEN *et al.*, 2001b). Az univerzális *Potyviridae* primerkészlet M4T antiszenz primerét a cDNS készítés során alkalmaztuk, a primer poly-T régiója a *Potyviridae* családra jellemző poliadenilált véggel hibridizál, míg az M4 primer a PCR során használt antiszenz primer (5. táblázat).

4. táblázat: A *HaPoty*, *HaCarla* és *HaAllexi* primerkészlet és primerpárok tulajdonságai

|                 | Hossz<br>bázis<br>pár | G/C<br>arány<br>% | Olvasási<br>hőmérséklet |             |           | BLAST<br>analízis | Homo<br>dimer<br>$\Delta G$ min<br>(kcal/mol) | Hetero<br>dimer<br>$\Delta G$ min<br>(kcal/mol) | Hajtú<br>forma<br>$\Delta G$ min<br>(kcal/mol) | Célszekvencia<br>specifitás<br>( <i>mispriming</i> ) |
|-----------------|-----------------------|-------------------|-------------------------|-------------|-----------|-------------------|-----------------------------------------------|-------------------------------------------------|------------------------------------------------|------------------------------------------------------|
|                 |                       |                   | Min<br>°C               | Átlag<br>°C | Max<br>°C |                   |                                               |                                                 |                                                |                                                      |
| <b>HaPoty</b>   | 19                    | 40                | 43,8                    | 50          | 56,8      | ✗                 | -5,65                                         | -5,02                                           | 1,95                                           | ✓                                                    |
| <b>M4</b>       | 17                    | 52,9              | -                       | 50,6        | -         | [n.a.]            | -3,61                                         |                                                 | 0,25                                           | [n.a.]                                               |
| <b>HaCarla</b>  | 17                    | 58,8              | 50,5                    | 55,9        | 61,3      | ✗                 | -8,19                                         | -6,79                                           | 1,58                                           | ✓                                                    |
| <b>M4</b>       | 17                    | 52,9              | -                       | 50,6        | -         | [n.a.]            | -3,61                                         |                                                 | 0,25                                           | [n.a.]                                               |
| <b>HaAllexi</b> | 17                    | 50                | 45,9                    | 50,6        | 55,1      | ✗                 | -8,13                                         | -8,13                                           | 0,42                                           | ✓                                                    |
| <b>M4</b>       | 17                    | 52,9              | -                       | 50,6        | -         | [n.a.]            | -3,61                                         |                                                 | 0,25                                           | [n.a.]                                               |

Megjegyzés: a BLAST analízis oszlopában az ✗-el jelölt sorokban a primer működőképességét BLAST analízissel nem tudtuk megerősíteni, míg a ✓-val jelölt sorokban a primer működőképessége BLAST analízissel igazolható volt. Az [n.a.]-val jelölt sorban a teszt eredménye nem releváns a primerpár potenciális működőképességére vonatkozólag.

5. táblázat: A HaPoty, HaCarla és HaAllexi primerkészlet

| Primer neve |            | Primer helye | Szekvencia (5' - 3')                       | Régió                                    | Vírus                        | Referencia izolátum(ok)                                                                                  | Amplikon hossza                              | Eredet               |
|-------------|------------|--------------|--------------------------------------------|------------------------------------------|------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|----------------------|
| 1           | HaPoty     | szenz        | TRA TGG TDT GGT GYA THG A                  | köpenyfehérje és nukleinsav kötő fehérje | Leek yellow stripe virus     | MT731491<br>MN864796<br>MN864797<br>MN528769<br>MN607702<br>MZ203482<br>MZ203472<br>MT358353<br>MT731495 | ~ 1000-1200 bp                               | saját                |
|             |            |              |                                            |                                          | Shallot yellow stripe virus  | ...                                                                                                      | ~ 575 bp                                     |                      |
|             |            |              |                                            |                                          | Onion yellow dwarf virus     | számú referencia izolátumok alapján tervezve                                                             | ~ 660 bp                                     |                      |
| 2           | HaCarla    | szenz        | GCR CCM GTK GTY TGG AA                     |                                          | Garlic common latent virus   | MN059140<br>MT731496<br>MN059116<br>MH686306<br>JQ899443<br>JF320811                                     | ~ 800 bp                                     |                      |
|             |            |              |                                            |                                          |                              | Shallot latent virus                                                                                     | ...                                          |                      |
| 3           | HaAllexi   | szenz        | TGY TAC CAC AAY GGN TC                     |                                          | Allexivirus nemzetség        | OK064621<br>MZ131634<br>MW340978<br>OK064620<br>OK064619                                                 | ~ 1000 bp                                    |                      |
|             |            |              |                                            |                                          |                              | ...                                                                                                      | számú referencia izolátumok alapján tervezve |                      |
| 4           | M4T (cDNS) | antiszenz    | GTT TTC CCA GTC ACG ACT TTT TTT TTT TTT TT | poliadenilált vég                        | univerzális antiszenz primer | AJ307033<br>AJ307057<br>AJ311370                                                                         | felhasznált szenz primer függvényében        | (CHEN et al., 2001b) |
| 5           | M4         | antiszenz    | GTT TTC CCA GTC ACG AC                     |                                          |                              |                                                                                                          |                                              |                      |

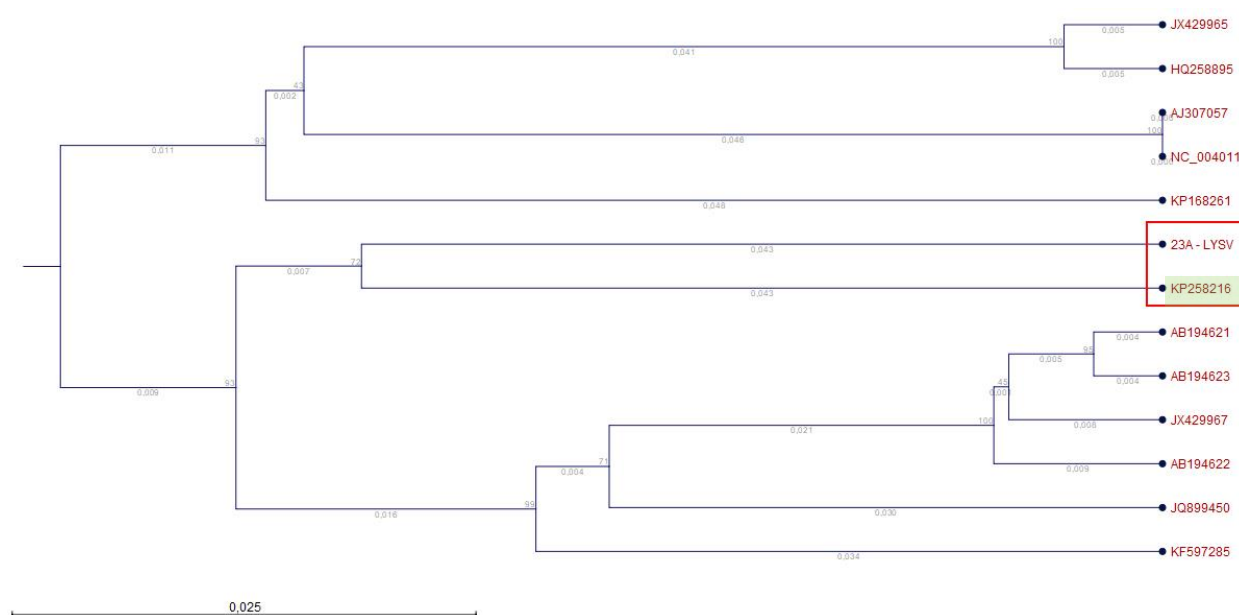
Megjegyzés: a szenz primereknél jelzett amplikonok hossza az univerzális M4-M4T antiszenz primer jelenlétében értendő.

#### 4.2.2.3. Gupta- és Yoshida-féle primerek optimalizációja

A 23A mintából kimutatott LYSV izolátum szekvenciaadatainak minél részletesebb feltérképezése érdekében szakirodalmi primereket kerestünk, azonban azt találtuk, hogy a szakirodalomban szereplő primerkészlet csak nagyon kismértékben illeszthető rá az NCBI adatbázisból származó LYSV teljes genomokra. Annak érdekében, hogy növeljük a primerkötődés specifikitását, a primereket optimalizáltuk (6. táblázat) az alábbi lépésekben:

- Az NCBI adatbázisból LYSV teljes genomot tartalmazó szekvenciaadatokat töltöttünk le.
- A letöltött szekvenciaadatok CP-t kódoló régiója és a 23A mintából származó szekvenciaadatok CP-t kódoló régiója között feltártuk a rokonsági viszonyokat.
- Megállapítottuk, hogy a rendelkezésre álló LYSV teljes genomok közül a KP258216 referencia izolátum CP-t kódoló régiójának nukleotid szekvenciája mutatja a legnagyobb genetikai azonosságot a 23A mintából származó LYSV izolátum nukleotid szekvenciaadataival (8. ábra).
- Az eredeti Gupta- és Yoshida-féle primereket úgy változtattuk meg, hogy a primerek a KP258216 izolátumra illeszkedjenek minél jobban. Ehhez egyes bázisokat kicseréltünk, vagy degenerált primereket terveztünk (M7. számú melléklet M33. táblázata)

A PCR során felhasznált primereket a 7. táblázat szemlélteti.



8. ábra: A 23A minta rokonsági viszonyai az NCBI adatbázis LYSV teljes genomot tartalmazó feltöltéseinek köpenyfehérje régiója alapján (1000 ismétléses bootstrap analízis, UPGMA módszerrel)

6. táblázat: A Gupta- és Yoshida-féle primerkészlet tulajdonságai

| Név               | Hossz<br>bázis pár | G/C<br>arány<br>% | Olvadási<br>hőmérséklet |             |           | BLAST<br>analízis | Homo<br>dimer<br><br>ΔG min<br>(kcal/mol) | Hetero<br>dimer<br><br>ΔG min<br>(kcal/mol) | Hajtú<br>forma<br><br>ΔG min<br>(kcal/mol) | Célszekvencia<br>specifitás<br><br>(mispriming) |
|-------------------|--------------------|-------------------|-------------------------|-------------|-----------|-------------------|-------------------------------------------|---------------------------------------------|--------------------------------------------|-------------------------------------------------|
|                   |                    |                   | Min<br>°C               | Átlag<br>°C | Max<br>°C |                   |                                           |                                             |                                            |                                                 |
| LYSV CP<br>FULL F | 19                 | 63,2              | -                       | 58,4        | -         | ✓                 | -16,03                                    | -5                                          | -2,33                                      | ✓                                               |
| LYSV CP<br>FULL R | 18                 | 50                | -                       | 51,2        | -         | ✓                 | -9,73                                     |                                             | -2,13                                      | ✓                                               |
| LYSV<br>HCPRO F   | 20                 | 50                | 55,9                    | 55,9        | 56        | ✓                 | -6,45                                     | -3,16                                       | 0,22                                       | ✓                                               |
| LYSV<br>HCPRO R   | 22                 | 59,1              | -                       | 61,5        | -         | ✓                 | -3,16                                     |                                             | -0,49                                      | ✓                                               |
| LYSV CI<br>F      | 22                 | 40,9              | -                       | 53,3        | -         | ✓                 | -5,24                                     | -6,21                                       | -0,69                                      | ✓                                               |
| LYSV CI<br>R      | 20                 | 55                | -                       | 55,9        | -         | ✓                 | -6,75                                     |                                             | -1,46                                      | ✓                                               |
| LYSV P3<br>F      | 21                 | 28,6              | -                       | 45,4        | -         | ✓                 | -3,91                                     | -4,99                                       | 1,15                                       | ✓                                               |
| LYSV P3<br>R      | 21                 | 38,1              | -                       | 51,4        | -         | ✓                 | -3,61                                     |                                             | 1,71                                       | ✓                                               |
| LYSV NIA<br>F     | 21                 | 28,6              | -                       | 45          | -         | ✓                 | -3,91                                     | -3,54                                       | 1,15                                       | ✓                                               |
| LYSV NIA<br>R     | 24                 | 50                | -                       | 59,9        | -         | ✓                 | -9,28                                     |                                             | -0,88                                      | ✓                                               |
| LYSV NIB<br>F     | 20                 | 45                | -                       | 54,4        | -         | ✓                 | -3,14                                     | -7,19                                       | -0,91                                      | ✓                                               |
| LYSV NIB<br>R     | 20                 | 30                | -                       | 45,7        | -         | ✓                 | -9,25                                     |                                             | -0,16                                      | ✓                                               |
| LYSV P1<br>F      | 21                 | 38,1              | -                       | 52,2        | -         | ✓                 | -7,05                                     | -5,09                                       | 0,74                                       | ✓                                               |
| LYSV P1<br>R      | 22                 | 59,1              | -                       | 62,5        | -         | ✓                 | -4,95                                     |                                             | -0,61                                      | ✓                                               |
| LYSV 3' F         | 19                 | 57,9              | -                       | 57,2        | -         | ✓                 | -6,3                                      | -6,91                                       | -1,17                                      | ✓                                               |
| LYSV 3' R         | 21                 | 47,6              | -                       | 55          | -         | ✓                 | -3,61                                     |                                             | -0,31                                      | ✓                                               |
| LYSV 5' F         | 23                 | 52,2              | -                       | 56,5        | -         | ✓                 | -3,61                                     | -4,64                                       | 0,29                                       | ✓                                               |
| LYSV 5' R         | 22                 | 59,1              | -                       | 61,5        | -         | ✓                 | -3,61                                     |                                             | -0,49                                      | ✓                                               |

Megjegyzés: a táblázat BLAST analízis oszlopában az ✕-el jelölt sorokban a primer működőképességét BLAST analízissel nem tudtuk megerősíteni, míg a ✓-val jelölt sorokban a primer működőképessége BLAST analízissel igazolható.

7. táblázat: Az optimalizált Gupta- és Yoshida-féle primerkészlet

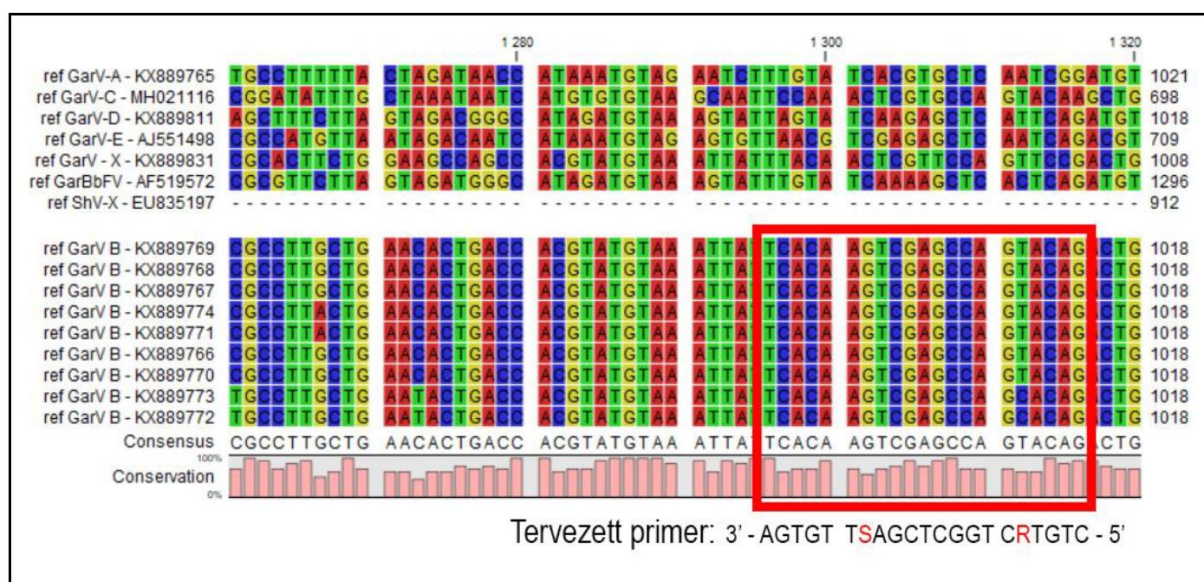
| Primer neve |                  | Primer helye | Szekvencia (5' - 3')            | Régió          | Vírus                    | Referencia izolátum(ok)                            | Amplikon hossza | Eredet                                     |
|-------------|------------------|--------------|---------------------------------|----------------|--------------------------|----------------------------------------------------|-----------------|--------------------------------------------|
| 1           | LYSV CP FULL F   | szenz        | GCC GGC GAC GAA CTA GAT G       | köpenyfehérje  | Leek yellow stripe virus | Optimalizálás a KP258216 azonosítójú minta alapján | ~ 860 bp        | (GUPTA <i>et al.</i> , 2017)<br><br>nyomán |
|             | LYSV CP FULL R   | antiszenz    | CTG CAT ATG TGC ACC ATC         |                |                          |                                                    |                 |                                            |
| 2           | LYSV HCPRO F     | szenz        | ACC AGA TCC GTC TTT SGT CA      | HC-Pro fehérje |                          |                                                    | ~ 1000 bp       |                                            |
|             | LYSV HCPRO R     | antiszenz    | CCT CGT CGC AGT CGT GTT CCT T   |                |                          |                                                    |                 |                                            |
| 3           | LYSV CI F        | szenz        | GCC ATT TGA CAA GTT GAA CAA C   | CI fehérje     |                          |                                                    | ~ 2800 bp       |                                            |
|             | LYSV CI R        | antiszenz    | GGC GTC GCT GAG ACT TTA AG      |                |                          |                                                    |                 |                                            |
| 4           | LYSV P3 F        | szenz        | GTT TGA TGA ATG TCA CTG TTT     | P3             |                          |                                                    | ~ 1000 bp       |                                            |
|             | LYSV P3 R        | antiszenz    | TTT GTC TGC GTT ATT CCT TTG     |                |                          |                                                    |                 |                                            |
| 5           | LYSV NIa F       | szenz        | AAG TTA TAT GAG AGT GAG TTA     | NIa fehérje    |                          |                                                    | ~ 1700 bp       |                                            |
|             | LYSV NIa R       | antiszenz    | ATA CAT CCA GTC CTT GTG GCC TGA |                |                          |                                                    |                 |                                            |
| 6           | LYSV NIb F       | szenz        | TGC TGG GAT GGA ATC ACA AT      | NIb fehérje    |                          |                                                    | ~ 1800 bp       |                                            |
|             | LYSV NIb R       | antiszenz    | CTC GTT TAA ATT TGT TTG TG      |                |                          |                                                    |                 |                                            |
| 7           | LYSV P1 F        | szenz        | ATC TCA AAA CCC ACT TAT GCA     | P1 fehérje     |                          |                                                    | ~ 1000 bp       |                                            |
|             | LYSV P1 R        | antiszenz    | GCA CGC AAC GAC CGT CCA ATC T   |                |                          |                                                    |                 |                                            |
| 8           | LYSV 3' F        | szenz        | GCA CAC AGC ACA TGA CGT G       | 3'-vég         |                          |                                                    | ~ 260 bp        |                                            |
|             | LYSV 3' R        | antiszenz    | CTC ACG CAC AAA TGA AAG CAG     |                |                          |                                                    |                 |                                            |
| 9           | LYSV 5' F        | szenz        | CTA TTC TGG ACC TTA CCG TAG CC  | 5' vég         |                          |                                                    | ~ 670 bp        |                                            |
|             | LYSV 5' R        | antiszenz    | CCT CGT CGC AGT CGT GTT CCT T   |                |                          |                                                    |                 |                                            |
| 10          | LYSV P1 – yshd F | szenz        | AAT CTC AAC ACA ACT TAT RC      | P1 fehérje     |                          |                                                    | ~ 1000 bp       | (YOSHIDA <i>et al.</i> , 2012)             |
|             | LYSV P1 – yshd R | antiszenz    | AGT ACG TTG CCT GCT CTG TAG     |                |                          |                                                    |                 |                                            |

#### 4.2.2.4. Fajspecifikus Allexivirus primerek

Az allexivírusok fajspecifikus meghatározásánál saját és szakirodalmi eredetű primereket is felhasználtunk (8. táblázat). A szakirodalmi primerek vizsgálata során (M8. melléklet, M33. táblázat) azonban arra jutottunk, hogy már a primerek BLAST analízissel való vizsgálata során sem minden esetben kapjuk vissza a célszerkezetet. Sok esetben a szakirodalmi primerek nem is illeszthetők rá azokra a referencia izolátumokra sem, amelyeket egyébként az adott primer felhasználásával publikáltak, továbbá a teljes genommal publikált egyéb, de ugyanazon fajba tartozó szekvenciákkal sem mutatnak azonosságot. A szakirodalmi eredetű, fajspecifikus allexivírus primerek kiválasztásakor ezért olyan primereket választottunk, amelyek:

- BLAST analízissel visszaadták a célszerkezetet.
- Az NCBI adatbázisában lévő referencia izolátumok közül minél többre ráilleszthetők voltak.
- Lehetőleg a célfajt valamely európai országban már leírták.
- Lehetőleg a célfajt szekvenciaanalízissel már korábban kimutattuk, így azt pozitív kontrollként alkalmazni tudjuk a primer működőképességének megerősítéséhez.

A szakirodalmi primerek felhasználása mellett saját primereket is terveztünk, melyek szerkesztésénél nagyban támaszkodtunk az NCBI adatbázisban megtalálható referencia izolátumokra (9. ábra). A primerek megtervezése során a 4.2.2.1. alfejezetben taglaltak betartására törekedtünk (8. táblázat), a felhasznált primereket a 9. táblázat tartalmazza.



9. ábra: A GarV-B fajon belül konzervált, de az Allexivirus nemzetségén belül variábilis régió

8. táblázat: A fajspecifikus, *Allexivirus* kimutatásra szolgáló primerkészletek tulajdonságai

| Név                | Hossz<br>bázis pár | G/C<br>arány<br>% | Oladási<br>hőmérséklet |             |           | BLAST<br>analízis | Homo<br>dimer<br><br>ΔG min<br>(kcal/mol) | Hetero<br>dimer<br><br>ΔG min<br>(kcal/mol) | Hajtó<br>forma<br><br>ΔG min<br>(kcal/mol) | Célszekvencia<br>specifitás<br><br>(mispriming) |
|--------------------|--------------------|-------------------|------------------------|-------------|-----------|-------------------|-------------------------------------------|---------------------------------------------|--------------------------------------------|-------------------------------------------------|
|                    |                    |                   | Min<br>°C              | Átlag<br>°C | Max<br>°C |                   |                                           |                                             |                                            |                                                 |
| GarV-B (for)       | 18                 | 66,7              | 55,2                   | 57,9        | 60,7      | ✗                 | -3,61                                     | -9,64                                       | -1,81                                      | ✓                                               |
| GarV-B (rev)       | 21                 | 54,8              | 56,5                   | 58,1        | 59,7      | ✓                 | -9,83                                     |                                             | 1,06                                       | ✓                                               |
| GarV-C (for) - brd | 23                 | 43,5              | 53,4                   | 55,7        | 58        | ✓                 | -10,41                                    | -12,11                                      | 1,84                                       | ✓                                               |
| GarV-C (rev) - brd | 15                 | 36                | -                      | 54,2        | -         | ✗                 | -5,38                                     |                                             | -0,24                                      | ✓                                               |
| GarV-D (for)       | 20                 | 57,5              | 57,6                   | 59          | 60,5      | ✓                 | -4,66                                     | -8,05                                       | -                                          | ✓                                               |
| GarV-D (rev)       | 20                 | 62,5              | 57,6                   | 59          | 60,5      | ✓                 | -7,63                                     |                                             | 0,18                                       | ✓                                               |
| GarV-X (for)       | 23                 | 52,2              | -                      | 57,5        | -         | ✓                 | -3,61                                     | -5,02                                       | 1,4                                        | ✓                                               |
| GarV-X (rev)       | 24                 | 50                | -                      | 57,2        | -         | ✓                 | -6,34                                     |                                             | -0,69                                      | ✓                                               |
| GarV-X (for) - prk | 19                 | 42,1              | -                      | 49,3        | -         | ✓                 | -4,62                                     | -5,95                                       | 1,62                                       | ✓                                               |
| GarV-X (rev) - prk | 20                 | 45                | -                      | 50,5        | -         | ✓                 | -6,75                                     |                                             | -0,54                                      | ✓                                               |

Megjegyzés: a BLAST analízis oszlopában az ✗-el jelölt sorokban a primer működőképességét BLAST analízissel nem tudtuk megerősíteni, míg a ✓-val jelölt sorokban a primer működőképessége BLAST analízissel igazolható. Célszekvencia specifitás: az NCBI adatbázisban rendelkezésre álló szekvenciaadatok vizsgálata alapján a célszekvencia 3000 bp környezetében a primer 3'-végén található utolsó 10 bp nem volt képes a nukleinsavhoz hibridizálni.

9. táblázat: *Allexivírusok fajspecifikus kimutatásához használt szakirodalmi és saját fejlesztésű primerek.*

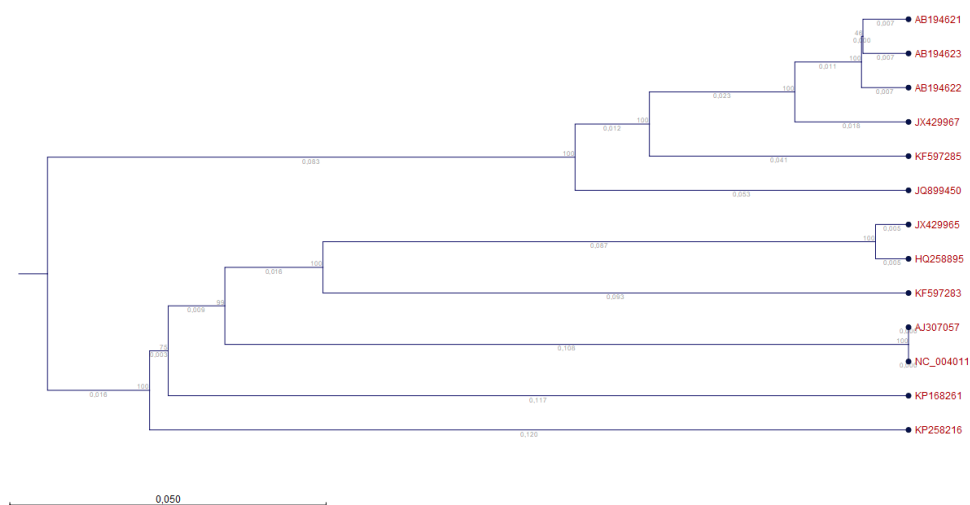
|   | Primer neve        | Primer helye | Szekvencia (5' - 3')              | Régió                      | Vírus          | Referencia izolátum(ok)                                                                                                                              | Amplikon hossza | Eredet                        |
|---|--------------------|--------------|-----------------------------------|----------------------------|----------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|-------------------------------|
| 1 | GarV-B (for)       | szenz        | CGG GAC ARG YGG TCA GAG           | ORF5<br>(CP fehérje)       | Garlic virus B | KM379144<br>MW854279<br>NC_025789<br>KM379144<br>JN019813<br>MN059151<br>MN059177<br>MN059153<br>KX889774<br>KX889771<br>KX889769<br>KX889766<br>... | ~ 910 bp        | saját                         |
|   | GarV-B (rev)       | antiszenz    | CTG TRC TGG CTC GAS TTG TGA       |                            |                | számú referencia izolátumok alapján tervezve                                                                                                         |                 |                               |
| 2 | GarV-C (for) - brd | szenz        | AGT GAT TTG SAM CCA TAY CAA GC    | ORF4-5<br>(p42-CP fehérje) | Garlic virus C | JQ899448.1<br>JQ899447.1<br>JN019814.1<br>AB010302.1                                                                                                 | ~ 1557 bp       | (BEREDA <i>et al.</i> , 2017) |
|   | GarV-C (rev) - brd | antiszenz    | TAG TAA TAT CAA CAA GCA TGG GTG T |                            |                |                                                                                                                                                      |                 |                               |
| 3 | GarV-D (for)       | szenz        | ACS AGC ACY CAA TCA CCA CG        | ORF5<br>(CP fehérje)       | Garlic virus D | MT279193<br>MN059392<br>MN059367<br>MN059367<br>MT294142<br>MK336967<br>...                                                                          | ~ 1050 bp       | saját                         |
|   | GarV-D (rev)       | antiszenz    | GGY CCC TCG TGT ATG ACA GC        |                            |                | számú referencia izolátumok alapján tervezve                                                                                                         |                 |                               |
| 4 | GarV-X (for)       | szenz        | GTC CAA GCA CAT CAT CTA TCC CG    | ORF5<br>(CP fehérje)       | Garlic virus X | MN059406<br>MN059403<br>MN059405<br>MN059402<br>MN059426<br>AJ292229<br>...                                                                          | ~ 860 bp        | saját                         |
|   | GarV-X (rev)       | antiszenz    | GAG AGC TAA AGA GTC GCT GAA TGG   |                            |                | számú referencia izolátumok alapján tervezve                                                                                                         |                 |                               |
| 5 | GarV-X (for) - prk | szenz        | GAT CGG AAC CAA GGA ATA A         | ORF5<br>(CP fehérje)       | Garlic virus X | NC_001800                                                                                                                                            | ~ 661 bp        | (PARK, 2006)                  |
|   | GarV-X (rev) - prk | antiszenz    | GAG TGG AAA CCA TAT TCG AG        |                            |                |                                                                                                                                                      |                 |                               |

#### 4.2.2.5. Saját LYSV primerkészlet

A szakirodalmi primerek vizsgálata során, ideértve a Gupta-féle primerkészletet is, arra jutottunk, hogy a már publikált primerek csak ritkán és részben illeszthetők rá az NCBI adatbázisban lévő LYSV izolátumok szekvenciaadataira, használhatóságuk *in silico* nem megerősíthető.

A saját fejlesztésű LYSV primerkészlet elkészítése során arra törekedtünk, hogy a primerek működőképessége minél jobban alátámasztható legyen a referencia izolátumok szekvenciaadataival. A primerkészlet fejlesztése során a KP258216, AB194623, AB194621, AB194622, JQ899450, JX429967, HQ258895, JX429965, KP168261, NC\_004011, AJ307057, KF597285, KF597283 szekvenciaadatok felhasználásával kerestük azokat a genomi régiókat, amelyekben a kiválasztott izolátumok nagyfokú azonosságot mutatnak. A referencia izolátumok vizsgálata során azok LYSV jellemzésére való reprezentativitását is ellenőriztük. A kiválasztott izolátumok között szerepelt brazil, japán, ausztrál, indiai, észak-amerikai és kínai is. Egyes izolátumok távolabbi, míg mások közeli rokonságot mutattak egymással a filogenetikai törzsfá alapján (10. ábra).

A primerek fejlesztése során a 4.2.2.1. alfejezetben taglaltak szerint jártunk el, azzal a szigorítással, hogy egyértelmű elvárásunk volt, hogy a primerek BLAST analízise során visszakapjuk a célszerkezetet. Ennek ellenére azt találtuk, hogy ez nem minden esetben valósult meg (10. táblázat). Ez a BLAST szolgáltatás sajátossága, ugyanis degenerált primerek BLAST analízise során megfigyelésünk szerint a szolgáltatás megbízhatósága csökken. Ugyanakkor, ha a primer degenerált nukleotidjait, a változékonnyal helyettesítjük, akkor a célszerkezetet a BLAST analízis során visszakapjuk. Az ezzel a módszerrel fejlesztett primerkészletet a 11. táblázat szemlélteti.



10. ábra: A saját LYSV primerkészlet fejlesztése során felhasznált referencia izolátumok rokonsági viszonyai filogenetikai törzsfán (1000 ismétléses bootstrap analízis, UPGMA módszerrel)

10. táblázat: A saját LYSV teljes genom kimutatásra szolgáló primerkészletek tulajdonságai

| Név          | Hossz<br>bázis pár | G/C<br>arány<br>% | Olvasási<br>hőmérséklet |             |           | BLAST<br>analízis | Homo<br>dimer                | Hetero<br>dimer              | Hajtú<br>forma               | Célszekvencia<br>specifitás<br>(mispriming) |
|--------------|--------------------|-------------------|-------------------------|-------------|-----------|-------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|---------------------------------------------|
|              |                    |                   | Min<br>°C               | Átlag<br>°C | Max<br>°C |                   | $\Delta G$ min<br>(kcal/mol) | $\Delta G$ min<br>(kcal/mol) | $\Delta G$ min<br>(kcal/mol) |                                             |
| LYSV1<br>FOR | 20                 | 50                | -                       | 56          | -         | ✓                 | -6,37                        | -6,37                        | -0,95                        | ✓                                           |
| LYSV1<br>REV | 20                 | 50                | 53,9                    | 56,7        | 59,5      | ✓                 | -13,19                       |                              | -0,1                         | ✓                                           |
| LYSV2<br>FOR | 16                 | 62,5              | 47,8                    | 53,6        | 59,7      | ✗                 | -3,59                        | -6,14                        | -                            | ✓                                           |
| LYSV2<br>REV | 20                 | 47,5              | 53,6                    | 54,4        | 55,1      | ✓                 | -10,94                       |                              | -2,05                        | ✓                                           |
| LYSV3<br>FOR | 18                 | 58,3              | 53,4                    | 57,5        | 62        | ✓                 | -7,92                        | -15,55                       | -0,22                        | ✓                                           |
| LYSV3<br>REV | 22                 | 52,3              | 53,4                    | 58,6        | 63,8      | ✓                 | -12,4                        |                              | 1,61                         | ✓                                           |
| LYSV4<br>FOR | 19                 | 50                | 47,5                    | 53          | 58,3      | ✓                 | -6,87                        | -5,4                         | 2,85                         | ✓                                           |
| LYSV4<br>REV | 18                 | 50                | 48,1                    | 50,4        | 52,6      | ✗                 | -9,75                        |                              | 1,11                         | ✓                                           |
| LYSV5<br>FOR | 22                 | 47,7              | 50,1                    | 56,1        | 62,2      | ✗                 | -8,53                        | -9,96                        | 2,44                         | ✓                                           |
| LYSV5<br>REV | 20                 | 50                | 50,7                    | 53,2        | 55,7      | ✓                 | -5,61                        |                              | 0,76                         | ✓                                           |
| LYSV6<br>FOR | 23                 | 37                | 50,4                    | 53          | 55,5      | ✓                 | -4,28                        | -6,69                        | 1,01                         | ✓                                           |
| LYSV6<br>REV | 17                 | 49                | 48                      | 52,6        | 57,6      | ✓                 | 12,07                        |                              | 0,96                         | ✓                                           |
| LYSV7<br>FOR | 17                 | 50                | 45,5                    | 48,9        | 52,3      | ✓                 | -3,73                        | -7,37                        | -                            | ✓                                           |
| LYSV7<br>REV | 19                 | 47,4              | -                       | 50,6        | -         | ✓                 | -3,29                        |                              | -0,68                        | ✓                                           |
| LYSV8<br>FOR | 19                 | 44,7              | 49,1                    | 49,9        | 50,8      | ✓                 | -3,9                         | -5,02                        | 1,69                         | ✓                                           |
| LYSV8<br>REV | 17                 | 52,9              | -                       | 50,6        | -         | ✗                 | -3,61                        |                              | 0,25                         | ✓                                           |

Megjegyzés: a BLAST analízis oszlopában az ✗-el jelölt sorokban a primer működőképességét BLAST analízissel nem tudtuk megerősíteni, míg a ✓-val jelölt sorokban a primer működőképessége BLAST analízissel igazolható. Célszekvencia specifitás: az NCBI adatbázisban rendelkezésre álló szekvenciaadatok vizsgálata alapján a célszekvencia 3000 bp környezetében a primer 3'-végén található utolsó 10 bp nem volt képes a nukleinsavhoz hibridizálni.

11. táblázat: A saját LYSV primerkészlet

|   | Primer neve | Primer helye | Szekvencia (5' - 3')           | Régió                        | Vírus                    | Referencia izolátum(ok)                                                                                                                                                                                          | Amplikon hossza | Eredet |
|---|-------------|--------------|--------------------------------|------------------------------|--------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|--------|
| 1 | LYSV1 FOR   | szenz        | ACC AGA TCC GTC TTT GGT CA     | P1 fehérje - HC-Pro          | Leek yellow stripe virus | KP258216<br>AB194623<br>AB194621<br>AB194622<br>JQ899450<br>JX429967<br>HQ258895<br>JX429965<br>KP168261<br>NC_004011<br>AJ307057<br>KF597285<br>KF597283<br>...<br>számú referencia izolátumok alapján tervezve | ~ 1600 bp       | saját  |
|   | LYSV1 REV   | antiszenz    | TKT GGG GRG ARA GRG G          |                              |                          |                                                                                                                                                                                                                  |                 |        |
| 2 | LYSV2 FOR   | szenz        | TKT GGG GRG ARA GRG G          | HC-Pro – P3 fehérje          |                          |                                                                                                                                                                                                                  | ~ 1500 bp       |        |
|   | LYSV2 REV   | antiszenz    | CAT TGC CCG TTY TTG CAA TC     |                              |                          |                                                                                                                                                                                                                  |                 |        |
| 3 | LYSV3 FOR   | szenz        | TGG CRM GAG CAR CCT TTG        | P3 – CI fehérje              |                          |                                                                                                                                                                                                                  | ~ 1800 bp       |        |
|   | LYSV3 REV   | antiszenz    | ACR CGC CAR CTA GMY TTY TCT G  |                              |                          |                                                                                                                                                                                                                  |                 |        |
| 4 | LYSV4 FOR   | szenz        | TRG GYA CRG GTG CWA ATA G      | CI fehérje                   |                          |                                                                                                                                                                                                                  | ~ 1450 bp       |        |
|   | LYSV4 REV   | antiszenz    | CCG GAY TTC TTY CCT TTC        |                              |                          |                                                                                                                                                                                                                  |                 |        |
| 5 | LYSV5 FOR   | szenz        | GGR GCY TTR GAR TGY ATG ATG T  | CI – NIa fehérje             |                          |                                                                                                                                                                                                                  | ~ 1350 bp       |        |
|   | LYSV5 REV   | antiszenz    | GAT WCC ATC CCA ACA RCT YC     |                              |                          |                                                                                                                                                                                                                  |                 |        |
| 6 | LYSV6 FOR   | szenz        | CAA ACR AAR AGC ATM TCA AGT GT | NIa – NIb fehérje            |                          |                                                                                                                                                                                                                  | ~ 1650 bp       |        |
|   | LYSV6 REV   | antiszenz    | TCR ATC ATD GCT GCR CA         |                              |                          |                                                                                                                                                                                                                  |                 |        |
| 7 | LYSV7 FOR   | szenz        | YTG ATG GAR AGY AAG GG         | köpenyfehérje                |                          |                                                                                                                                                                                                                  | ~ 1900 bp       |        |
|   | LYSV7 REV   | antiszenz    | GCT CTA ACT GGT GTT CTT G      |                              |                          |                                                                                                                                                                                                                  |                 |        |
| 8 | LYSV8 FOR   | szenz        | YTT GGA CWA TGA TGG ATG G      | köpenyfehérje – 3' UTR régió |                          |                                                                                                                                                                                                                  | ~ 1400 bp       |        |
|   | LYSV8 REV   | antiszenz    | GTT TTC CCA GTC ACG AC         |                              |                          |                                                                                                                                                                                                                  |                 |        |

#### 4.2.3. Nukleinsav kivonás

A víruskimutatási protokoll első lépése a nukleinsav kivonás. A folyamat célja, hogy a levélben található összes növényi és vírus eredetű ribonukleinsavat kivonjuk és elkülönítsük a többi sejtalkotótól. Az összribonukleinsav kivonáshoz a Spektrum Plant Total RNA Kitet (Sigma-Aldrich) és a GeneJET Plant RNA Purification Mini Kitet (ThermoFisher Scientific) használtuk. A teljes ribonukleinsav kivonást a gyártó utasításait alapul véve végeztük el.

#### 4.2.4. cDNS szintézis

A PCR reakció során felhasznált *Taq* polimeráz egy DNS-függő DNS-polimeráz enzim, ezért az amplifikációs folyamat sikerességéhez az RNS vírusgenomról cDNS-t kell készíteni. Ez a folyamat a reverz transzkripció, amelyet egy RNS-függő DNS-polimeráz enzimmel, a reverz transzkriptázzal végeztünk.

A reakcióhoz először eltérő ng/μl koncentrációjú TRNS-t és antiszenz primert mértünk össze, majd ezt 12,5 μl végtérfogatra, nukleázmentes vízzel egészítettük ki. Az elegyet 65 °C-on, 5 percig inkubáltuk, majd tíz percig jégen hűtöttük, mely alatt a 12. táblázatban látható elegyet állítottuk össze és mértük a mintákhoz.

12. táblázat: cDNS szintézis reakcióelegye

| Összetevők                                 | Mennyiségek           |
|--------------------------------------------|-----------------------|
| TRNS                                       | 1500 ng               |
| 100 pmol/μl antiszenz primer               | 1 μl                  |
| nukleázmentes víz                          | 12,5 μl végtérfogatra |
| 65 °C - 5 perc                             |                       |
| 5x RT puffer közeg                         | 4 μl                  |
| 10 mM-os dNTP nukleotidok                  | 2 μl                  |
| 200 u RevertAid reverz transzkriptáz enzim | 1 μl                  |
| 20 u RiboLock ribonukleáz inhibitor        | 0,5 μl                |

A reverz transzkripció 42 °C-on, egy órán keresztül folyt, végezetül 70 °C-on 10 percig inkubáltuk a mintákat, eliminálva ezzel a reverz transzkriptáz enzimet.

#### 4.2.5. PCR reakció

A PCR-t Applied Biosystem GeneAmp 9700, valamint az Eppendorf Mastercycler Nexus Gradient típusú PCR készülékekkel végeztük. A PCR-hez a 13. táblázat összetevőit mértük össze 25 µl végtérfogatra:

13. táblázat: A PCR készítéshez összemért alapanyagok mennyisége

| Összetevők                                                 | Mennyiségek |
|------------------------------------------------------------|-------------|
| DreamTaq Green PCR Master Mix<br>(ThermoFisher Scientific) | 12,5 µl     |
| nukleázmentes víz                                          | 10 µl       |
| 20 pmol/µl antiszenz primer                                | 0,5 µl      |
| 20 pmol/µl szenz primer                                    | 0,5 µl      |
| cDNS                                                       | 1,5 µl      |

A HaPoty, HaCarla, HaAllexi és M4 primerkészlet, illetve az allexivírusok fajspecifikus kimutatását célzó primerkészlet alkalmazásakor hagyományos PCR eljárást használtunk (14. és 16. táblázat). A Gupta- és Yoshida-féle primerkészlet, illetve a saját fejlesztésű LYSV primerkészlet alkalmazásakor a hagyományos PCR eljárás mellett touchdown-PCR (td-PCR) technikát is alkalmaztunk (15. és 17. táblázat).

A td-PCR egy olyan speciális PCR kimutatási módszer, melynek elsődleges célja növelni a PCR reakció specifitását. A td-PCR a polimeráz láncreakció elvén alapul, azonban attól a hőfokok ciklusonkénti változásában tér el. A td-PCR a ciklus anellációs hőmérsékletét magasabbról indítja, majd ciklusonként 1 °C-kal csökkenti. A primer a magasabb hőmérsékleten nagyobb specifitással tapad fel a célszekvenciára, így a ciklusok ismétlődése során ezek a specifikusabb fragmentumok amplifikálódnak nagyobb mennyiségben. Hátránya, hogy a rosszul beállított td-PCR esetén számos aspecifikus terméket kaphatunk.

Célunk az volt, hogy minél több szekvenciaadatra tegyünk szert a 23A LYSV izolátumból, azonban a primerek optimalizációja és tervezése során nagyobb részt csak szakirodalmi adatokra és az NCBI adatbázisba feltöltött referencia szekvenciákra támaszkodhattunk, ezért a td-PCR jó lehetőséget biztosított a részben ismeretlen nukleotid szekvenciák kimutatási pontosságának növelésére, ugyanakkor az alkalmazott, széles hőmérsékleti tartomány növelte az aspecifikus termékek megjelenésének lehetőségét is (*mispriming*). Ennek kiküszöbölése érdekében három különböző td-PCR protokollal dolgoztunk mindkét esetben (15. és 17. táblázat).

14. táblázat: A HaPoty, HaCarla és HaAllexi primerkészlethez alkalmazott PCR protokoll

|          | Elődenaturálás                 |       | Denaturáció      |        | Anelláció   |        | Elongáció   |       | Utóelongáció                   |        | Inkubáció   |     |
|----------|--------------------------------|-------|------------------|--------|-------------|--------|-------------|-------|--------------------------------|--------|-------------|-----|
|          | Hőmérséklet                    | Idő   | Hőmérséklet      | Idő    | Hőmérséklet | Idő    | Hőmérséklet | Idő   | Hőmérséklet                    | Idő    | Hőmérséklet | Idő |
|          | <i>Cikluson kívüli szakasz</i> |       | <i>40 ciklus</i> |        |             |        |             |       | <i>Cikluson kívüli szakasz</i> |        |             |     |
| HaPoty   | 95 °C                          | 3 min | 95 °C            | 30 sec | PCR - 50 °C | 30 sec | 72 °C       | 2 min | 72 °C                          | 10 min | 4 °C        | ∞   |
| M4       |                                |       |                  |        |             |        |             |       |                                |        |             |     |
| HaCarla  |                                |       |                  |        |             |        |             |       |                                |        |             |     |
| M4       |                                |       |                  |        |             |        |             |       |                                |        |             |     |
| HaAllexi |                                |       |                  |        |             |        |             |       |                                |        |             |     |
| M4       |                                |       |                  |        |             |        |             |       |                                |        |             |     |

15. táblázat: A Gupta- és Yoshida-féle primerkészlethez alkalmazott PCR és td-PCR protokollok

| Elődenaturálás   |                         |       | Denaturáció |        | Anelláláció                                                                      |        | Elongáció   |       | Utóelongáció            |        | Inkubáció   |     |
|------------------|-------------------------|-------|-------------|--------|----------------------------------------------------------------------------------|--------|-------------|-------|-------------------------|--------|-------------|-----|
|                  | Hőmérséklet             | Idő   | Hőmérséklet | Idő    | Hőmérséklet                                                                      | Idő    | Hőmérséklet | Idő   | Hőmérséklet             | Idő    | Hőmérséklet | Idő |
|                  | Cikluson kívüli szakasz |       | 40 ciklus   |        |                                                                                  |        |             |       | Cikluson kívüli szakasz |        |             |     |
| LYSV CP FULL F   | 95 °C                   | 3 min | 95 °C       | 30 sec | PCR - 55 °C<br>td-PCR - 65 > 48 °C<br>td-PCR - 60 > 45 °C<br>td-PCR - 52 > 40 °C | 30 sec | 72 °C       | 2 min | 72 °C                   | 10 min | 4 °C        | ∞   |
| LYSV CP FULL R   |                         |       |             |        |                                                                                  |        |             |       |                         |        |             |     |
| LYSV HCPRO F     |                         |       |             |        |                                                                                  |        |             |       |                         |        |             |     |
| LYSV HCPRO R     |                         |       |             |        |                                                                                  |        |             |       |                         |        |             |     |
| LYSV CI F        |                         |       |             |        |                                                                                  |        |             |       |                         |        |             |     |
| LYSV CI R        |                         |       |             |        |                                                                                  |        |             |       |                         |        |             |     |
| LYSV P1 F        |                         |       |             |        |                                                                                  |        |             |       |                         |        |             |     |
| LYSV P1 R        |                         |       |             |        |                                                                                  |        |             |       |                         |        |             |     |
| LYSV 3' F        |                         |       |             |        |                                                                                  |        |             |       |                         |        |             |     |
| LYSV 3' R        |                         |       |             |        |                                                                                  |        |             |       |                         |        |             |     |
| LYSV 5' F        |                         |       |             |        |                                                                                  |        |             |       |                         |        |             |     |
| LYSV 5' R        |                         |       |             |        |                                                                                  |        |             |       |                         |        |             |     |
| LYSV P3 F        |                         |       |             |        |                                                                                  |        |             |       |                         |        |             |     |
| LYSV P3 R        |                         |       |             |        |                                                                                  |        |             |       |                         |        |             |     |
| LYSV NIa F       |                         |       |             |        |                                                                                  |        |             |       |                         |        |             |     |
| LYSV NIa R       |                         |       |             |        |                                                                                  |        |             |       |                         |        |             |     |
| LYSV NIb F       |                         |       |             |        |                                                                                  |        |             |       |                         |        |             |     |
| LYSV NIb R       |                         |       |             |        |                                                                                  |        |             |       |                         |        |             |     |
| LYSV P1 – yshd F | PCR - 50 °C             |       |             |        |                                                                                  |        |             |       |                         |        |             |     |
| LYSV P1 – yshd R |                         |       |             |        |                                                                                  |        |             |       |                         |        |             |     |

16. táblázat: Az allexivírusok fajspecifikus kimutatásához használt primereknél alkalmazott PCR protokollok

| Elődenaturálás     |                         |       | Denaturálás |        | Anelláció   |     | Elongáció   |       | Utóelongáció            |       | Inkubáció   |      |   |
|--------------------|-------------------------|-------|-------------|--------|-------------|-----|-------------|-------|-------------------------|-------|-------------|------|---|
|                    | Hőmérséklet             | Idő   | Hőmérséklet | Idő    | Hőmérséklet | Idő | Hőmérséklet | Idő   | Hőmérséklet             | Idő   | Hőmérséklet | Idő  |   |
|                    | Cikluson kívüli szakasz |       | 40 ciklus   |        |             |     |             |       | Cikluson kívüli szakasz |       |             |      |   |
| GarV-B (for)       | 95 °C                   | 3 min | 95 °C       | 30 sec | PCR - 57 °C |     | 30 sec      | 72 °C | 2 min                   | 72 °C | 10 min      | 4 °C | ∞ |
| GarV-B (rev)       |                         |       |             |        |             |     |             |       |                         |       |             |      |   |
| GarV-C (for) - brd |                         |       |             |        |             |     |             |       |                         |       |             |      |   |
| GarV-C (rev) - brd |                         |       |             |        |             |     |             |       |                         |       |             |      |   |
| GarV-D (for)       |                         |       |             |        |             |     |             |       |                         |       |             |      |   |
| GarV-D (rev)       |                         |       |             |        |             |     |             |       |                         |       |             |      |   |
| GarV-X (for)       |                         |       |             |        |             |     |             |       |                         |       |             |      |   |
| GarV-X (rev)       |                         |       |             |        |             |     |             |       |                         |       |             |      |   |
| GarV-X (for) - prk |                         |       |             |        |             |     |             |       |                         |       |             |      |   |
| GarV-X (rev) - prk |                         |       |             |        |             |     |             |       |                         |       |             |      |   |

17. táblázat: A saját LYSV primerkészletnél alkalmazott PCR és td-PCR protokollok

| Elődenaturálás |                         |       | Denaturálás |        | Anelláció           |        | Elongáció   |       | Utóelongáció            |        | Inkubáció   |     |
|----------------|-------------------------|-------|-------------|--------|---------------------|--------|-------------|-------|-------------------------|--------|-------------|-----|
|                | Hőmérséklet             | Idő   | Hőmérséklet | Idő    | Hőmérséklet         | Idő    | Hőmérséklet | Idő   | Hőmérséklet             | Idő    | Hőmérséklet | Idő |
|                | Cikluson kívüli szakasz |       | 40 ciklus   |        |                     |        |             |       | Cikluson kívüli szakasz |        |             |     |
| LYSV1 FOR      | 95 °C                   | 3 min | 95 °C       | 30 sec | PCR - 50 °C         | 30 sec | 72 °C       | 2 min | 72 °C                   | 10 min | 4 °C        | ∞   |
| LYSV1 REV      |                         |       |             |        | td-PCR - 52 > 40 °C |        |             |       |                         |        |             |     |
| LYSV2 FOR      |                         |       |             |        | td-PCR - 65 > 48 °C |        |             |       |                         |        |             |     |
| LYSV2 REV      |                         |       |             |        | PCR - 50 °C         |        |             |       |                         |        |             |     |
| LYSV3 FOR      |                         |       |             |        | td-PCR - 65 > 48 °C |        |             |       |                         |        |             |     |
| LYSV3 REV      |                         |       |             |        | PCR - 50 °C         |        |             |       |                         |        |             |     |
| LYSV4 FOR      |                         |       |             |        | td-PCR - 65 > 48 °C |        |             |       |                         |        |             |     |
| LYSV4 REV      |                         |       |             |        | PCR - 48 °C         |        |             |       |                         |        |             |     |
| LYSV5 FOR      |                         |       |             |        | td-PCR - 60 > 45 °C |        |             |       |                         |        |             |     |
| LYSV5 REV      |                         |       |             |        | PCR - 50 °C         |        |             |       |                         |        |             |     |
| LYSV6 FOR      |                         |       |             |        | td-PCR - 65 > 48 °C |        |             |       |                         |        |             |     |
| LYSV6 REV      |                         |       |             |        | PCR - 48 °C         |        |             |       |                         |        |             |     |
| LYSV7 FOR      |                         |       |             |        | td-PCR - 52 > 40 °C |        |             |       |                         |        |             |     |
| LYSV7 REV      |                         |       |             |        | td-PCR - 60 > 45 °C |        |             |       |                         |        |             |     |
| LYSV8 FOR      |                         |       |             |        | td-PCR - 65 > 48 °C |        |             |       |                         |        |             |     |
| LYSV8 REV      |                         |       |             |        | PCR - 50 °C         |        |             |       |                         |        |             |     |
|                |                         |       |             |        | td-PCR - 65 > 48 °C |        |             |       |                         |        |             |     |

#### 4.2.6. Gélből izolálás

A PCR-t követő gélelektroforézis során 1%-os, GelRed tartalmú TBE agarózgélben (1 g agaróz, 100 ml 1%-os TBE puffer, 10 µl GelRed), UV fény segítségével tettük láthatóvá a PCR-terméket. A primertervezés során meghatározott méretű amplikont a gélből steril szikével kivágtuk, majd a High Pure PCR Product Purification Kit-tel (Roche) tisztítottuk a gyártó utasításai szerint. A szekvenciaanalízishez szükséges tisztított nukleinsavat steril csövekbe mértük össze, majd Hollandiába szállítottuk, ahol a Barcode Sequencing szolgáltatással megtörtént a PCR-termék nukleotid sorrendjének meghatározása.

#### 4.2.7. Szekvenciaanalízis, BLAST analízis, filogenetikai törzsfák

A szekvenciaanalízis eredményeinek pontosságát a Chromas Lite nevű program felhasználásával ellenőriztük, a BaseClear által rendelkezésünkre bocsátott kromatogram alapján. Amennyiben a kromatogram nem volt egyértelmű, úgy a szekvenciaanalízis során degeneráltan hagytunk helyeket mi is változatlanul hagytuk. Az így kijavított szekvencia adatokat az NCBI BLAST analízis szolgáltatásának segítségével hasonlítottuk össze a nemzetközi adatbázisban található izolátumok nukleotid sorrendjével. Az így kapott rokonsági viszonyokat alapul véve választottuk ki a filogenetikai törzsfá megrajzolásához szükséges referencia izolátumokat, melyeket a CLC Sequence Viewer 7.0 bioinformatikai szoftver segítségével rajzoltunk meg, UPGMA módszerrel, Jukes-Cantor technikával, 1000 ismétléses bootstrap analízist alkalmazva.

#### 4.2.8. Mesterséges inokuláció

##### 4.2.8.1. *Mesterséges fertőzés LYSV izolátummal*

Az LYSV-val történő mesterséges fertőzéshez *Allium porrum* 'Lincoln' vírusmentes póréhagyma magokat, valamint *Allium sativum* 'Makói Tavaszi' certifikált vetőgerezdeket hajtattunk a Növénykórtani Tanszék üvegházában. A vetőgerezdeket hármassával, steril tőzeggel feltöltött, 25 cm átmérőjű cserépbe duggattuk. A mesterséges fertőzésbe 8-8 növényt vontunk be, melyek vírusmentességéről a mesterséges fertőzést megelőzően RT-PCR vizsgálattal bizonyosodtunk meg. Az előzetes vírustesztelésre 4-5 leveles állapotban került sor. Az alsóbb levélemeletekhez tartozó, kifejtett leveleket az alapi részüknél steril szikével távolítottuk el. Amennyiben tünetes levelet találtunk egy növényen, úgy onnan is vettünk mintát, továbbá kerültük a túl fiatal levélrészeket a hamis negatív eredmény elkerülése érdekében.

A TRNS kivonást követően ellenőriztük a növények potyvírustól való mentességét a HaPoty és M4 primerpár segítségével. A potyvírossal fertőzött, vagy nem egyértelmű

eredményeket mutató mintákat a további kísérletekből kizártuk. A cserepeket az esetleges vektorok elleni védekezés miatt vektorhálójával fedtük.

A mesterséges fertőzéshez a 23A mintát használtuk, melynek LYSV fertőzöttségéről korábban már megbizonyosodtunk. A fertőzött levélszövetet 0,03 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, és 0,2% Na-dietil-ditio-karbamátot (DIECA) (1:4 tömeg/térfogat) tartalmazó inokuláló puffer jelenlétében homogenáltuk (LOT *et al.*, 1998). Az inokuláláshoz cellitet használtunk abrazívumként. A dörzsmozsárban homogenált mintát és inokuláló puffert a mozsártörővel a levél felületére kentük.

A vizsgálatok során nyolc póréhagyma és nyolc fokhagyma növényt fertőztünk. A mesterséges fertőzéssel létrehozott két sorozatot PotyAP1-8 (**poty**vírussal fertőzött *Allium porrum*) és PotyAS1-8 (**poty**vírussal fertőzött *Allium sativum*) jelzéssel láttuk el (18. táblázat). Növényenként két-két különböző levélen végeztük el az inokulációt, a fertőzött leveleket megjelöltük. A kontroll növények fertőzéséhez desztillált vizet és cellitet alkalmaztunk. A fertőzés időpontjától számítva 14 nap múlva végeztük el újra a vírusesztelést.

A fertőzött két levél fölött elhelyezkedő első levélemelet levelének a tőhöz közelebb eső, alsó egy harmadának középső részéből újra mintát vettünk. Ezt azért így határoztuk meg, mert el akartuk kerülni azt, hogy az inokulált levélről történő mintavétel miatt esetleg hamis pozitív, vagy a túl fiatal levélrészekről történő mintavétel miatt hamis negatív eredményt kapjunk.

A HaPoty és M4 primerpárral ellenőriztük a fertőzés megtörténtét. Sikeres inokuláció esetén további szövetmintát vettünk a növényekből, melyeket -70 °C-on tároltunk további felhasználásig. A kísérletek végrehajtásánál mindig ügyeltünk a higiéniai előírások betartására, valamint az eszközök fertőtlenítésére, ezzel minimalizálva a minták közötti keresztfertőzések kialakulásának esélyét.

#### 4.2.8.2. *Kevert Carlavirus fertőzés létrehozásának provokációs kísérlete*

Korábbi eredményeinkben azt találtuk, hogy a carlavírussal fertőzött minták közül hiányoznak azok, amelyek mindkét fajjal fertőzöttek. Ezt vizsgálandó provokációs kísérletet állítottunk be, amely során a kísérleti növényeket olyan inokulummal fertőztük mesterségesen, amely mindkét vírusfajt tartalmazta.

A vizsgálatához 40 növényt hajtattunk *Allium sativum* 'Makói Tavaszi' certifikált vetőgerezdekből. A mintákat 3-4 leveles korukban virológiai vizsgálatnak vetettük alá a HaPoty és M4, valamint a HaCarla és M4 primerpárokkal. A mintavétel során a 4.2.8.1. alfejezetben taglaltak szerint jártunk el. A potyvírussal fertőzött mintákat az esetlegesen nem kívánt szinergista hatásának kiszűrése érdekében a kísérletből kizártuk. Kizártuk továbbá a carlavírussal már fertőzött mintákat is, hogy a mesterséges fertőzési vizsgálatunk ne keveredjen egy esetleges

felülfertőzéses vizsgálat eredményeivel. A maradék, vírusmentesnek ítélt növény közül kiválasztottuk a legegészségesebbnek tűnő húszat.

A mesterséges fertőzéshez négy olyan mintát választottunk inokulumnak, melyeknek a GCLV és SLV fertőzöttségéről korábban már megbizonyosodtunk a HaCarla és M4 primerpár segítségével. Az így kiválasztott két GCLV fertőzött minta a 39A és a 37A volt, a két SLV fertőzött minta pedig a 10A és a 9B. A fertőzéshez azért két-két mintát választottunk mindkét vírusfaj esetében, hogy egy esetlegesen hamis pozitív, előzetes vírusdiagnosztika miatt ne legyen a fertőzési kísérlet értékelhetetlen.

A fertőzés során a négy különböző jellel ellátott levélmintát egyazon dörzsmozsárban homogenáltuk inokuláló puffer jelenlétében, majd abrazívum segítségével a komplex fertőzést hordozó inokulummal fertőztünk. Amennyiben a két-két mintát külön dörzsöltük volna szét és inokuláljuk, úgy egyedi fertőzés létrejöttének esetén felmerült volna a kérdés, hogy vajon azért nem jött létre kevert fertőzés, mert a két inokuláció közül az egyik sikertelen volt, vagy azért, mert a növényi szövetben a kevert fertőzés nem volt képes kialakulni. A két vírusfajjal történő egyidejű inokuláció egyértelműbb eredményt biztosított ebben a tekintetben.

Az inokulációt minden esetben egy növény két különböző levelén hajtottuk végre, mintát pedig a 4.2.8.1. alfejezetben ismertetett módon vettünk. Az így fertőzött húsz darab fokhagyma növényekből hoztuk létre a CarlaAS1-20 (**carla**vírussal fertőzött *Allium sativum*) sorozatot (18. táblázat). A mesterséges fertőzés eredményességét a HaCarla és M4 primerpárral ellenőriztük.

18. táblázat: Mesterségesen fertőzött póréhagyma és fokhagymaminták

| Fertőzött minta neve | Fertőzött növényi anyag               | Fertőzéshez felhasznált minta | Vírus átvitele |
|----------------------|---------------------------------------|-------------------------------|----------------|
| PotyAP1              | <i>Allium porrum</i> 'Lincoln'        | 23A                           | LYSV           |
| PotyAP2              | <i>Allium porrum</i> 'Lincoln'        | 23A                           | LYSV           |
| PotyAP3              | <i>Allium porrum</i> 'Lincoln'        | 23A                           | LYSV           |
| PotyAP4              | <i>Allium porrum</i> 'Lincoln'        | 23A                           | LYSV           |
| PotyAP5              | <i>Allium porrum</i> 'Lincoln'        | 23A                           | LYSV           |
| PotyAP6              | <i>Allium porrum</i> 'Lincoln'        | 23A                           | LYSV           |
| PotyAP7              | <i>Allium porrum</i> 'Lincoln'        | 23A                           | LYSV           |
| PotyAP8              | <i>Allium porrum</i> 'Lincoln'        | 23A                           | LYSV           |
| PotyAS1              | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | 23A                           | LYSV           |
| PotyAS2              | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | 23A                           | LYSV           |
| PotyAS3              | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | 23A                           | LYSV           |
| PotyAS4              | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | 23A                           | LYSV           |
| PotyAS5              | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | 23A                           | LYSV           |
| PotyAS6              | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | 23A                           | LYSV           |
| PotyAS7              | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | 23A                           | LYSV           |
| PotyAS8              | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | 23A                           | LYSV           |
| CarlaAS1             | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | 39A, 37A<br>10A, 9B           | GCLV<br>SLV    |
| CarlaAS2             | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | 39A, 37A<br>10A, 9B           | GCLV<br>SLV    |
| CarlaAS3             | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | 39A, 37A<br>10A, 9B           | GCLV<br>SLV    |
| CarlaAS4             | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | 39A, 37A<br>10A, 9B           | GCLV<br>SLV    |
| CarlaAS5             | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | 39A, 37A<br>10A, 9B           | GCLV<br>SLV    |
| CarlaAS6             | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | 39A, 37A<br>10A, 9B           | GCLV<br>SLV    |
| CarlaAS7             | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | 39A, 37A<br>10A, 9B           | GCLV<br>SLV    |
| CarlaAS8             | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | 39A, 37A<br>10A, 9B           | GCLV<br>SLV    |
| CarlaAS9             | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | 39A, 37A<br>10A, 9B           | GCLV<br>SLV    |
| CarlaAS10            | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | 39A, 37A<br>10A, 9B           | GCLV<br>SLV    |
| CarlaAS11            | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | 39A, 37A<br>10A, 9B           | GCLV<br>SLV    |
| CarlaAS12            | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | 39A, 37A<br>10A, 9B           | GCLV<br>SLV    |
| CarlaAS13            | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | 39A, 37A<br>10A, 9B           | GCLV<br>SLV    |
| CarlaAS14            | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | 39A, 37A<br>10A, 9B           | GCLV<br>SLV    |
| CarlaAS15            | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | 39A, 37A<br>10A, 9B           | GCLV<br>SLV    |
| CarlaAS16            | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | 39A, 37A<br>10A, 9B           | GCLV<br>SLV    |
| CarlaAS17            | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | 39A, 37A<br>10A, 9B           | GCLV<br>SLV    |
| CarlaAS18            | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | 39A, 37A<br>10A, 9B           | GCLV<br>SLV    |
| CarlaAS19            | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | 39A, 37A<br>10A, 9B           | GCLV<br>SLV    |
| CarlaAS20            | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | 39A, 37A<br>10A, 9B           | GCLV<br>SLV    |

## 5. EREDMÉNYEK ÉS AZOK MEGVITATÁSA

### 5.1. A PCR vizsgálatok eredményei, vírusfajok- és nemzetségek kimutatása

Munkám során 45 darab, különböző helyekről származó fokhagyma vírusfertőzöttségét vizsgáltam meg RT-PCR eljárással potyvírus, carlavírus és allexivírus fertőzöttség szempontjából. A vírusfertőzöttnak ítélt minták esetében 31 alkalommal szekvenciaanalízis is készült, melyekből filogenetika törzsfát is készítettünk.

A magyarországi 23A LYSV izolátumot számos további szempontból is vizsgáltam, a genom minél szélesebbkörű megismerése érdekében. Ehhez egy a szakirodalomból kölcsönzött és általam optimalizált szakirodalmi eredetű primerkészletet, továbbá egy általam tervezett, szintén a teljes genom megismerését célzó primerkészletet használtam fel. Ehhez több hagyományos PCR és td-PCR protokollt is alkalmaztam.

A magyarországi LYSV izolátummal végzett mesterséges fertőzési kísérlet során még 8 fokhagyma és 8 póréhagyma minta virológiai vizsgálatát végeztem el RT-PCR módszerrel. A carlavírusokkal végzett, fajok közötti kevert fertőzés létrehozását célzó provokációs kísérletben további 20 fokhagymamintát vizsgáltam meg, szintén RT-PCR eljárással.

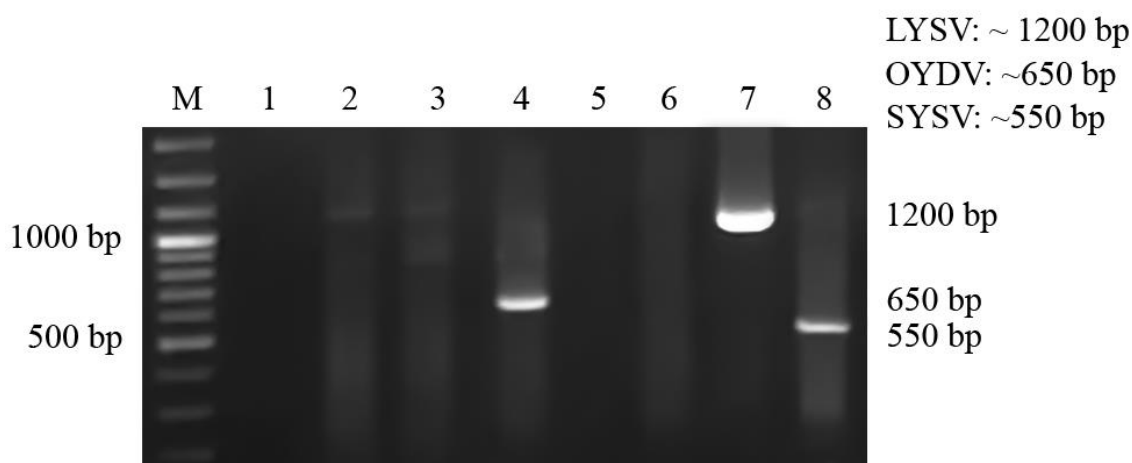
A dolgozatban összesen 81 különböző növényminta virológiai vizsgálatára került sor, mely során a LYSV, GCLV, SLV, GarV-B, GarV-C, GarV-D és GarV-X vírusfajok kimutatására történt meg RT-PCR eljárással, majd ezeket az eredményeket szekvenciaanalízis útján is megerősítettük.

A kutatásban 52 primer felhasználására került sor, melyből 14 szenz és 11 antiszenz primer saját fejlesztésű, 2 szenz primer és 3 antiszenz primer szakirodalmi eredetű, valamint további 10 primerpár szakirodalmi eredetű, de általunk optimalizált.

#### 5.1.1. Eredmények a HaPoty, HaCarla és HaAllexi primerkészlettel

A HaPoty és M4 primerpár felhasználásával kapott gélképek alapján elmondható, hogy a fokhagymát fertőző valamennyi ismert potyvírus fajt sikeresen kimutattuk a vizsgált mintákból (M6. melléklet M32. táblázat), a LYSV vírusfaj jelenlétét szekvenciaadatokkal is megerősítettük (M2. melléklet M1. táblázat). A saját tervezésű HaPoty szenz primer segítségével, az M4 antiszenz primer jelenlétében a fajok jól elkülöníthetők a PCR-termék hossza alapján.

Az RT-PCR-t követő gélelektroforézis gélképen a LYSV fertőzöttséget mutató jelet 1200 bp környékén láthatjuk a 7. számú zsebben. Az OYDV fajhoz tartozó PCR-termék hossza 650 bp körül a 4. számú zsebben látható, míg a SYSV faj PCR-termékének hossza 550 bp körül alakult a 8. számú zsebben. Az ábrán M betűvel jelöltük a markert, az ábra bal oldalán a marker által jelölt bp hosszúságok, a jobb oldalán pedig a PCR-termékekhez tartozó bp hosszúságok láthatók (11. ábra).



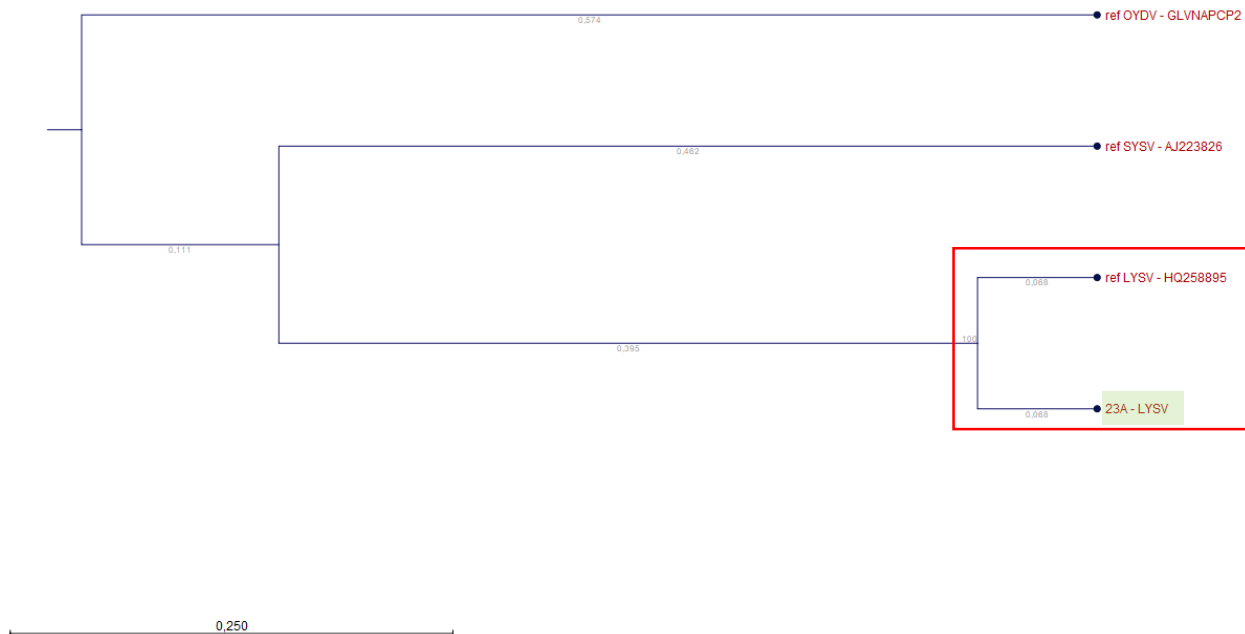
11. ábra: Néhány fokhagymaminta HaPoty és M4 primerpárral végzett RT-PCR analízise

A HaPoty és M4 primerpárral vizsgált, összesen 45 fokhagymaminta közül 30 db volt fertőzött a nemzetség legalább egy fájával, (66,6%) 11 minta esetében pedig kevert fertőzöttséget azonosítottunk (26,6%). A kínai minták esetében kizárólag nemzetségen belüli komplex fertőzéssel találkoztunk, a spanyol minták szintén jelentős potyvírus fertőzöttséget mutattak. Ez aggasztó lehet, ugyanis Kína és Spanyolország a világ legnagyobb előállítói közé tartoznak.

A magyarországi minták vírusfertőzöttsége is igen magas volt, a 25 db magyar eredetű mintából 17 db fertőzött volt a nemzetség valamelyik fájával (68%), ebből 5 mintában a fertőzés kevert formában volt jelen (20%). A történelmi és nemzetgazdasági jelentőségű makói termőtájról származó mintákból egyedi és kevert fertőzések formájában valamennyi vizsgált vírusfajt kimutattuk (M6. melléklet M32. táblázat).

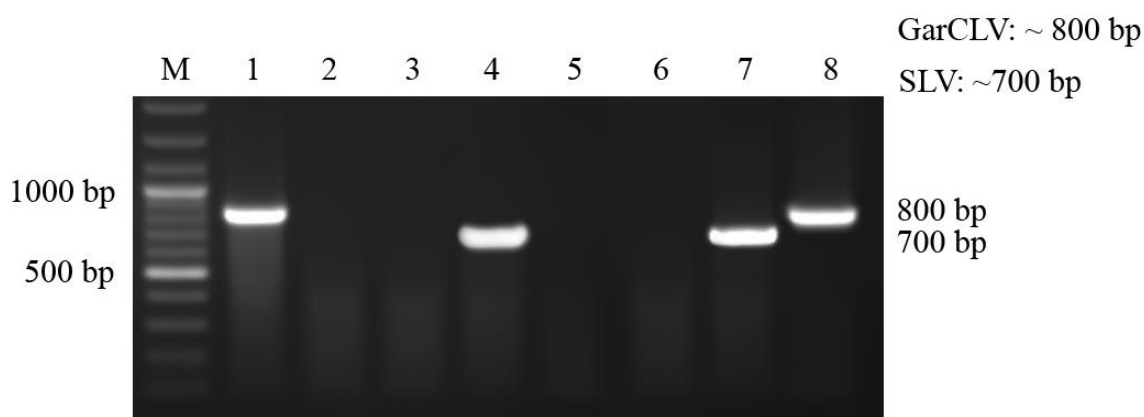
A 23A mintából kimutatott LYSV izolátum az NCBI adatbázisban fellelhető LYSV izolátumok közül a legnagyobb genetikai azonosságot a Spanyolországban leírt HQ918255

izolátummal mutatta a CP gén nukleotid szekvenciája alapján. A BLAST analízis eredménye szerint a két minta 99%-os átfedése mellett (*query cover*) a genetikai azonosság 92,6%-os (*percent identity*) A 23A mintából kimutatott LYSV izolátum a filogenetikai törzsfán is ezzel a spanyol izolátummal együtt csoportosult (12. ábra).



12. ábra: A 23A mintából származó LYSV izolátum filogenetikai törzsfája a köpenyfehérjét kódoló régió alapján (1000 ismétléses bootstrap analízis, UPGMA módszerrel)

HaCarla és M4 primerpár felhasználásával a *Carlavirus* nemzetség mindkét fokhagymát fertőző fajtát kimutattuk RT-PCR technikát alkalmazva. Az általunk tervezett HaCarla szenz primer az M4 antiszenz primer jelenlétében alkalmasnak bizonyult a két carlavírus faj egyidejű kimutatására és elkülönítésére az eltérő hosszúságú PCR-termékek elvén. Az ábrán néhány carlavírussal fertőzött minta látható. A gélkép 1. és 8. számú zsebében a GCLV fertőzöttséget jelző kb. 800 bp hosszúságú termék, míg a 4. és 7. zsebben az SLV-re jellemző 700 bp hosszúságú termék látható. A gélképen M betűvel a markert jelöltük, bal oldalon a markerhez tartozó bp hosszúságokat, jobb oldalon pedig a fokhagymát fertőző két carlavírus fajhoz tartozó bp hosszúságokat szemléltettük (13. ábra).



13. ábra: Néhány fokhagymaminta HaCarla és M4 primerpárral végzett RT-PCR analízise

A vizsgálatba bevont 41 mintából 19 esetben (46,3%) mutattunk ki carlavírus fertőzöttséget, kevert fertőzéseket a nemzetség esetében nem találtunk. Eredményeink alapján Magyarországon a GCLV faj a jellemzőbb, az SLV fajt mindössze egy esetben mutattuk ki (M6. melléklet M32. táblázat).

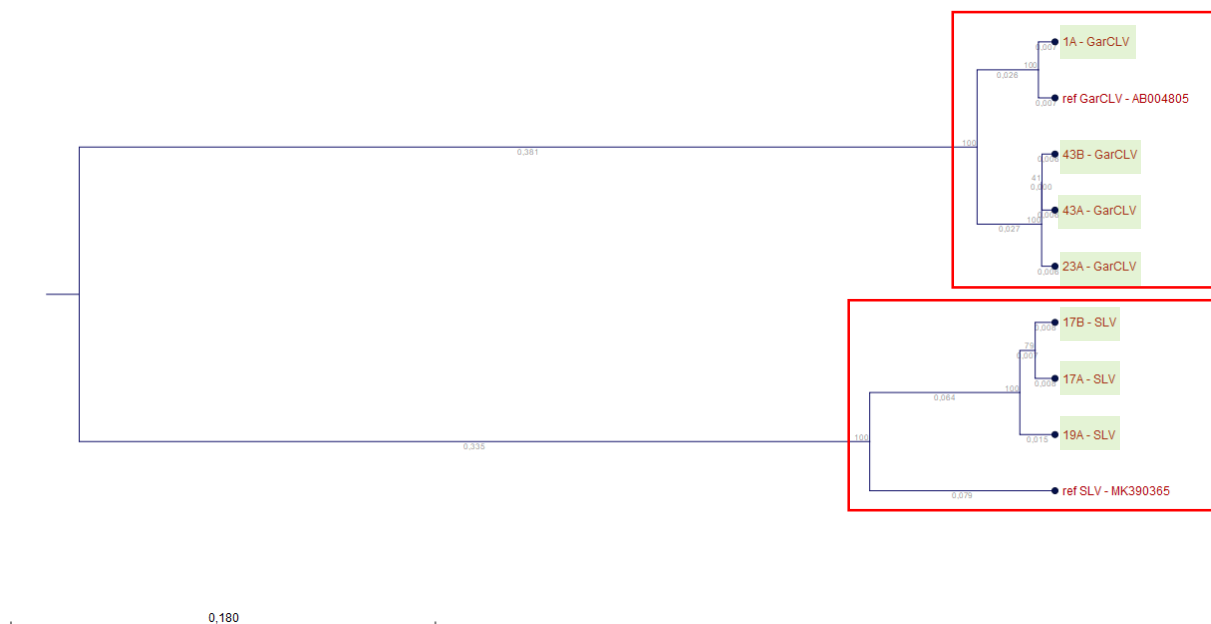
HaCarla primer megbízható felhasználhatóságát szekvenciaanalízissel is többszörösen megerősítettük (M2. melléklet, M2.-M8. táblázata). A három SLV izolátum ugyanazzal a MN059228.1 egyedi azonosítójú dél-koreai izolátummal mutatta a legnagyobb genetikai azonosságot, amelyet a kutatók *Garlic latent virus* néven rögzítettek az NCBI adatbázisában. A GCLV izolátumok japán és dél-koreai izolátumokkal voltak a leginkább azonosak (19. táblázat).

19. táblázat: A HaCarla és M4 primerpárral nyert szekvenciaadatok BLAST analízisének eredményei

| Minta neve | Legnagyobb azonosságot mutató szekvencia<br>(NCBI) | Legnagyobb azonosságot mutató vírusfaj     | Primerpár     | Szekvenciák átfedése %<br>(query cover) | Átfedő részek azonossága %<br>(percent identity) |
|------------|----------------------------------------------------|--------------------------------------------|---------------|-----------------------------------------|--------------------------------------------------|
| 1A         | AB004805.1                                         | GCLV                                       | HaCarla<br>M4 | 97                                      | 99,16                                            |
| 17A        | MN059228.1                                         | SLV<br>( <i>Garlic latent virus</i> néven) | HaCarla<br>M4 | 95                                      | 97,31                                            |
| 17B        | MN059228.1                                         | SLV<br>( <i>Garlic latent virus</i> néven) | HaCarla<br>M4 | 97                                      | 96,46                                            |
| 19A        | MN059228.1                                         | SLV<br>( <i>Garlic latent virus</i> néven) | HaCarla<br>M4 | 97                                      | 96,80                                            |
| 23A        | MN059140.1                                         | GCLV                                       | HaCarla<br>M4 | 100                                     | 96,50                                            |
| 43A        | MN059115.1                                         | GCLV                                       | HaCarla<br>M4 | 100                                     | 95,38                                            |
| 43B        | MN059115.1                                         | GCLV                                       | HaCarla<br>M4 | 100                                     | 95,78                                            |

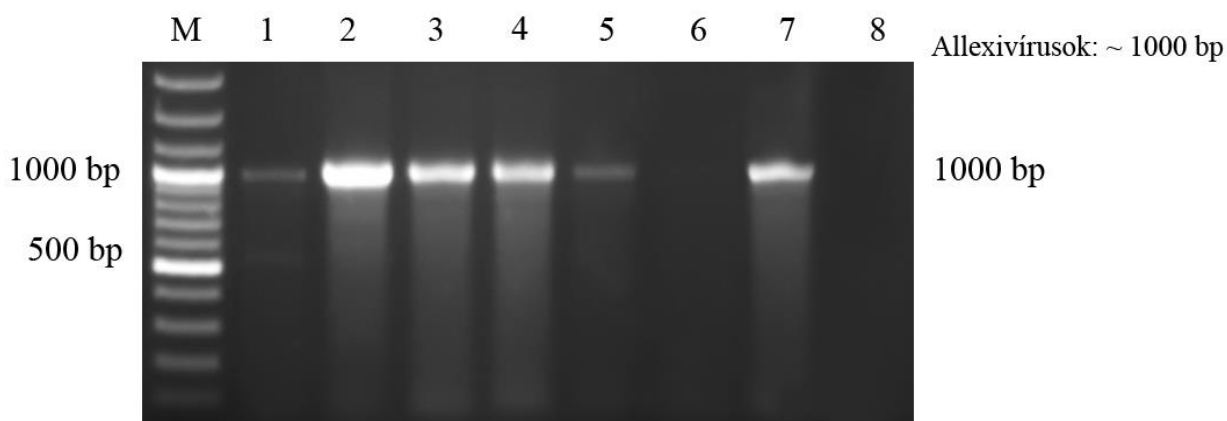
Az NCBI adatbázisból származó GCLV és SLV izolátumok, valamint a saját szekvenciaadataink között fennálló rokonsági viszonyok szemléltetésére filogenetikai törzsfát rajzoltunk (14. ábra). Az ábrán látható, hogy az 1A, a 23A, a 43A és a 43 B izolátumok az AB004805 egyedi azonosítóval rendelkező GCLV referencia izolátummal mutatják a legközelebbi

rokonságot, mag a 17A, a 17B és a 19A izolátumok az MK390365 egyedi azonosítóval ellátott SLV izolátummal mutatnak nagyobb genetikai azonosságot.



14. ábra: Az általunk vizsgált mintákból származó carlavírus izolátumok filogenetikai törzsfája a köpenyfehérjét kódoló régió alapján (1000 ismétléses bootstrap analízis, UPGMA módszerrel)

A HaAllexi és M4 primerpár felhasználásával vizsgált 41 minta 93%-ából mutattuk ki az *Allexivirus* nemzetség jelenlétét, összesen három negatív mintát azonosítottunk (M6. melléklet M32. táblázat). A közel 1000 bp hosszúságú PCR-termékek az *Allexivirus* nemzetség valamely tagjának jelenlétét mutatják az egyes mintákban (15. ábra). Az ábra 1. és 5. zsebében halvány, pozitív jel látható, míg a 2., a 3., a 4. és a 7. zsebekben erős, 1000 bp körüli PCR-termék jelzi az allexivírus fertőzöttséget. A gélkép fölött M betűvel a markert jelöltük, a gélkép bal oldalán a markerhez tartozó bp hosszúságokat, míg a jobb oldalon az allexivírus fertőzöttségre jellemző PCR-termékek helyét.



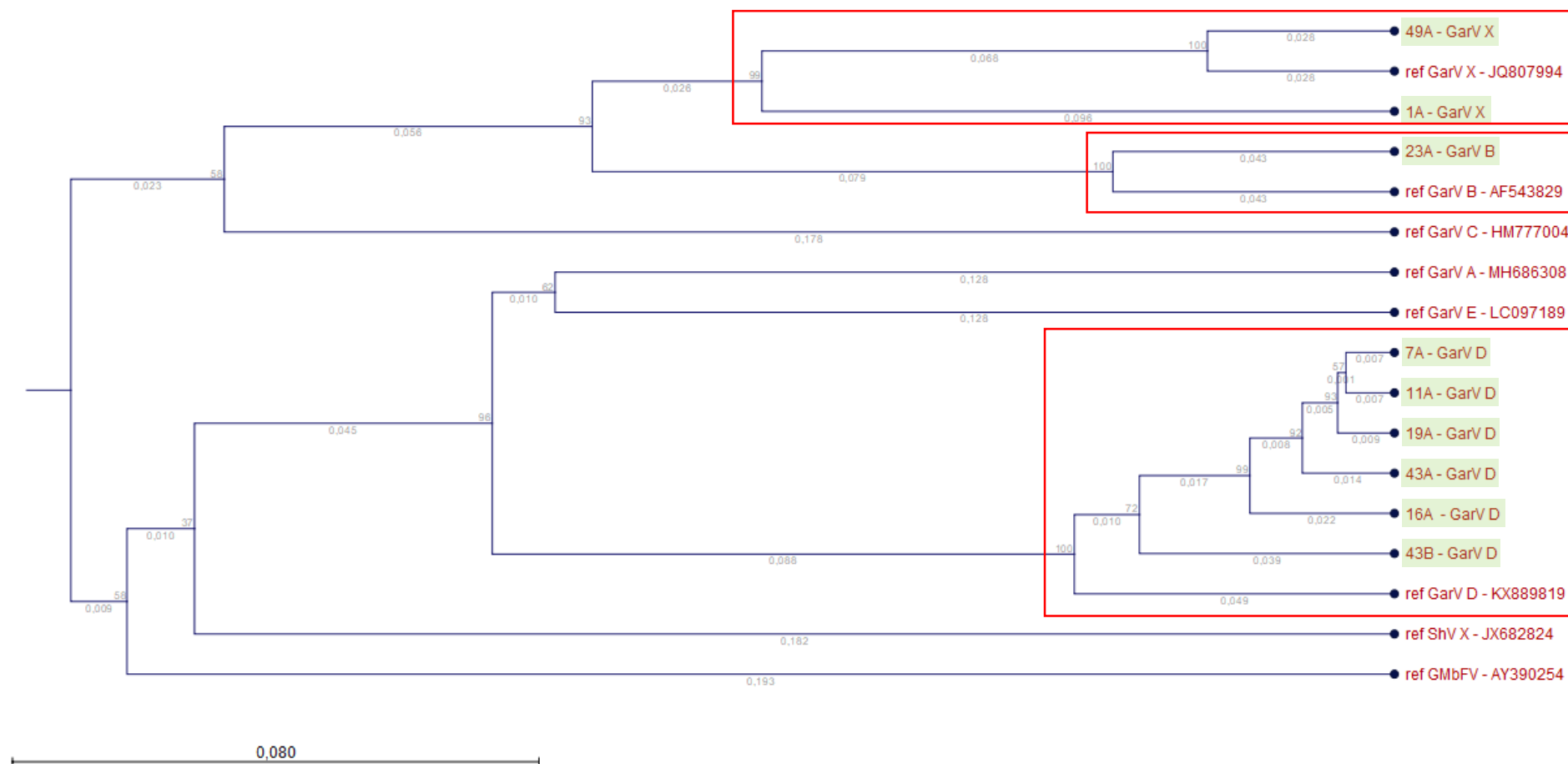
15. ábra: Néhány fokhagymaminta HaAllexi és M4 primerpárral végzett RT-PCR analízise

Az általunk fejlesztett HaAllexi szenz primer a szakirodalmi eredetű M4 antiszenz primer jelenlétében fajszintű határozást nem tett lehetővé a nemzetségbe tartozó fajok magas száma miatt, így a fajokat szekvenciaanalízissel határoztuk meg (M2. melléklet, M9.-M17. táblázat). A 23A mintában található allexivírus izolátum a dél-koreai kutatók által leírt, lehetséges új allexivírus fajjal, a GarV G-vel mutatta a legnagyobb genetikai azonosságot. Mivel azonban ezt a fajt az ICTV még nem jegyzi új fajként, ezért a táblázatban a második legnagyobb azonosságot mutató izolátumot is jelöltük, amely az ICTV által is külön fajként elismert GarV-B. Az 1A, 7A, 11A, 16A, 19A, 43A és 43B izolátumok ázsiai és európai GarV-D és X izolátumokkal mutattak nagyfokú azonosságot (20. táblázat).

20. táblázat: A HaAllexi és M4 primerpárral nyert szekvenciaadatok BLAST analízisének eredményei

| Minta neve | Legnagyobb azonosságot mutató szekvencia<br>(NCBI) | Legnagyobb azonosságot mutató vírusfaj | Primerpár      | Szekvenciák átfedése %<br>(query cover) | Átfedő részek azonossága %<br>(percent identity) |
|------------|----------------------------------------------------|----------------------------------------|----------------|-----------------------------------------|--------------------------------------------------|
| 1A         | MN059404.1                                         | GarV-X                                 | HaAllexi<br>M4 | 99                                      | 85,41                                            |
| 7A         | MN059370.1                                         | GarV-D                                 | HaAllexi<br>M4 | 99                                      | 93,39                                            |
| 11A        | MN059370.1                                         | GarV-D                                 | HaAllexi<br>M4 | 100                                     | 93,61                                            |
| 16A        | JX682873.1                                         | GarV-D                                 | HaAllexi<br>M4 | 97                                      | 96,93                                            |
| 19A        | MN059370.1                                         | GarV-D                                 | HaAllexi<br>M4 | 99                                      | 93,39                                            |
| 23A        | MN059331.1<br>MN059170.1                           | GarV G<br>GarV-B                       | HaAllexi<br>M4 | 100<br>100                              | 92,95<br>92,84                                   |
| 43A        | MN059370.1                                         | GarV-D                                 | HaAllexi<br>M4 | 99                                      | 92,51                                            |
| 43B        | JX682873.1                                         | GarV-D                                 | HaAllexi<br>M4 | 96                                      | 92,31                                            |
| 49A        | LN875276.1                                         | GarV-X                                 | HaAllexi<br>M4 | 100                                     | 100                                              |

Az NCBI adatbázisból származó referenciaizolátumok és a saját szekvenciaadataink közötti rokonsági kapcsolatok feltárására filogenetikai törzsfát rajzoltunk. Az ábrán látható, hogy az 1A és 49 minták szekvenciaadatai a JQ807994 egyedi azonosítóval ellátott GarV-X referencia izolátummal mutatták a legnagyobb genetikai azonosságot, a 23A minta az AF543829 azonosítójú GarV-B, míg a 7A, a 11A, a 16A, a 19A, a 43A és a 43B izolátumok a KX889819 GarV-D referencia izolátummal mutatták a legközelebbi rokonságot. A feltárt rokonsági viszonyokat az 16. ábrán szemléltettük.



16. ábra: Az általunk vizsgált mintákból származó allexivírus izolátumok filogenetikai törzsfája a köpenyfehérjét kódoló gén alapján (1000 ismétléses bootstrap analízis, UPGMA módszerrel)

### 5.1.2. Eredmények a Gupta- és Yoshida-féle módosított primerkészlettel

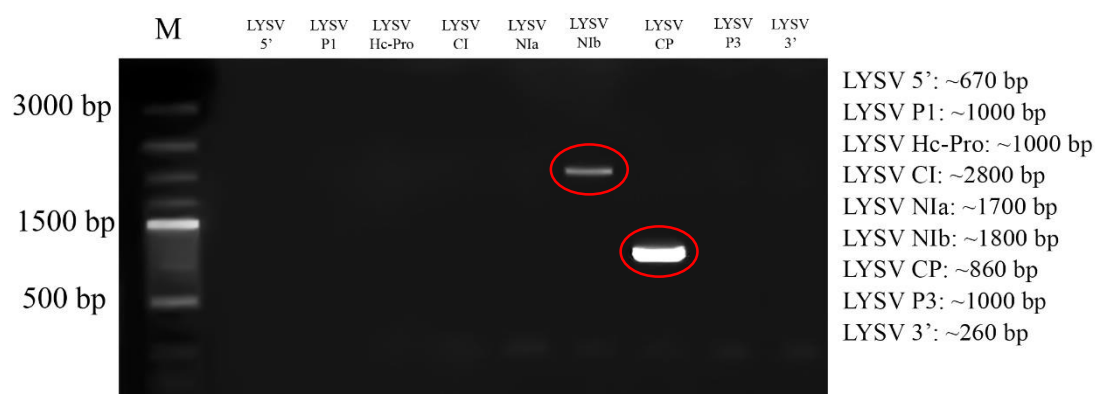
A Gupta- és Yoshida-féle primereket összesen öt PCR protokollal alkalmaztuk. A hagyományos PCR során a primerek egyik része esetében 50 °C-os, míg a másik része esetében 55 °C-os anellációs hőmérsékletet alkalmaztunk (15. táblázat). A három, különböző anellációs hőmérsékleti intervallumot alkalmazó protokoll szerinti td-PCR vizsgálatot minden primerpár esetén elvégeztük, a megfelelő hosszúságú PCR-termékeket a 17.-20. ábrákon piros karikával jelöltük. Megfelelő hosszúságú terméknek tekintettük azt, amelyik a 9. táblázat szerinti mérettartományba esett, + / - 200 bp. Ennek oka, hogy a primereket a rendelkezésre álló LYSV teljes genomok szekvenciaadatai alapján terveztük, azonban az általunk vizsgált 23A LYSV izolátum szekvenciaadatairól nem álltak rendelkezésünkre átfogó, előzetes szekvenciaadatok. Az általunk vizsgált LYSV izolátum genomjának esetében, a szakirodalmi adatokhoz képest az esetleges deléciók, vagy inzerciók okozta kísérleti hibák kiszűrése érdekében, az elméletben megállapított megfelelő bp hosszúságú tartományt a gyakorlatban így némi rátartással kezeltük.

A pirossal bekarikázott termékeket, továbbá a Yoshida-féle primerpárral kapott terméket izoláltuk és szekvenáltattuk. A visszakapott szekvenciaadatok egy része nem hordozott értelmes genetikai információt a BLAST analízis alapján. A LYSV P1 – yshd F és LYSV P1 – yshd R, a LYSV CP F és LYSV CP R, valamint a LYSV N1b F és LYSV N1b R primerpárokkal végzett PCR vizsgálatok során azonban a LYSV fajra vonatkozóan új nukleotid szekvenciaadatokat kaptunk, melyeket az NCBI adatbázisban fellelhető LYSV szekvenciaadatokkal hasonlítottuk össze. Ezen szekvenciák BLAST analízisének eredményeit a 21. táblázat szemlélteti. Ezek alapján az LYSV P1 – yshd F és LYSV P1 – yshd R primerpárral vizsgált minta az MN059482.1 egyedi azonosítójú referencia izolátummal, az LYSV CP F és az LYSV CP R primerpárral vizsgált minta a GU373816.1 azonosítójú izolátummal, az LYSV N1b F és az LYSV N1b R primerpárral vizsgált minta pedig a KP258216.1 azonosítójú izolátummal mutatta a legnagyobb genetikai azonosságot.

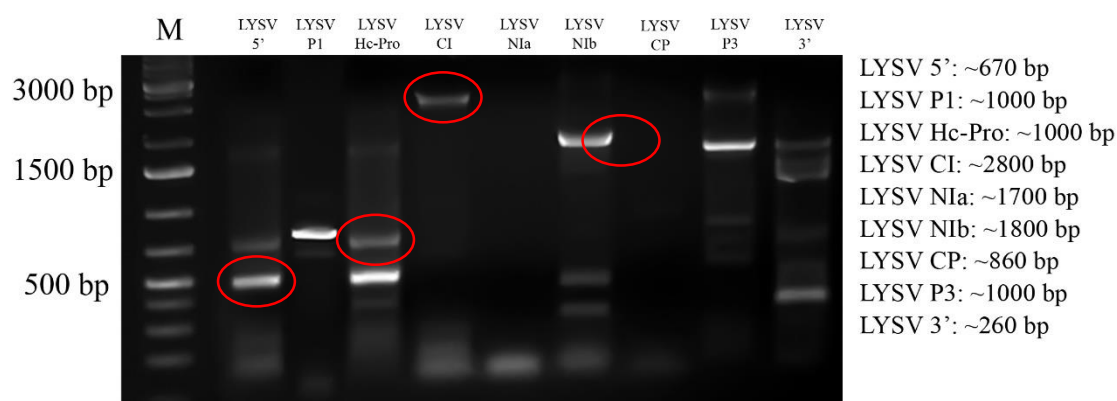
Általános megfigyelésünk, hogy a td-PCR technikát alkalmazva több, a megfelelő tartományba eső PCR-terméket kaptunk, mint a hagyományos PCR technikával, ugyanakkor a nem megfelelő méretű, aspecifikus termékek száma is nagyobb volt. A szekvenciaadatokat az M3. számú melléklet M18.-M20 táblázata tartalmazza.

21. táblázat: A Gupta- és Yoshida-féle primerpárokkal nyert szekvencia adatok BLAST analízisének eredményei

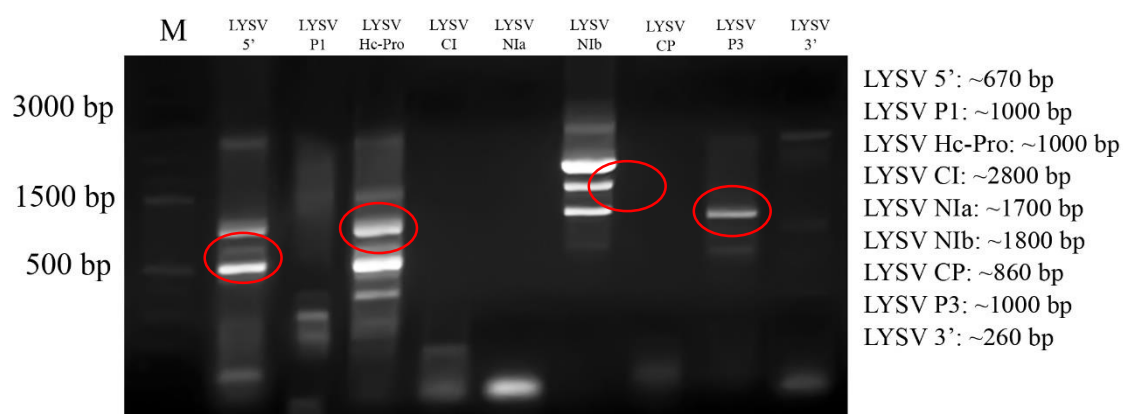
| Minta neve | Legnagyobb<br>azonosságot<br>mutató szekvencia<br>(NCBI) | Legnagyobb<br>azonosságot<br>mutató<br>vírusfaj | Primerpár                            | Protokoll         | Szekvenciák<br>átfedése %<br>(query cover) | Átfedő részek<br>azonossága %<br>(percent identity) |
|------------|----------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|--------------------------------------|-------------------|--------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| PotyAS3    | MN059482.1                                               | LYSV                                            | LYSV P1 F – yshd<br>LYSV P1 R - yshd | 50 °C PCR         | 22                                         | 83,08                                               |
| PotyAS3    | GU373816.1                                               | LYSV                                            | LYSV CP F<br>LYSV CP R               | 55 °C PCR         | 98                                         | 89,24                                               |
| PotyAS3    | KP258216.1                                               | LYSV                                            | LYSV N1b F<br>LYSV N1b R             | 52 > 40 °C td-PCR | 100                                        | 87,89                                               |



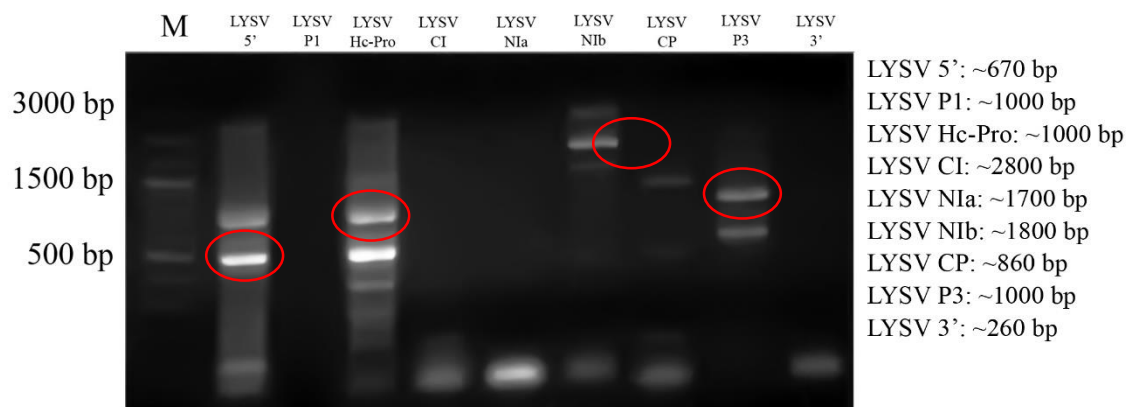
17. ábra: A Gupta-féle primerkészlettel 50-55 °C anellációs hőmérsékleten végzett hagyományos PCR eredményei



18. ábra: : A Gupta-féle primerkészlettel 52 > 40 °C anellációs hőmérsékleten végzett td-PCR eredményei



19. ábra: A Gupta-féle primerkészlettel 60 > 45 °C anellációs hőmérsékleten végzett td-PCR eredményei



20. ábra: A Gupta-féle primerkészlettel 65 > 48 °C anellációs hőmérsékleten végzett td-PCR eredményei

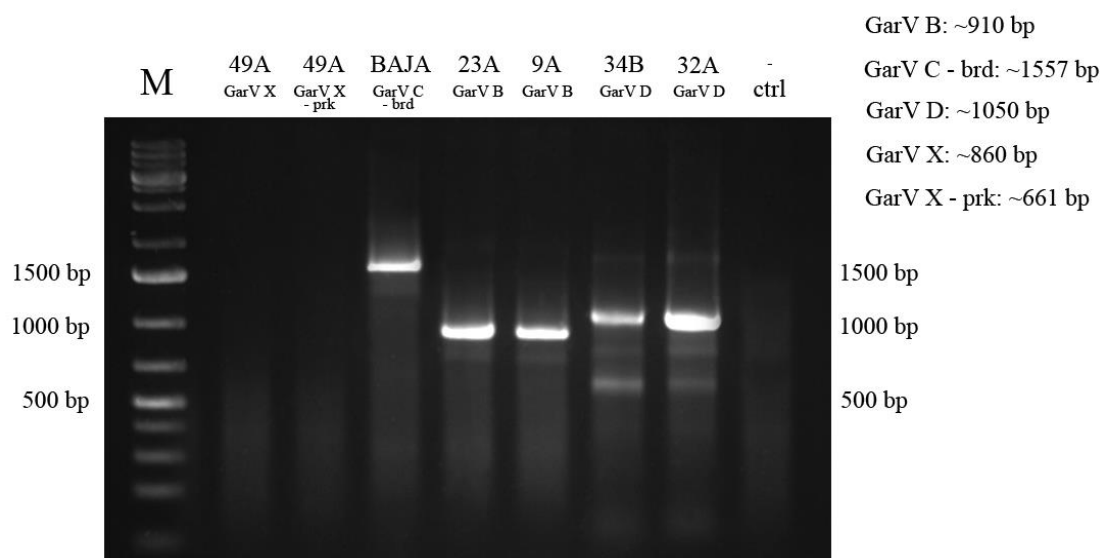
### 5.1.3. Eredmények a fajspecifikus Allexivirus primerekkel

A 49A minta esetében a saját fejlesztésű GarV-X (for) és GarV-X (rev), valamint a szakirodalmi eredetű GarV-X (for) – prk és GarV-X (rev) – prk primerpárok használatával a PCR során nem keletkezett a GarV-X fertőzöttségre utaló, megfelelő hosszúságú PCR-termék, holott a minta fertőzöttségét egy korábbi kísérletünkben már igazoltuk a HaAllexi és M4 primerekkel végzett PCR során keletkezett termék szekvenálási analízisével.

A BAJA minta GarV-C fertőzöttségéről nem rendelkezünk információkkal a korábbi kísérleteinkből, azonban fertőzöttségét a Bereda-féle, szakirodalmi eredetű GarV-C (for) – brd és GarV-C (rev) – brd primerpár felhasználásával sikerült kimutatnunk. A PCR-termék szekvenálási analízisével a primerpár működőképességét és a BAJA minta GarV-C fertőzöttségét egyaránt visszaigazoltuk.

A 23A minta GarV-B fertőzöttségéről rendelkezünk szekvenálási adatokkal korábbi kísérleteinkből, melyet a HaAllexi és M4 primerkészlettel végzett PCR során keletkezett termék szekvenálásával nyertünk. Az általunk tervezett GarV-B (for) és GarV-B (rev) fajspecifikus allexivirus primerpár működőképességének visszaigazolására a 9A minta PCR vizsgálata során felszaporított DNS szakaszt küldtük szekvenálási analízisre, melyről korábban nem rendelkezünk szekvenálási adatokkal. A szekvenálási adatok BLAST analízise során a primer működőképessége megerősítést nyert, mivel a szekvenálási adatok a MN059150.1 számú GarV-B referencia izolátummal mutatták a legközelebbi rokonságot.

A 32A és 34 B minták allexivirus fertőzöttségéről nem rendelkezünk adatokkal a korábbi kísérleteinkből. A saját fejlesztésű GarV-D (for) és GarV-D (rev) primerpár felhasználásával mindkét izolátum GarV-D fertőzöttségét sikerült kimutatni (21. ábra), melyet a PCR-termékek szekvenálási analízisével visszaigazoltunk (M4. melléklet M21.-M25. táblázat).



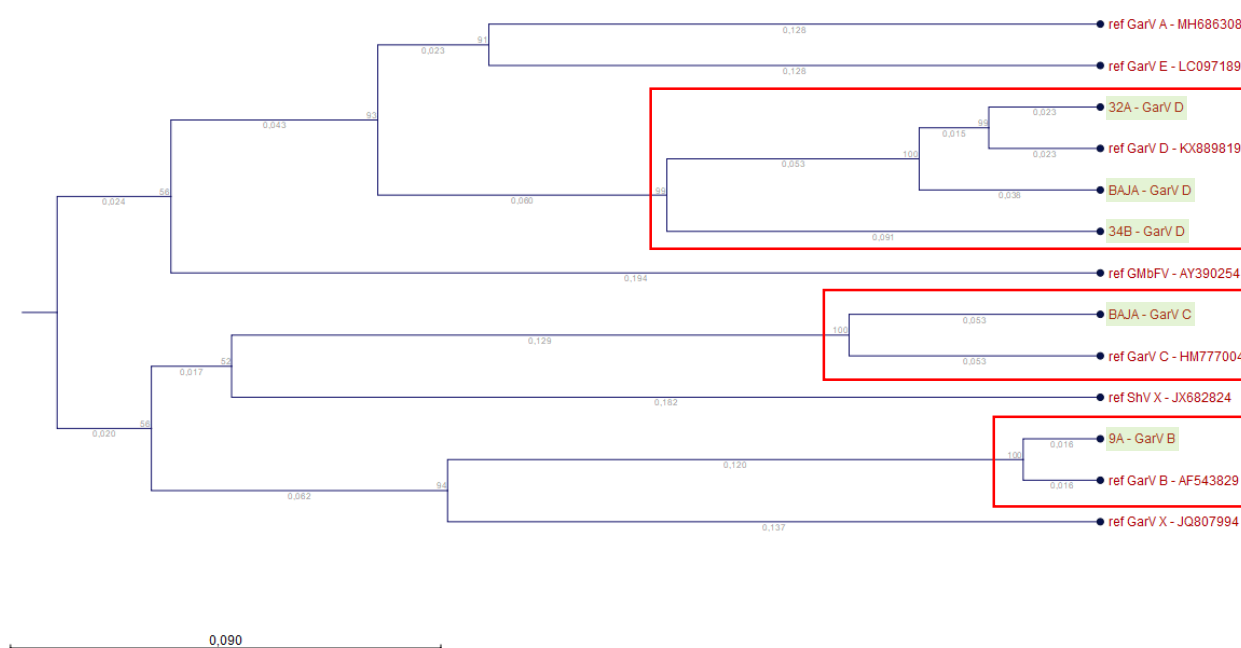
21. ábra: Szakirodalmi eredetű és saját fejlesztésű allexivirus primerpárokkal elért RT-PCR eredmények

A 9A mintából kimutatott GarV-B, 32A mintából kimutatott GarV-D és a BAJA mintából kimutatott GarV-C izolátumok a szekvenciaadatok alapján dél-koreai izolátumokkal, a 34B mintából kimutatott GarV-D egy ausztrál, míg a BAJA mintából kimutatott GarV-D egy lengyel izolátummal mutatta a legnagyobb genetikai azonosságot (22. táblázat).

22. táblázat: BLAST analízis eredménye a fajspecifikus allexivírus primerekkel nyert szekvenciaadatokon

| Minta neve | Legnagyobb azonosságot mutató szekvencia<br>(NCBI) | Legnagyobb azonosságot mutató vírusfaj | Primerpár                                | Szekvenciák átfedése %<br>(query cover) | Átfedő részek azonossága %<br>(percent identity) |
|------------|----------------------------------------------------|----------------------------------------|------------------------------------------|-----------------------------------------|--------------------------------------------------|
| 9A         | MN059150.1                                         | GarV-B                                 | GarV-B (for)<br>GarV-B (rev)             | 98                                      | 95,51                                            |
| 32A        | MN059388.1                                         | GarV-D                                 | GarV-D (for)<br>GarV-D (rev)             | 100                                     | 99,43                                            |
| 34B        | JN019815.1                                         | GarV-D                                 | GarV-D (for)<br>GarV-D (rev)             | 100                                     | 86,77                                            |
| BAJA       | MN059141.1                                         | GarV-C                                 | GarV-C (for) – brd<br>GarV-C (for) - brd | 99                                      | 90,11                                            |
|            | KX889785.1                                         | GarV-D                                 | GarV-D (for)<br>GarV-D (rev)             | 98                                      | 90,98                                            |

Az NCBI adatbázis referencia izolátumai és a saját szekvenciaadataink közötti rokonsági viszonyok feltárására filogenetikai törzsfát rajztoltunk. A 32A és a 34B minta a KX889819 egyedi azonosítóval ellátott GarV-D referencia izolátummal mutatta a legnagyobb genetikai azonosságot, a 9A minta pedig az AF543829 azonosítójú GarV-B izolátummal. A BAJA mintából a két különböző fajspecifikus primerpár felhasználásával a GarV-D és a GarV-C fajt is kimutattuk. A saját GarV-B, GarV-C és GarV-D szekvenciák rokonsági viszonyait a 22. ábrán szemléltetjük.



22. ábra: Az általunk vizsgált mintákból származó allexivírus izolátumok filogenetikai törzsfája a köpenyfehérjét kódoló gén alapján (1000 ismétléses bootstrap analízis, UPGMA módszerrel)

#### 5.1.4. Eredmények a saját fejlesztésű LYSV primerekkel

A saját fejlesztésű LYSV primerekkel végzett, eltérő anellációs hőmérsékletű két PCR-, és további három, td-PCR protokollal nyert termékeket a 23.-28. ábrák mutatják. Azokat a termékeket, amelyek az adott primerpárhoz tartozó, megfelelő hosszúságú tartományba estek, az ábrákon piros ellipszissel jelöltük. Megfelelő hosszúságú tartománynak tekintettük a 11. táblázatban feltüntetett bp hosszúság + / - 200 bp-t, a Gupta- és Yoshida-féle primerkészletek használatakor ismertettekhez hasonló okokból. A pirossal bekarikázott PCR-termékek közül mind a kilencet izoláltuk és szekvenciaanalízisre küldtünk, azonban néhány esetben nem kaptunk vissza értelmes szekvenciaadatokat a BLAST analízis alapján. Értelmes szekvenciaadatokat nyertünk azonban a HC-Pro-P3 fehérjét, a CI fehérjét és a CP-t kódoló régiók megsokszorozására tervezett LYSV2 FOR és LYSV2 REV, az LYSV4 FOR és LYSV4 rev, valamint az LYSV8 FOR és LYSV8 REV primerpárokkal felszaporított PCR-termékek szekvenálása során.

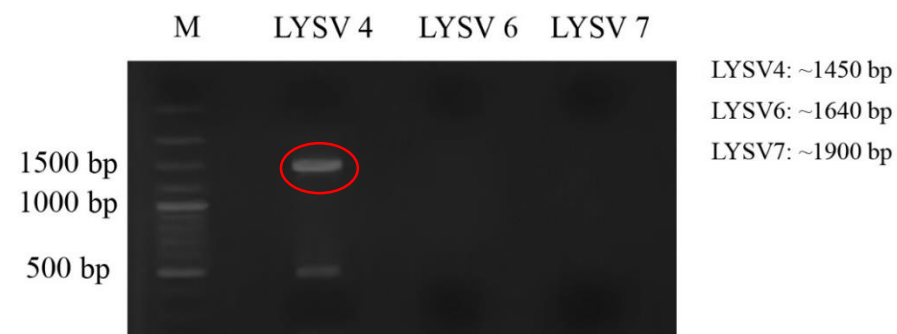
Eredményeink alapján megállapítható, hogy a td-PCR technika használatával több, a megfelelő bp hosszúságú tartományba eső DNS szakasz keletkezett, azonban az aspecifikus termékek száma is nagyobb volt. A hagyományos PCR technikát alkalmazva a PCR-termékek száma kevesebb, és a nem a célszekvenciákkal való hibridizációból (*mispriming*) származó, nem megfelelő méretű termékek száma is alacsonyabb. Megfigyelhető, hogy szekvenciaadatokat az LYSV2 (FOR) és LYSV2 (REV), az LYSV4 (FOR) és LYSV4 (REV), valamint az LYSV8 (FOR) és LYSV8 (REV) primerpárok felhasználása esetén nyertünk. Ezen primerpárok esetében a gélképek alapján mind a hagyományos (23. és 24. ábra), mind a td-PCR során (25.-28. ábra) a megfelelő mérettartományba eső termék amplifikálódott (M5. melléklet M26-M31. táblázat). A BLAST analízis alapján megállapítható, hogy a LYSV2 (FOR) és LYSV2 (REV), valamint az LYSV4 (FOR) és az LYSV4 (REV) primerpárok felhasználásával kapott PCR-termékek a KP258216 azonosítójú, míg a LYSV8 (FOR) és az LYSV8 (REV) primerpárok felhasználásával kapott PCR-termékek a HQ918255 azonosítójú LYSV referencia izolátummal mutatták a legnagyobb genetikai azonosságot.

23. táblázat: BLAST analízis eredménye saját LYSV primerekkel nyert szekvenciaadatokon

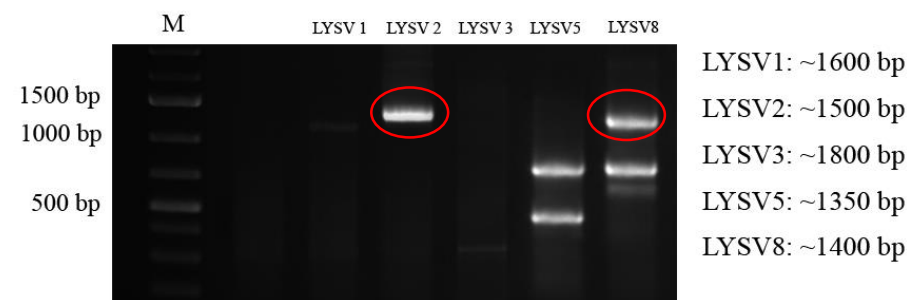
| Minta neve | Legnagyobb azonosságot mutató szekvencia (NCBI) | Legnagyobb azonosságot mutató vírusfaj | Primerpár                  | Protokoll         | Szekvenciák átfedése % (query cover) | Átfedő részek azonossága % (percent identity) |
|------------|-------------------------------------------------|----------------------------------------|----------------------------|-------------------|--------------------------------------|-----------------------------------------------|
| PotyAS3    | KP258216                                        | LYSV                                   | LYSV2 (FOR)<br>LYSV2 (REV) | 50 °C PCR         | 97                                   | 87,68                                         |
| PotyAS3    | KP258216                                        | LYSV                                   | LYSV2 (FOR)<br>LYSV2 (REV) | 65 > 48 °C td-PCR | 95                                   | 89,07                                         |
| PotyAS3    | KP258216                                        | LYSV                                   | LYSV4 (FOR)<br>LYSV4 (REV) | 48 °C PCR         | 96                                   | 86,06                                         |
| PotyAS3    | KP258216                                        | LYSV                                   | LYSV4 (FOR)<br>LYSV4 (REV) | 60 > 45 °C td-PCR | 88                                   | 87,77                                         |
| PotyAS3    | HQ918255                                        | LYSV                                   | LYSV8 (FOR)<br>LYSV8 (REV) | 50 °C PCR         | 95                                   | 89,07                                         |
| PotyAS3    | HQ918255                                        | LYSV                                   | LYSV8 (FOR)<br>LYSV8 (REV) | 65 > 48 °C td-PCR | 99                                   | 88,30                                         |



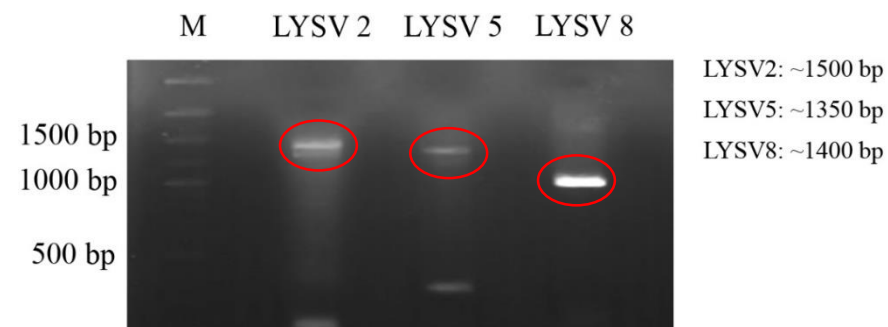
23. ábra: A saját LYSV primerkészlettel 48 °C anellációs hőmérsékleten végzett hagyományos PCR eredményei



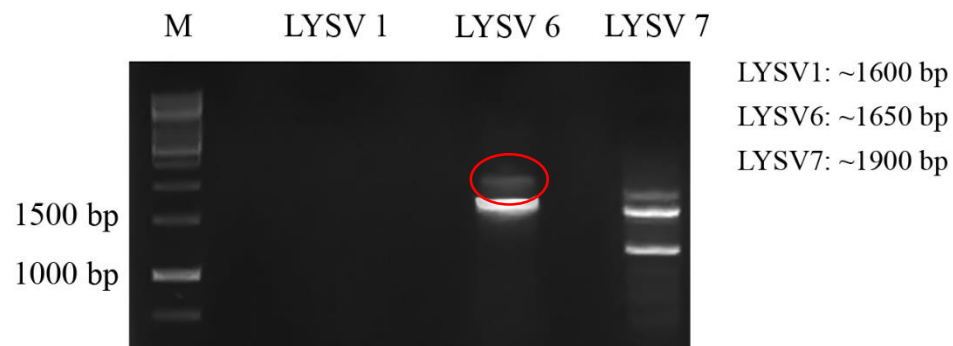
26. ábra: A saját LYSV primerkészlettel 60 > 45 °C anellációs hőmérsékleten végzett td-PCR eredményei



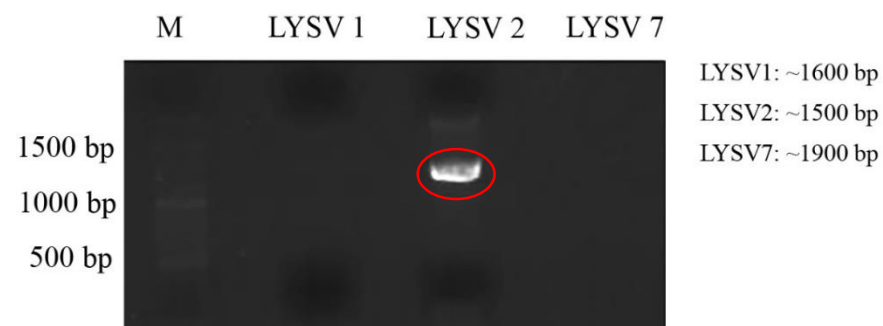
24. ábra: A saját LYSV primerkészlettel 50 °C anellációs hőmérsékleten végzett hagyományos PCR eredményei



27. ábra: A saját LYSV primerkészlettel 65 > 48 °C anellációs hőmérsékleten végzett td-PCR eredményei (1)



25. ábra: A saját LYSV primerkészlettel 52 > 40 °C anellációs hőmérsékleten végzett td-PCR eredményei



28. ábra: A saját LYSV primerkészlettel 65 > 48 °C anellációs hőmérsékleten végzett td-PCR eredményei (2)

## 5.2. 23A (PotyAS3) LYSV izolátum szekvenciaadataival elért eredmények

A 23A minta szövetnedvével mesterségesen inokulált PotyAS3 fokhagymáról gyűjtött levélminta LYSV fertőzöttségét és a LYSV izolátum szekvenciaadatait több primerkészlettel vizsgáltuk.

- A HaPoty és M4 primerpár segítségével a köpenyfehérje régióról nyertünk adatokat.
- A Gupta- és Yoshida-féle primerkészlettel a P1 fehérjét, az N1b fehérjét, valamint a CP szekvenciaadatairól nyertünk információkat.
- Végezetül a saját fejlesztésű LYSV primerkészlet segítségével szintúgy a CP régióról, továbbá a CI, a HC-PRO és P3 fehérjéket kódoló régiókról szereztünk szekvenciaadatokat.

A teljes genomhoz képest a megismert szekvenciaadatokat vizuálisan a 29. ábra szemlélteti. A képhez szükséges adatokat a CLC Sequence Viewer 7. szoftver szekvenciaadatokat összeillesztő szolgáltatásával (*alignment*) állítottuk elő, referenciaként a KP268216 izolátumot használtuk.

Az ábra tetején lévő sematikus *Tobacco etch virus* ábrát a szakirodalomból kölcsönöztük (KING *et al.* 2011). Az ábrára való illesztése azt hivatott szemléltetni, hogy hozzávetőlegesen mely fehérjéket kódoló régiókról rendelkezünk szekvenciaadatokkal a 23A LYSV izolátum esetében. A zöld és piros átfedésekkel az ismert és ismeretlen nukleotid sorrendű régiókat színeztük. Az ábra bal oldalán a célszervezet neve, a kimutatni kívánt régió neve és a felhasznált primer eredete szerepel. Az ábra jobb oldalán az adott szekvencia bp hosszúsága látható.

Az ábra belső részében található fekete vízszintes sávok az egyes szekvenciaadatok genomban elfoglalt helyét mutatják a KP268216 referencia izolátumhoz képest. Az alattuk lévő piros oszlopok a KP268216 izolátummal való genetikai azonosságot mutatják. A 2.000, 4.000, 6.000, 8.000, és 10.000 bp hosszúságok külön szerepelnek minden soron a könnyebb viszonyíthatóság kedvéért.

Az ábrát vizsgálva megállapíthatjuk, hogy a 23A LYSV izolátum szekvenciájából összesen 8843 nukleotidról rendelkezünk információval, melyeknek egy része átfedésekben áll egymással, és az átfedő részek nukleotid szekvenciája azonos. Amennyiben az átfedő régiókat egyesítjük, úgy kb. 6000-6200 nt adattal rendelkezünk, ami a teljes genom ~60%-a.

Legtöbb információval a CP régió nukleotid sorrendjéről rendelkezünk, ezt három független primerpárral is sikerült PCR során felszaporítani. A legkevesebb adat, az ábra alapján a PIPO, az N1a és a 6K1 fehérjéket kódoló régiók nukleotidok sorrendjéről áll rendelkezésünkre.



29. ábra: A 23A LYSV izolátum megismert szekvenciaadatainak elhelyezkedése a LYSV genomján

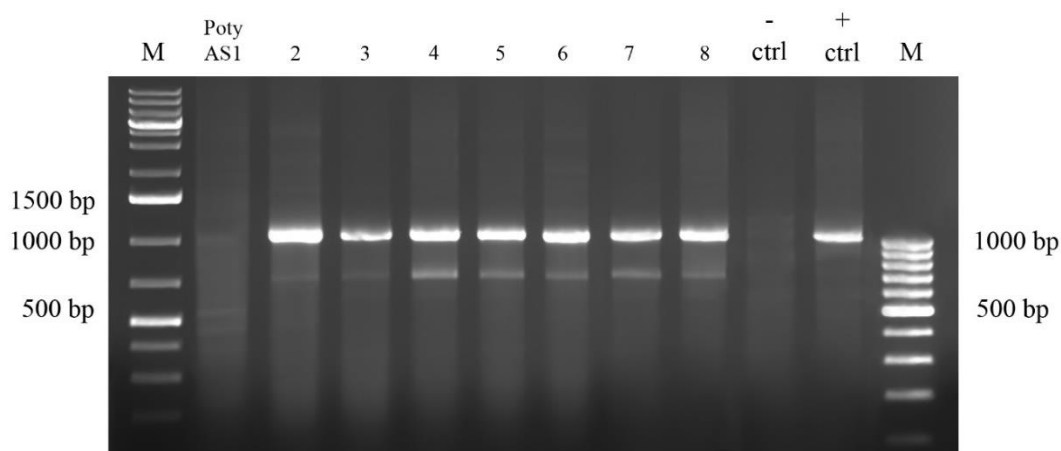
Megfigyelhető még, hogy bár a BLAST analízisek során a különböző fehérjéket kódoló régiókról származó szekvenciaadatok különböző referencia izolátumokkal mutatták a legnagyobb genetikai azonosságot, filogenetikai törzsfán ábrázolva minden szekvenciaadat a KP268216 izolátummal mutatta a legszorosabb rokonságot (21. és 23. táblázat).

Az M9. melléklet M1.-M9. ábráin filogenetikai törzsfákból láthatunk részleteket. Ezeknek elkészítése során az összes, az NCBI adatbázisában rendelkezésre álló LYSV teljes genom szekvenciaadatot (összesen 78 db) felhasználtuk és mindig az adott fehérjét kódoló régió alapján mutattunk ki a rokonsági viszonyokat a referencia izolátumok megfelelő régiói és az általunk kimutatott LYSV szekvenciaadatok között. Az így elkészített mind a kilenc törzsfán azt láthatjuk, hogy az összes szekvencia a KP268216 izolátummal mutatja a legközelebbi rokonsági kapcsolatot.

### 5.3. Mesterséges fertőzési vizsgálatok eredményei

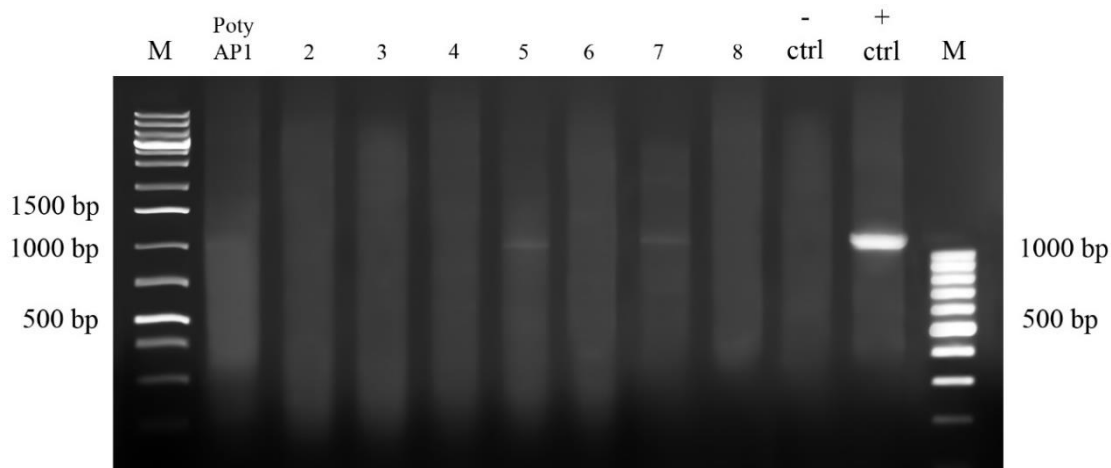
#### 5.3.1. *A 23A minta szövetnedvével végzett mesterséges fertőzés eredményei*

A LYSV-al végzett mesterséges fertőzési kísérletben a 23A LYSV izolátum nagy mértékben, nyolcból hét esetben képes volt fertőzni a 'Makói Tavaszi' fokhagyma növényeket, ami a minták 87,5%-a. A mesterségesen fertőzött fokhagymák PCR tesztelése során keletkezett 1000-1200 bp hosszúságú PCR-termékek a LYSV fertőzés létrejöttét mutatják. Pozitív kontrollként a 23A minta LYSV fertőzöttségének kimutatását célzó, a HaPoty-M4 primerpárral végzett PCR vizsgálat során keletkezett kb. 1000-1200 bp hosszúságú PCR-terméket használtuk. A 700-750 bp hosszúságú tartományban látható jel valószínűleg valamilyen növényi eredetű aspecifikus termék (30. ábra).



30. ábra: A PotyAS1-8 sorozat mesterséges LYSV inokulációjának eredményei

A 23A LYSV izolátum nem, vagy csak kis mértékben, nyolcból két esetben volt képes fertőzni a 'Lincoln' póréhagyma növényeket, ez a minták 25%-a (31. ábra, 24. táblázat). Az 5. és 7. számú zsebben halvány jelet láthatunk a megfelelő mérettartományban. Amennyiben LYSV fertőzés jött létre ezekben a mintákban, úgy a pozitív kontrollal való összevetésben lényegesen alacsonyabb víruskoncentrációt volt képes csak elérni, mint a fokhagyma növényekben (31. ábra).

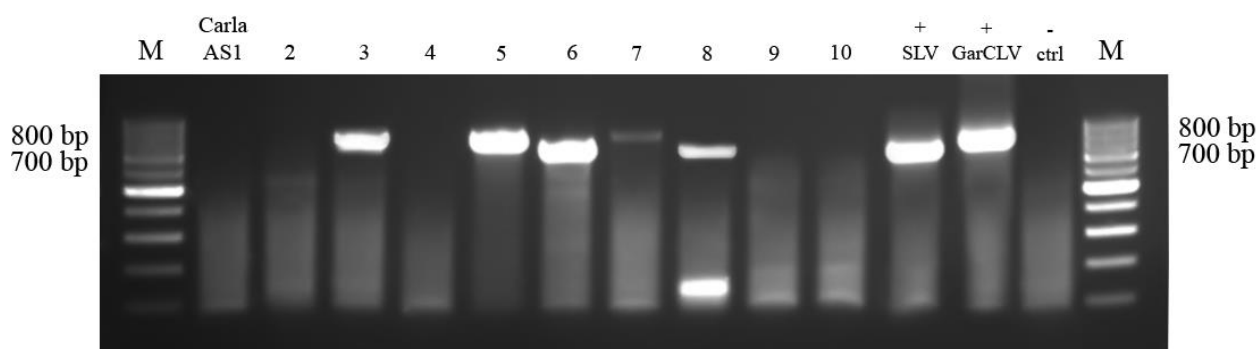


31. ábra: A PotyAPI-8 sorozat mesterséges LYSV inokulációjának eredményei

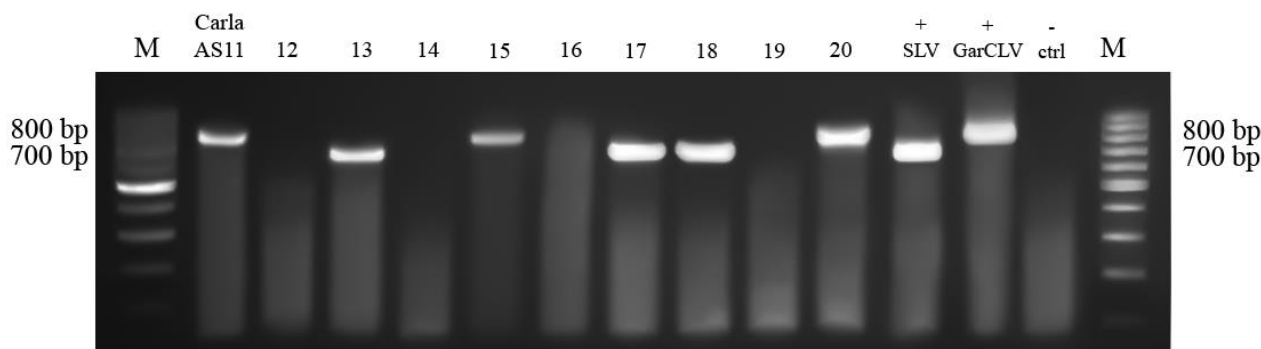
### 5.3.2. Kevert Carlavirus fertőzés létrehozásának provokációs kísérlete

A carlavírus fajokkal történő mesterséges fertőzési kísérletben az inokulált ‘Makói Tavaszi’ fokhagymamintákban 11 esetben alakult ki a fertőzés (32. és 33. ábra), 5 esetben GCLV, 6 esetben SLV fertőzés. A GCLV-vel fertőződött minták ~800 bp hosszúságnál, míg az SLV-vel fertőzött minták ~700 bp hosszúságnál adtak jól látható jelet a gélképen. Pozitív kontrollként a GCLV esetében a 39A, az SLV esetében a 9B jelű minta HaCarla-M4 primerpárral végzett PCR vizsgálat során keletkezett termékét használtuk.

A 39A és 37A jelű, GCLV-t tartalmazó, illetve a 10A és 9B jelű, SLV-t tartalmazó növényi szövetekkel történő inokuláció útján kevert fertőzést nem sikerült létrehozni. A 24. táblázat a CarlaAS1-20 sorozatban létrejött fertőzések alakulását mutatja.



32. ábra: A CarlaAS1-10 sorozatban létrejött carlavírus fertőzöttség mesterséges inokuláció hatására



33. ábra: A CarlaAS11-20 sorozatban létrejött carlavírus fertőzöttség mesterséges inokuláció hatására

24. táblázat: A PotyAP1-8, a PotyAS1-8 és a CarlaAS1-20 sorozat mesterséges fertőzésének eredményei

| Fertőzött minta neve | Fertőzött növényi anyag               | Inokulált vírusfaj | Fertőzés sikeressége |
|----------------------|---------------------------------------|--------------------|----------------------|
| PotyAP1              | <i>Allium porrum</i> 'Lincoln'        | LYSV               | ✗                    |
| PotyAP2              | <i>Allium porrum</i> 'Lincoln'        | LYSV               | ✗                    |
| PotyAP3              | <i>Allium porrum</i> 'Lincoln'        | LYSV               | ✗                    |
| PotyAP4              | <i>Allium porrum</i> 'Lincoln'        | LYSV               | ✗                    |
| PotyAP5              | <i>Allium porrum</i> 'Lincoln'        | LYSV               | ?                    |
| PotyAP6              | <i>Allium porrum</i> 'Lincoln'        | LYSV               | ✗                    |
| PotyAP7              | <i>Allium porrum</i> 'Lincoln'        | LYSV               | ?                    |
| PotyAP8              | <i>Allium porrum</i> 'Lincoln'        | LYSV               | ✗                    |
| PotyAS1              | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | LYSV               | ✗                    |
| PotyAS2              | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | LYSV               | ✓                    |
| PotyAS3              | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | LYSV               | ✓                    |
| PotyAS4              | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | LYSV               | ✓                    |
| PotyAS5              | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | LYSV               | ✓                    |
| PotyAS6              | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | LYSV               | ✓                    |
| PotyAS7              | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | LYSV               | ✓                    |
| PotyAS8              | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | LYSV               | ✓                    |
| CarlaAS1             | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | GCLV<br>SLV        | ✗                    |
| CarlaAS2             | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | GCLV<br>SLV        | ✗                    |
| CarlaAS3             | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | GCLV<br>SLV        | GCLV                 |
| CarlaAS4             | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | GCLV<br>SLV        | ✗                    |
| CarlaAS5             | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | GCLV<br>SLV        | GCLV                 |
| CarlaAS6             | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | GCLV<br>SLV        | SLV                  |
| CarlaAS7             | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | GCLV<br>SLV        | GCLV                 |
| CarlaAS8             | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | GCLV<br>SLV        | SLV                  |
| CarlaAS9             | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | GCLV<br>SLV        | ✗                    |
| CarlaAS10            | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | GCLV<br>SLV        | ✗                    |
| CarlaAS11            | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | GCLV<br>SLV        | GCLV                 |
| CarlaAS12            | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | GCLV<br>SLV        | ✗                    |
| CarlaAS13            | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | GCLV<br>SLV        | SLV                  |
| CarlaAS14            | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | GCLV<br>SLV        | ✗                    |
| CarlaAS15            | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | GCLV<br>SLV        | GCLV                 |
| CarlaAS16            | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | GCLV<br>SLV        | ✗                    |
| CarlaAS17            | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | GCLV<br>SLV        | SLV                  |
| CarlaAS18            | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | GCLV<br>SLV        | SLV                  |
| CarlaAS19            | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | GCLV<br>SLV        | ✗                    |
| CarlaAS20            | <i>Allium sativum</i> 'Makói Tavaszi' | GCLV<br>SLV        | GCLV                 |

Megjegyzés: A ✓-val jelölt minták esetében a fertőzés létrejött, az ✗-szel jelölt minták esetében a fertőzés nem jött létre. A ?-el jelölt minták esetében a fertőzés létrejötte kérdéses.

## 6. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

Az általunk tervezett HaPoty szenz primer segítségével sikeresen kimutattunk valamennyi fokhagymát fertőző potyvírus fajt. A kínai és spanyol izolátumok vírusfertőzöttsége aggasztó képet fest a vírusfajok behurcolásáról, ugyanis ez a két ország nemcsak a legnagyobb fokhagyma előállítók közé tartozik világszinten, hanem Kína a világelső, Spanyolország pedig a második legnagyobb mennyiségű fokhagymát exportáló ország volt 2020-ban (FAOSTAT, 2020).

A HaPoty szenz primer felhasználási lehetőségei között azonban érdemes megemlíteni, a potenciálisan univerzális potyvírus primerként való felhasználhatóságát. Ez az indítószekvencia ugyanis a Növénykórtani Tanszéken folyó másik kutatásban, a *Bean yellow mosaic virus* kimutatására is alkalmasnak bizonyult az M4 antiszenz primerrel együtt történő felhasználás során.

A Gupta- és Yoshida-féle primerkészlettel végzett optimalizációs eljárásunk megítélése kettős. Egyfelől a kilenc primerpár közül hárommal sikerült eredményeket elérnünk, ezek közül a két Gupta-féle esett át tényleges optimalizáción. Ilyen értelemben az optimalizáció sikerességének határfoka alacsonynak tekinthető, hiszen csak két esetben kaptunk vele pozitív eredményt.

Másfelől azonban a Gupta- és Yoshida-féle, valamint a saját primerpárok felhasználásának útján szerzett szekvenciaadatok is azt mutatják, hogy az optimalizációs eljárás alap gondolata, miszerint a köpenyfehérje régió alapján legközelebbi rokonsági kapcsolatot mutató teljes genom szerint optimalizáljuk a primereket, helyes elgondolás lehetett. Az M9. melléklet M1.-M9. ábráján filogenetikai törzsfán ábrázoltuk az általunk kimutatott LYSV szekvenciákat és az NCBI-on elérhető összes LYSV teljes genom miénkkel azonos szakaszát.

Az így elkészített kilenc filogenetikai törzsfá mindegyikén megfigyelhetjük, hogy az adott génszakasz minden esetben a KP258216 referencia izolátummal mutatja a legközelebbi rokonsági kapcsolatot. Ez jelentheti azt is, hogy a köpenyfehérje régió alapján a rokonsági viszonyokra adott prognózisunk az egyéb génszakaszok filogenetikai vizsgálata során igazolódott, ám ennek vizsgálata további kutatást és nagyobb mintaelemszámot igényelne.

Ismeretlen nukleotid sorrendű izolátum genomjának feltérképezése esetén a primerek optimalizációja egy szükséges lépés lehet, ugyanis a szakirodalmi primerek hatékonysága számos esetben nem igazolható vissza *in silico* módszerekkel, a rendelkezésre álló referencia izolátumok alapján. Ugyanakkor az optimalizációs módszer még fejlesztésre szorul a határfok növelése érdekében.

Az optimalizáció szükségességét, amennyiben szakirodalmi primereket használunk, az is mutatja, hogy a teljes egészében az NCBI adatbázisban rendelkezésre álló referencia izolátumok alapján készített saját LYSV primerekkel lényegesen jobb eredményeket értünk el, mint a referencia izolátumokkal kevesebb homológiát mutató, szakirodalmi társaikkal.

A LYSV gazdanövény preferenciájának vizsgálata azt az érdekes eredményt hozta, hogy az általunk azonosított hazai izolátum látszólag nem, vagy csak kis mértékben volt képes fertőzni névadó gazdanövényfaját. A szakirodalom ugyan említést tesz a LYSV fokhagymát fertőző törzséről, a LYSV-G-ről (LOT *et al.*, 1998), azonban az NCBI adatbázis ezen a megkülönböztetett néven nem tartalmaz referencia izolátumokat, így a mi izolátumunk és a LYSV különböző törzsei közötti rokonsági viszonyok feltérképezése egyelőre nem lehetséges.

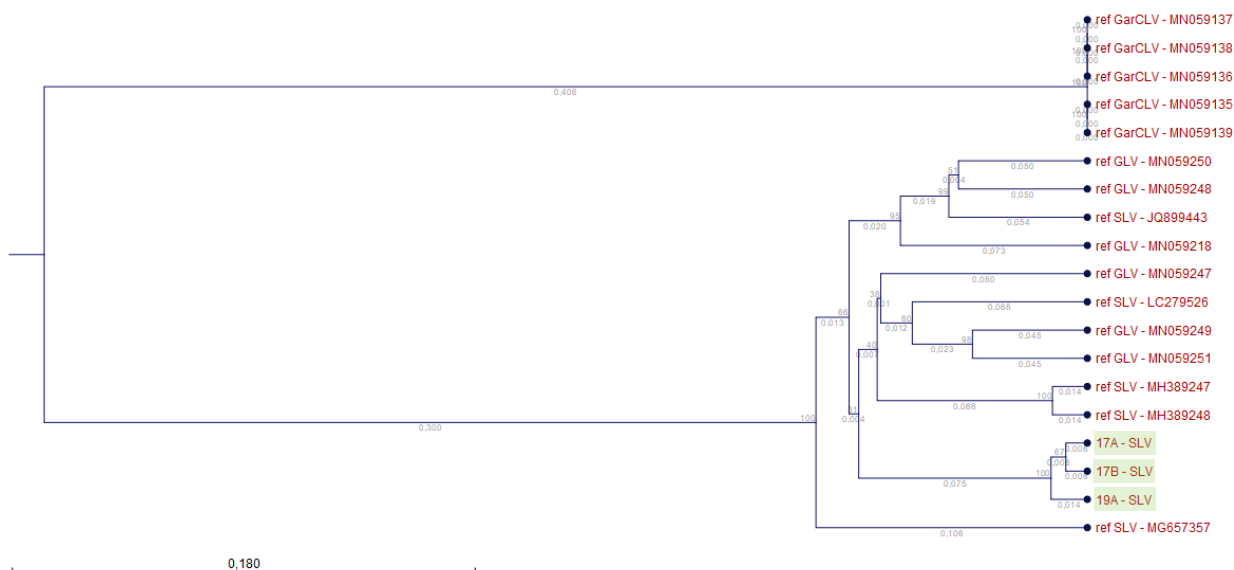
A carlavírusokkal elért eredményeinkben azt találtuk, hogy a hiányoznak azok a minták, amelyek a nemzetség mindkét fajával fertőztek. Ehhez a megállapításhoz előzetesen ellenőriztük a HaCarla primer megbízhatóságát, illetve a GCLV és SLV vírusok elkülönítésére való alkalmasságát szekvenciaanalízissel és filogenetikai törzsfa felállításával is. Ezt követően hajtottuk végre a két vírussajt együtt tartalmazó inokulumokkal a provokációs fertőzéses tesztet, amely során nem sikerült mesterséges körülmények között kevert fertőzést létrehozni egy növényen belül. A szakirodalomban találhatunk olyan eredményeket is, ahol a két vírus nem volt egyidejűleg jelen (DOVAS és VOVLAS, 2003), de olyan eredmény is létezik, amelyben sikerült a két fajt azonos növényi anyagból kimutatni (PAUZI *et al.*, 2018). A jelenség további vizsgálata lehet szükséges, ugyanis a szakirodalom szerint a nemzetség különböző fajtái nem okozhatnak egymással szembeni keresztvédettséget egy gazdanövényen belül (KING *et al.*, 2011).

A kevert fertőzések hiányának tényét tovább árnyalja, hogy az egyes fajokkal fertőzött minták bizonyos földrajzi mintázatot mutatnak; a francia mintákból csak a GCLV fajt, a kínai és román mintákból csak az SLV fajt tudtuk kimutatni, míg a spanyol mintákból egyiket sem tudtuk kimutatni. Magyarországon belül is a tájegységek közötti különbség látható; a makói minták a GCLV-vel voltak fertőztek, a hajdúnánási minták az SLV-vel, míg pl. a pusztaszentlászlói minták egyik fajt sem tartalmazták. A földrajzi elhelyezkedés és a fertőző faj közötti összefüggés szignifikanciájának megállapításához az általunk használt mintaelemszám ugyan alacsony volt, maga a jelenség a további kutatások során figyelmet érdemelhet.

Az általunk vizsgált SLV izolátumok szekvenciaadatainak BLAST analízisét követően azt az eredményt kaptuk, hogy ezek az izolátumok a GLV fajjal mutatják a legnagyobb genetikai azonosságot (19. táblázat). A nomenklatúra és a vírusfajok átnevezéseinek zavarossága miatt (3.5. fejezet) felmerülhet, hogy a GLV néven hivatkozott vírus izolátumok vajon a GCLV vagy az SLV mintákkal mutatják-e a szorosabb rokonsági kapcsolatokat? A taxonómiai átcsoportosítások során a GLV-t az SLV fokhagymát fertőző törzseként is meghatározták (SLV-G), így az a kérdés is felmerül, hogy a GLV néven hivatkozott izolátumok az SLV fajon belül valóban önálló vonalat képviselnek-e, vagyis az általunk kimutatott izolátumok valóban a SLV-G törzs tagjai lehetnek-e.

A filogenetikai törzsfa (34. ábra) vizsgálatával megállapítható, hogy a GCLV és SLV izolátumok egymástól élesen elkülönülnek, azonban a GLV és SLV izolátumok nem különülnek

el egymástól. Ez arra enged következtetni, hogy bár az általunk fejlesztett HaCarla szenz primer segítségével bizonyítottan el tudjuk különíteni a GCLV és SLV fajokat egymástól, a filogenetikai törzsfa vizsgálatával nem erősíthető meg az a BLAST analízis által sugallt tény (19. táblázat), miszerint az általunk kimutatott izolátumok valóban egy SLV-G vonalhoz tartoznának.



34. ábra: Az általunk vizsgált mintákból származó SLV izolátumok rokonsági viszonyai a köpenyfehérjét kódoló gén alapján (1000 ismétléses bootstrap analízis, UPGMA módszerrel)

Az M4 antiszenz primer jelenlétében a HaAllexi szenz primerünk működőképessége többszörösen is megerősítést nyert szekvenciaanalízisek útján, azonban az *Allexivirus* nemzetség magas fajsza miatt ezzel a primerpárral a fajspecifikus határozás nem lehetséges. A szakirodalmi eredetű és a saját fajspecifikus primereink működőképességét szintén megerősítettük, azonban a GarV-X fertőzöttséget sem a saját, sem a szakirodalmi eredetű primerpárral nem sikerült kimutatnunk annak ellenére, hogy a kísérlethez használt 49A minta GarV-X fertőzöttségét korábban már bizonyítottuk. Ennek oka ismeretlen.

Az általunk kimutatott *Garlic virus* B, C, D, és X izolátumok elnevezése a jövőben elképzelhető, hogy taxonómiai átrendezések miatt módosulhat. Bizonyos kutatások felvetik, hogy a GarV-B és a GarV-X egy azon vírusfaj két eltérő vonala lehet, ahogy a GarV-A, a GarV-E és a GarV-D fajok is egyesíthetők lehetnek (CELLI *et al.*, 2018).

A fajsza csökkenése mellett a fajsza növekedésének esélye miatti átrendeződések esélye is fennáll, ugyanis az általunk kimutatott egyik *Garlic virus* B izolátum egy feltételezett *Garlic virus* G (NCBI, 2019c) izolátummal mutatja a legnagyobb genetikai azonosságot a BLAST analízis alapján (20. táblázat). Amennyiben az ICTV hivatalosan elismeri a *Garlic virus* G faj létezését, úgy az általunk a 23A mintából kimutatott GarV-B izolátum státusza a GarV G faj első magyarországi leírásává módosulhat.

További érdekesség az allexivírusok fajspecifikus kimutatásának vonatkozásában, hogy bár a 43A és 43B minták ugyanazon fokhagymafej két különböző gerezdjéről származó vírusizolátumokat jelölnek, az azokat fertőző GarV-D izolátum szekvenciaadatai a BLAST analízis szerint más-más referencia izolátumokkal mutatnak nagyfokú genetikai azonosságot (20. táblázat), illetve a filogenetikai törzsfán sem egymás mellett helyezkednek el ezek az izolátumok (16. ábra). Ez felveti annak lehetőségét, hogy a fokhagyma növényt egy azon vírusfaj eltérő törzsei egyidejűleg fertőzhetik. Ez a nemzetségek közötti komplex fertőzés és a nemzetségen belüli, fajok közötti komplex fertőzés mellett a fertőzési események eddig fokhagymán nem vizsgált új tengelyét, a fajon belüli, törzsek közötti komplex fertőzés, vagy rekombináció lehetőségét veti fel. Ez új kutatási vonalat nyithat meg a nemzetségek- és fajok közötti szinergista- és antagonista kölcsönhatások, továbbá az ezek által okozott termésveszteség vizsgálatának területén is.

A vizsgálatokat a GarV-A, GarV-E és ShVX fajok irányába lehet érdemes kiterjeszteni a jövőben, ezeket a fajokat ugyanis Lengyelországban már leírták (CHODORSKA *et al.*, 2014).

Vizsgálataink során vírusmentes fokhagyma növényt nem azonosítottunk, vagyis az összes általunk vizsgált minta a három nemzetség legalább egy fajával fertőzött volt. Magyarországon a certifikált fokhagyma vetőgerezdek jellemzően az OYDV potyvírus fajra szűrnek (FVM 50/2004. (IV. 22.)), azonban az általunk vizsgált, Magyarországon előállított, certifikált vetőgerezdek szinte minden esetben fertőzöttek voltak carlavírus és allexivírus fajokkal. Ez a termesztési gyakorlatban azt jelentheti, hogy a szabadföldön jó eséllyel bekövetkező potyvírusos fertőződés kialakulása esetén (CONCI *et al.*, 2003) a vírus nem egyedi fertőzésben, hanem rögtön a legkomolyabb gazdasági kárral fenyegető víruskomplex formájában fejti ki negatív hatását (LOT *et al.*, 1998). Amennyiben a termesztő a vetőgerezdet nem vásárolja, hanem az előző évi betakarított terményből telepít vissza, úgy a víruskomplex kialakulásának az esélye és a lehetséges termésveszteség mértéke tovább nő (CONCI *et al.*, 2003). A vegetatív szaporítási technológia miatt nemcsak a certifikált vetőgerezdek, de az étkezési célra értékesített fokhagyma is egyben lehetséges házikerti szaporítóanyag, ami hosszabb távon a vírusok üzemi felszaporodásának kedvez. Az egyre inkább globalizálódó piacokon a fokhagyma behozatal további lehetséges fertőzési forrást jelenthet.

A makói minták fertőzöttsége feltűnő. Ez nemcsak a fokhagymatermesztés, hanem a teljes hagymatermesztési ágazatot is veszélyezteti, hiszen ezeknek a vírusfajoknak egy része az *Allium* nemzetség több tagját is képes fertőzni, emiatt az olyan hagymafajoknál, mint a vöröshagyma, vagy póréhagyma, amelyeknél a generatív szaporítás lehetősége fennáll, a kizárólag vegetatívan szaporított fokhagyma rezervoár növényként viselkedhet. A jövőben javasoljuk a fokhagymatermesztés és a szaporítóanyag előállítás során nemcsak az OYDV-re kiterjedő tesztelését, hanem annak teljes körű virológiai vizsgálatokkal való kiegészítését. Szóba kerülhet

még a környező gyomflóra rezervoár szerepének vizsgálata, illetve az állati vektorok mellett a termesztéstechnológiai műveletek vektorszerepe is.

## 7. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Új, hatékony primerek tervezése a *Potyvirus*, *Carlavirus* és *Allexivirus* nemzetségbe tartozó fokhagymát is fertőző vírusnemzetségek- és fajok kimutatására.
2. A *Leek yellow stripe virus*, *Garlic virus B*, *Garlic virus C*, *Garlic virus D* és *Garlic virus X* első hazai kimutatása.
3. A szekvenciaadatok alapján az izolátumok, filogenetikai rokonsági viszonyainak feltárása.
4. A hazai LYSV izolátum gazdanövény specifikus, vírusátviteli tulajdonságainak jellemzése.
5. A fokhagymát fertőző *Carlavirus*-ok komplex fertőzési tulajdonságainak jellemzése.

## 8. ÖSSZEFOGLALÁS

A fokhagymát számos vírusfaj képes fertőzni, melyek bizonyítottan komoly gazdasági kártételre képesek és súlyosan hátráltathatják az eredményes fokhagymatermesztést. Kutatásom során a fokhagymát fertőző legfontosabb három vírusnemzetség tizenhárom fajtát vizsgáltam, melyek a *Potyvirus* nemzetség *Leek yellow stripe virus*, *Onion yellow dwarf virus* és *Shallot yellow stripe virus* fajtái, a *Carlavirus* nemzetség *Garlic common latent virus* és a *Shallot latent virus* fajtái, valamint az *Allexivirus* nemzetség *Garlic virus* A, B, C, D, E, X, a *Shallot virus* X és a *Garlic mite-borne filamentous virus* fajtái.

Vizsgálataim során saját fejlesztésű, szakirodalmi eredetű, valamint szakirodalmi eredetű, de általunk optimalizált primerkészlettel is dolgoztam. Ezeket a felhasználásuk módja és célja szerint négy csoportra osztottuk.

A saját fejlesztésű HaPoty HaCarla és HaAllexi szenz primerekkel a vírusfajok nemzetségspecifikus meghatározását tudtuk elvégezni. Ezenkívül a HaPoty és HaCarla primerek a nemzetség tagjainak fajspecifikus meghatározására is alkalmasak, ugyanis a nemzetség eltérő fajtái esetében más-más méretű PCR-terméket amplifikálnak. Az allexivírusok fajspecifikus kimutatására saját fejlesztésű és szakirodalmi eredetű primereket is felhasználtunk. A Gupta- és Yoshida-féle szakirodalmi eredetű LYSV teljes genom primerkészletet egy optimalizációs eljárással a saját célszekvenciánk szerint módosítottuk. Ennek oka, hogy tapasztalataink szerint a szakirodalomban leírt primerkészletek működőképessége csak ritkán, nem kielégítő módon erősíthető meg *in silico*, az NCBI adatbázisában rendelkezésre álló referencia izolátumok alapján. Végezetül saját fejlesztésű LYSV primerkészletet is előállítottunk, melyeknél az NCBI referencia izolátumainak szekvenciaadatait vettük alapul. A kísérletek során több esetben touchdown-PCR technikával egészítettük ki a hagyományos PCR eljárás eredményeit a specifitás növelése és a primerkészletek működésének jobb megértése érdekében. A gélelektroforézist követően a megfelelő bp hosszúságú mérettartományba eső amplikonokat izoláltuk és szekvenáltattuk. Az így visszakapott szekvenciaadatokat BLAST analízissel vizsgáltuk és a rokonsági viszonyok feltárása érdekében filogenetikai törzsfát készítettünk.

Vizsgálataink során a három nemzetség hét fajáról szolgáltatunk nukleotid szekvenciaadatokat, továbbá az egyik izolátumunk egy lehetséges nyolcadik fajként is megjelenik a nemzetközi adatbázisban. Hazánkban öt új vírusfaj jelenlétét mutattuk ki, melyek közül az egyik a komoly gazdasági kárral fenyegető *Leek yellow stripe virus*. A hazai LYSV izolátum genomjáról szekvenciaadatokat közöltünk, így a saját fejlesztésű és a szakirodalmi primerek segítségével a genom ~60%-t feltártuk, a megismert szekvenciaadatok alapján a rokonsági viszonyokat megvizsgáltuk.

## 9. SUMMARY

Garlic can be infected by numerous virus species, which can cause serious economic damage and can hamper the garlic production. In my research, I have investigated thirteen species of the three most important virus genera infecting garlic, namely species of the genus *Potyvirus* (*Leek yellow stripe virus*, *Onion yellow dwarf virus* and *Shallot yellow stripe virus*) species of the genus *Carlavirus* (*Garlic common latent virus* and *Shallot latent virus*) and species of the genus *Allexivirus* (*Garlic virus A, B, C, D, E, X, Shallot virus X* and *Garlic mite-borne filamentous virus*).

In my survey I have also used a primer set from the literature, developed in-house and a set of primers from the literature but optimized by us. These were divided into four groups according to the way and purpose of their use.

With the HaPoty, HaCarla and HaAllexi forward primers we were able to perform genus-specific identification of virus species. In addition, the HaPoty and HaCarla primers can also be used for species-specific determination of genus members, as they amplify different sizes of PCR products on different species of the genus. For species-specific detection of Allexiviruses, we also used primers developed by us and derived from the literature. The Gupta and Yoshida LYSV complete genome primer set was modified with an optimization method according to our most related target sequence. The reason for this is that, in our experience, the functionality of the primer sets described in the literature, can only rarely be confirmed by bioinformatic methods, based on reference isolates available in the NCBI database. Finally, we also designed a LYSV primer set based on sequence data from NCBI reference isolates. In our experiments we used conventional PCR technique as well as touchdown PCR to increase the specificity of detection and to better understand the functionality of the primer sets.

After gelelectrophoresis, amplicons were isolated and have them sequenced. The recovered sequence data were analysed by BLAST analysis and a phylogenetic tree was constructed to explore relationships.

Our studies yielded sequence data for seven species of the three most important garlic infecting virus genera, and one of our isolates appears as a putative eighth species based on the international database. In our country, we detected the presence of five new virus species, among others *Leek yellow stripe virus*, which is a serious threat to garlic farming. We have obtained sequence data from the genome of LYSV found in Hungary, using own-developed primers and primers derived from the literature. This way we have explored ~60% of the genome, and based on the sequence data we have examined the relationships.

## 10. MELLÉKLETEK

### M1. Irodalomjegyzék

1. ABIKO, K., WATANABE, Y. és NISHI, Y. (1980): Studies on garlic mosaic. I. Causal virus. In: *Bulletin of the Vegetable and Ornamental Crops Research Station*. 7 139-147 p.
2. ABTAHI, F. S. és HABIBI, M. K. (2008): Host range and some characterization of *Tobacco streak virus* isolated from lettuce in Iran. In: *African Journal of Biotechnology*. 23 (7) 4260-4264 p.
3. ADAMS, M. J., ANTONIW, J. F., BAR-JOSEPH, M., BRUNT, A. A., CANDRESSE, T., FOSTER, G. D., MARTELLI, G. P., MILNE, R. G. és FAUQUET, C. M. (2004): Virology Division News: The new plant virus family *Flexiviridae* and assessment of molecular criteria for species demarcation. In: *Archives of Virology*. 5 (149) 1045-1060 p.
4. AGROFÓRUM (2017): Összefogással a magyar hagymáért. Link: ['www.agroforum.hu/agrarhirek/zoldseg-gyumolcs/osszefogással-a-magyar-hagymaert/'](http://www.agroforum.hu/agrarhirek/zoldseg-gyumolcs/osszefogással-a-magyar-hagymaert/), *Agroforum*
5. AGROFÓRUM (2018): Csak januárig elég a magyar hagymatermés. Link: ['www.agroforum.hu/agrarhirek/zoldseg-gyumolcs/csak-januorig-eleg-magyar-hagymatermes/'](http://www.agroforum.hu/agrarhirek/zoldseg-gyumolcs/csak-januorig-eleg-magyar-hagymatermes/), *Agroforum*
6. AGROINFORM (2018): Már kapható a hazai fokhagyma és vöröshagyma. Link: ['www.agroinform.hu/gazdasag/mar-kaphato-a-hazai-fokhagyma-es-voroshagyma-37658-001'](http://www.agroinform.hu/gazdasag/mar-kaphato-a-hazai-fokhagyma-es-voroshagyma-37658-001/), *Agroinform*
7. AHMED, K. M. és BENIGNO, D. A. (1984): Investigation into the relationship of the eriophyid mite (*Aceria tulipae* Keifer) with the 'tangle-top' and mosaic disease of garlic. In: *Bangladesh Journal of Agricultural Research*. 1 (9) 38-47 p.
8. AKHTER, M. S., HOLKAR, S. K., AKANDA, A. M., MANDAL, B. és JAIN, R. K. (2012): First report of *Groundnut bud necrosis virus* in tomato in Bangladesh. In: *Plant Disease*. 6 (96) 917-918 p.
9. AKRAM, M., NAIMUDDIN, K. és JAIN, R. K. (2012): Sequence diversity in the NSm gene of *Groundnut bud necrosis virus* isolates originating from different hosts and locations in India. In: *Journal of Phytopathology*. 7-8 (160) 424-427 p.
10. ALEXANDRE, M. A. V., DUARTE, L. M. L., RIVAS, E. B., CILLI, A., HARAKAVA, R., GALLETTI, S. R. és KITAJIMA, E. W. (2011): *Hippeastrum mosaic virus* diagnosed in *Hippeastrum* and *Eucharis* in Brazil. In: *Journal of Plant Pathology*. 3 (93) 643-649 p.
11. ALVES, M., MARRACCINI, F. M., MELO, P. D., DUSI, A. N., PIO-RIBEIRO, G. és RIBEIRO, B. M. (2008): Recombinant expression of Garlic virus C (GARV-C) capsid protein in insect cells and its potential for the production of specific antibodies. In: *Microbiological Research*. 3 (163) 354-361 p.
12. ALVES, T. M., DE NOVAES, Q. S., DE PAULA, A., CAMELO-GARCÍA, V. M., NAGATA, T., SILVA, J. M. F., REZENDE, J. A. M. és KITAJIMA, E. W. (2020): Near-complete genome sequence and biological properties of an *Allexivirus* found in *Senna rizzinii* in Brazil. In: *Archives of Virology*. 6 (165) 1463-1467 p.
13. AM 30/2018. (X. 11.) (2018): AM rendelet az egyes agrártárgyú miniszteri rendeletek módosításáról. Az egyes jelentős dísznövény fajok szaporítóanyaga minőségét hátrányosan befolyásoló, jellemző kórokozók és kártevők. Agrárminisztérium. Magyarország
14. ARKHIPOV, A. V., GUSHCHIN, V. A., VISHNICHENKO, V. K. és SOLOVYEV, A. G. (2013): Accumulation of changes in the genome of *Shallot virus X* persisting in vegetatively reproduced plants. In: *Doklady Biochemistry and Biophysics*. 2 (452) 237-240 p.
15. ATREYA, C. D., RACCAH, B. és PIRONE, T. P. (1990): A point mutation in the coat protein abolishes aphid transmissibility of a *Potyvirus*. In: *Virology*. 1 (178) 161-165 p.

16. AYDIN, Ç., CENNET, Ö. és MAMMADOV, R. (2015): Determination of antioxidant activities of two endemic *Allium* species from Turkey: *A. sibthorpium* and *A. stylosum*. In: *Journal of Applied Biological Sciences*. 2 (9) 31-36 p.
17. BAG, S., SCHWARTZ, H. F., CRAMER, C. S., HAVEY, M. J. és PAPPU, H. R. (2015): *Iris yellow spot virus* (*Tospovirus: Bunyaviridae*): from obscurity to research priority. In: *Molecular Plant Pathology*. 3 (16) 224-237 p.
18. BAKARDJIEVA, N. és DENKOVA, S. (1996): *Hippeastrum mosaic virus* isolated in Bulgaria. In: *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 1 (10) 41-43 p.
19. BAMPI, D., REINSEL, M. D. és HAMMOND, J. (2015): Viruses present in ornamental *Allium* in the United States. In: (szerk.). *Proceedings of the APS Annual Meeting*, 513 p.
20. BARG, E., LESEMAN, D. E., VETTEN, H. J. és GREEN, S. K. (1993): Identification, partial characterization, and distribution of viruses infecting *Allium* crops in South and Southeast Asia. In: (szerk.). *International Symposium on Alliums for the Tropics* 358, 251-258 p.
21. BARNÓCZKI, A. (2004): Fokhagyma. In: Hodossi, S., Kovács, A., Terbe, I. (szerk.). *Zöldségtermesztés szabadföldön*. Budapest: *Mezőgazda Kiadó*. 140-149 p.
22. BEHNCKEN, G. M. (1983): A disease of chickpea caused by *Lettuce necrotic yellows virus*. In: *Australasian Plant Pathology*. 4 (12) 64-65 p.
23. BELAY, D. K., HUCKABA, R. M., RAMIREZ, A. M., RODRIGUES, J. C. V. és FOSTER, J. E. (2012): Insecticidal control of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) transmitting *Carlavirus* on soybeans and detection of the virus in alternate hosts. In: *Crop Protection*. (35) 53-57 p.
24. BEREDA, M., KALINOWSKA, E., PADUCH-CICHAL, E. és SZYNDEL, M. S. (2015): Low genetic diversity of a natural population of *Garlic virus D* from Poland. In: *European Journal of Plant Pathology*. 2 (142) 411-417 p.
25. BEREDA, M., PADUCH-CICHAL, E. és DABROWSKA, E. (2017): Occurrence and phylogenetic analysis of allexiviruses identified on garlic from China, Spain and Poland commercially available on the polish retail market. In: *European Journal of Plant Pathology*. 1 (149) 227-237 p.
26. BERNIAK, H., KOMOROWSKA, B. és SOCHACKI, D. (2013): Detection of *Narcissus latent virus* isolates using one-step RT-PCR assay. In: *Journal of Horticultural Research*. 1 (21) 11-14 p.
27. BESERRA, J. E. A., DE CARVALHO, M. G., BARGUIL, B. M. és ZERBINI, F. M. (2011): Partial genome sequence of a *Potyvirus* and of a virus in the order *Tymovirales* found in *Senna macranthera* in Brazil. In: *Tropical Plant Pathology*. 2 (36) 116-120 p.
28. BLANC, S., AMMAR, E. D., GARCIA-LAMPASONA, S. C., DOLJA, V. V., LLAVE, C., BAKER, J. és PIRONE, T. P. (1998): Mutations in the *Potyvirus* helper component protein: effects on interactions with virions and aphid stylets. In: *Journal of General Virology*. 12 (79) 3119-3122 p.
29. BOBEV, S. G., DE JONGHE, K. és MAES, M. (2018): First report of *Tobacco necrosis virus* causing the ABC disease on potato tubers in Bulgaria. In: *Plant Disease*. 4 (102) 829-830 p.
30. BOS, L., HUTTINGA, H. és MAAT, D. Z. (1978): *Shallot latent virus*, a new *Carlavirus*. In: *Netherlands Journal of Plant Pathology*. 6 (84) 227-237 p.
31. BREMER, H. (1937): Über die bisher fälschlich 'Zwiebelrotz' genannte Gelbstreifigkeit an Zwiebelsamenträgern. In: *Phytopathologische Zeitschrift*. (10) 79-105 p.
32. BRUNT, A. A. (1977): Some hosts and properties of *Narcissus Latent Virus*, a *Carlavirus* commonly infecting *Narcissus* and *Bulbous Iris*. In: *Annals of Applied Biology*. 3 (87) 355 p.
33. BUDAI, C., KISS, F. és REGÖS, A. (1999): A fokhagyma növényvédelme. In: *Növényvédelem*. 4 (35) 153-158 p.
34. CAFRUNE, E. E., PEROTTO, M. C. és CONCI, V. C. (2006): Effect of two *Allexivirus* isolates on garlic yield. In: *Plant Disease*. 7 (90) 898-904 p.

35. CALVERT, E. L. és HARRISON, B. D. (1963): Outbreaks of *Tomato black ring virus* in onion and leek crops in Northern Ireland. In: *Horticultural Research*. (2) 115-20 p.
36. CANAVELLI, A., NOME, S. F. és CONCI, V. C. (1998): Effect of different viruses on yield of garlic (*Allium sativum*) 'Rosado Paraguayo'. In: *Fitopatologia Brasileira*. 3 (23) 354-358 p.
37. CARDIN, L., ONESTO, J. P., BORNARD, I. és MOURY, B. (2008): First report of *Tobacco rattle virus* in *Aquilegia sp.* in France. In: *Journal of Plant Pathology*. 3 (90) 586-586 p.
38. CARVALHO, M. G., SHEPHERD, R. R. és HALL, D. H. (1981): Virus em clone de alho sem sintomas e liberto do *Garlic yellow stripe virus*. In: *Fitopatologia Brasileira*. (6) 236 p.
39. CELLI, M. G., PEROTTO, M. C., LUCIANI, C. E., POZZI, E. A. és CONCI, V. C. (2018): Molecular characterization of the *Garlic virus B* genome and evidence of *Allexivirus* recombination. In: *European Journal of Plant Pathology*. (153) 301-310 p.
40. CHARRON, C., NICOLAÏ, M., GALLOIS, J. L., ROBAGLIA, C., MOURY, B., PALLOIX, A. és CARANTA, C. (2008): Natural variation and functional analyses provide evidence for co-evolution between plant eIF4E and potyviral VPg. In: *The Plant Journal*. 1 (54) 56-68 p.
41. CHEN, J., CHEN, J. és ADAMS, M. J. (2001a): Molecular characterisation of a complex mixture of viruses in garlic with mosaic symptoms in China. In: *Archives of Virology*. 10 (146) 1841-1853 p.
42. CHEN, J., CHEN, J. és ADAMS, M. J. (2001b): A universal PCR primer to detect members of the *Potyviridae* and its use to examine the taxonomic status of several members of the family. In: *Archives of Virology*. 4 (146) 757-766 p.
43. CHEN, J. és CHEN, J. P. (2002): Genome organization and phylogenetic tree analysis of *Garlic virus E*, a new member of genus *Allexivirus*. In: *Chinese Science Bulletin*. 1 (47) 33-37 p.
44. CHEN, J., CHEN, J. P. és ADAMS, M. J. (2002a): Characterisation of some carla-and potyviruses from bulb crops in China. In: *Archives of Virology*. 2 (147) 419-428 p.
45. CHEN, J., WEI, C. B., ZHENG, H. Y., SHI, Y. H., ADAMS, M. J., LIN, L., ZHANG, Q. Y., WANG, S. J. és CHEN, J. P. (2005): Characterisation of the welsh onion isolate of *Shallot yellow stripe virus* from China. In: *Archives of Virology*. 10 (150) 2091-2099 p.
46. CHEN, J., ZHENG, H. Y., ANTONIW, J. F., ADAMS, M. J., CHEN, J. P. és LIN, L. (2004): Detection and classification of allexiviruses from garlic in China. In: *Archives of Virology*. 3 (149) 435-445 p.
47. CHEN, J., ZHENG, H. Y., CHEN, J. P. és ADAMS, M. J. (2002b): Characterisation of a *Potyvirus* and a *Potexvirus* from Chinese scallion. In: *Archives of Virology*. 4 (147) 683-693 p.
48. CHITTARATH, K., RUNGSAWANG, W., PONGSAPICH, P., KONG, G. A., THOMAS, J. E. és GEERING, A. D. W. (2017): First records of the potyviruses *Chilli ringspot virus* and *Shallot yellow stripe virus* from Laos. In: *Australasian Plant Disease Notes*. 1 (12) 53 p.
49. CHODORSKA, M., PADUCH-CICHAL, E., KALINOWSKA, E. és SZYNDEL, M. S. (2014): Assessment of allexiviruses infection in garlic plants in Poland. In: *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*. 2 (13) 179-186 p.
50. CHUNG, B. Y.-W., MILLER, W. A., ATKINS, J. F. és FIRTH, A. E. (2008): An overlapping essential gene in the *Potyviridae*. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 15 (105) 5897-5902 p.
51. CONCI, V., NOME, S. F. és MILNE, R. G. (1992): Filamentous viruses of garlic in Argentina. In: *Plant Disease*. 6 (76) 594-596 p.
52. CONCI, V. C., CANAVELLI, A., LUNELLO, P., DI RIENZO, J., NOME, S. F., ZUMELZU, G. és ITALIA, R. (2003): Yield losses associated with virus-infected garlic plants during five successive years. In: *Plant Disease*. 12 (87) 1411-1415 p.
53. CONCI, V. C., PEROTTO, M. C., CAFRUNE, E. és LUNELLO, P. (2005): Program for intensive production of virus-free garlic plants. In: *ISHS Acta Horticulturae*. (688) 195-200 p.

54. CUI, H. G. és WANG, A. (2016): *Plum pox virus* 6K1 protein is required for viral replication and targets the viral replication complex at the early stage of infection. In: *J Virol.* 10 (90) 5119-5131 p.
55. CUI, X. P., WEI, T., CHOWDA-REDDY, R. V., SUN, G. és WANG, A. (2010): The *Tobacco etch virus* P3 protein forms mobile inclusions via the early secretory pathway and traffics along actin microfilaments. In: *Virology.* 1 (397) 56-63 p.
56. DA SILVA, L. A., OLIVEIRA, A. S., MELO, F. L., ARDISON-ARAÚJO, D. M. P., RESENDE, F. V., RESENDE, R. O. és RIBEIRO, B. M. (2019): A new virus found in garlic virus complex is a member of possible novel genus of the family *Betaflexiviridae* (order *Tymovirales*). In: *PeerJ Publish.* (7) e6285 p.
57. DAIMEI, G., RAINA, H. S., DEVI, P. P., SAURAV, G. K., RENUKADEVI, P., MALATHI, V. G., SENTHILRAJA, C., MANDAL, B. és RAJAGOPAL, R. (2017): Influence of *Groundnut bud necrosis virus* on the life History traits and feeding preference of its vector, *Thrips palmi*. In: *Phytopathology.* 11 (107) 1440-1445 p.
58. DAVIS, J. R. és ALLEN, T. C. (1975): Weed hosts of *Tobacco rattle virus* in Idaho. In: *American Potato Journal.* 1 (52) 1-8 p.
59. DE CARVALHO, M. G. (1980): Identification and properties of viruses in garlic. PhD. dolgozat. *University of California, California*
60. DELÉCOLLE, B. és LOT, H. (1981): Viroses de l'ail: I.-Mise en évidence et essais de caractérisation par immunoélectromicroscopie d'un complexe de trois virus chez différentes populations d'ail atteintes de mosaïque. In: *Agronomie.* 9 (1) 763-770 p.
61. DHALL, R. K. (2015): True seed production of garlic (*Allium sativum* L.) in sub-tropical plains of India. In: *Vegetable Science.* 1 (42) 44-48 p.
62. DIEKMANN, M. (1997): *Allium* spp. Prague: *Bioversity International.* 19-35 p.
63. DOVAS, C. I., HATZILOUKAS, E., SALOMON, R., BARG, E., SHIBOLETH, Y. és KATIS, N. I. (2001a): Comparison of methods for virus detection in *Allium* spp. In: *Journal of Phytopathology.* 11-12 (149) 731-737 p.
64. DOVAS, C. I., HATZILOUKAS, E., SALOMON, R., BARG, E., SHIBOLETH, Y. és KATIS, N. I. (2001b): Incidence of viruses infecting *Allium* spp. in Greece. In: *European Journal of Plant Pathology.* 7 (107) 677-684 p.
65. DOVAS, C. I. és VOVLAS, C. (2003): Viruses infecting *Allium* spp. in southern Italy. In: *Journal of Plant Pathology.* 2 (85) 135 p.
66. ELLIS, P., STACE-SMITH, R. és DE VILLIERS, G. (1997): Identification and geographic distribution of serotypes of *Potato virus Y*. In: *Plant Disease.* 5 (81) 481-484 p.
67. ENGLONER, A. (2007): A gyökérrendszer alaktana. In: Nagy, J. (szerk.). *Botanika I.* Budapest.: *Nemzeti Tankönyv Kiadó.* 138-143. p.
68. EPPO (2018): EPPO Global Database (available online). Link: '[www.gd.eppo.int](http://www.gd.eppo.int)', EPPO
69. FAJARDO, T. V. M., NISHIJIMA, M., BUSO, J. A., TORRES, A. C., ÁVILA, A. C. és RESENDE, R. O. (2001): Garlic viral complex: identification of potyviruses and carlavirus in central Brazil. In: *Fitopatologia Brasileira.* 3 (26) 619-626 p.
70. FAOSTAT (2020): Food and agriculture organisation of the United Nations. Link: '[www.fao.org](http://www.fao.org)', FAOSTAT
71. FAUQUET, C. M., MAYO, M. A., MANILOFF, J., DESSELBERGER, U. és BALL, L. A. (2005): Virus taxonomy: VIIIth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. S.l.: *Elsevier Academic Press.* p.
72. FAYAD-ANDRE, M. D., DUSI, A. N. és RESENDE, R. O. (2011): Spread of viruses in garlic fields cultivated under different agricultural production systems in Brazil. In: *Tropical Plant Pathology.* 6 (36) 341-349 p.

73. FERNÁNDEZ, A., GUO, H. S., SÁENZ, P., SIMÓN-BUELA, L., DE CEDRÓN, M. G. és GARCÍA, J. A. (1997): The motif V of *Plum pox potyvirus* CI RNA helicase is involved in NTP hydrolysis and is essential for virus RNA replication. In: *Nucleic Acids Research*. 22 (25) 4474-4480 p.
74. FIDAN, H., ÇAĞLAR, B. K., BALOĞLU, S. és YILMAZ, M. A. (2012): *Urginea maritime* (L.) is a new host of *Allexivirus* group on onion and garlic plants in Turkey. In: (szerk.). *XI International Symposium on Flower Bulbs and Herbaceous Perennials 1002*, 309-312 p.
75. FVM 50/2004. (IV. 22.) (2004): FVM rendelet a zöldség szaporítóanyagok előállításáról és forgalomba hozataláról. Földművelésügyi és Vidékfejlesztési Minisztérium. Magyarország
76. GABRENAITE-VERKHOVSKAYA, R., ANDREEV, I. A., KALININA, N. O., TORRANCE, L., TALIANSKY, M. E. és MÄKINEN, K. (2008): Cylindrical inclusion protein of *Potato virus A* is associated with a subpopulation of particles isolated from infected plants. In: *Journal of General Virology*. 3 (89) 829-838 p.
77. GALOCHKINA, L. A. és IVASHCHENKO, I. I. (1981): Onion mosaic on leek. In: *Zashchita Rastenii*. 10 (29) p.
78. GAO, F. L., SHEN, J. G., LIAO, F. R., CAI, W., LIN, S. Q. Q., YANG, H. K. K. és CHEN, S. L. L. (2018): The first complete genome sequence of *Narcissus latent virus* from *Narcissus*. In: *Archives of Virology*. 5 (163) 1383-1386 p.
79. GAWANDE, S. J., GURAV, V. S., INGLE, A. A. és GOPAL, J. (2015): First report of *Garlic virus A* in Garlic From India. In: *Plant Disease*. 9 (99) 1288-1288 p.
80. GERA, A., COHEN, J., SALOMON, R. és RACCAH, B. (1998): *Iris yellow spot tospovirus* detected in onion (*Allium cepa*) in Israel. In: *Plant Disease*. 1 (82) 127-127 p.
81. GERA, A., LESEMANN, D. E., COHEN, J., FRANCK, A., LEVY, S. és SALOMON, R. (1997): The natural occurrence of *Turnip mosaic potyvirus* in *Allium ampeloprasum*. In: *Journal of Phytopathology*. 7 (145) 289-293 p.
82. GHANI, M. J. A. (2010): Determination of alliin and allicin in different types garlic using high performance liquid chromatography. In: *Journal of university of Anbar for Pure science*. 2 (4) 16-23 p.
83. GOLNARAGHI, A. R., POURRAHIM, R., SHAHRAEEN, N. és FARZADFAR, S. (2002): First report of *Groundnut bud necrosis virus* in Iran. In: *Plant Disease*. 5 (86) 561 p.
84. GOMBKÖTŐ, C. (2011): Őszi és tavaszi termesztésű fokhagymák értékelő összehasonlítása. PhD. dolgozat. *Nyugat-Magyarországi Egyetem, Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Kar Mosonmagyaróvár*
85. GRAICHEN, K. (1975): *Allium*-Arten als natürliche Wirte nematodenübertragbarer Viren. In: *Archives of Phytopathology & Plant Protection*. 6 (11) 399-403 p.
86. GRAICHEN, K. és LEISTNER, H.-U. (1987): Zwiebelgelbstreifen - Virus (*Onion yellow dwarf virus*) verursacht Knoblauchmosaik: (Kurze Mitteilung). In: *Archives of Phytopathology & Plant Protection*. 2 (23) 165-168 p.
87. GREEN, S. K. és DENG, T. C. (1985): *Turnip mosaic virus* strains in cruciferous hosts in Taiwan. In: *Plant Disease*. 1 (69) 28-31 p.
88. GRISONI, M., MARAIS, A., FILLOUX, D., SAISON, A., FAURE, C., JULIAN, C., THEIL, S., CONTRERAS, S., TEYCHENEY, P. Y., ROUMAGNAC, P. és CANDRESSE, T. (2017): Two novel *Alphaflexiviridae* members revealed by deep sequencing of the *Vanilla* (*Orchidaceae*) virome. In: *Archives of Virology*. 12 (162) 3855-3861 p.
89. GRZELA, R., STROKOVSKA, L., ANDRIEU, J.-P., DUBLET, B., ZAGORSKI, W. és CHROBOCZEK, J. (2006): *Potyvirus* terminal protein VPg, effector of host eukaryotic initiation factor eIF4E. In: *Biochimie*. 7 (88) 887-896 p.
90. GUPTA, N., ISLAM, S., SHARMA, S. K. és BARANWAL, V. K. (2017): Complete Genome Sequence of an Isolate of *Leek yellow stripe virus* from Garlic in India. In: *Journal of Plant Pathology*. 3 (99) 793-797 p.

91. HA, C., REVILL, P., HARDING, R. M., VU, M. és DALE, J. L. (2008): Identification and sequence analysis of potyviruses infecting crops in Vietnam. In: *Archives of Virology*. 1 (153) 45-60 p.
92. HAMED, A. H., OM-HASHEM, E.-B. M., GHANEM, G. A., ELNAGAAR, M. H. és SHAFIE, M. S. (2012a): Isolation and identification of *Tobacco rattle tobravirus* affecting onion (*Allium cepa* L.) plants in Egypt. In: *International journal of Virology*. 1 (8) 39-49 p.
93. HAMED, K., MENZEL, W., MOHAMED, M., DAFALLAH, G., GADELSEED, A. és WINTER, S. (2012b): First report of *Shallot virus X* in onion in Sudan. In: *Plant Disease*. 7 (96) 1075-1075 p.
94. HAMED, K., MENZEL, W., MOHAMED, M. E., BAKHEET, K. A. és WINTER, S. (2013): First report of *Garlic common latent virus* infecting garlic in Sudan. In: *Plant Disease*. 4 (97) 562-562 p.
95. HASHIMOTO, M., OZEKI, J., KOMATSU, K., SENSU, H., KAGIWADA, S., MORI, T., YAMAJI, Y. és NAMBA, S. (2008): Complete nucleotide sequence of *Asparagus virus 3*. In: *Archives of Virology*. 1 (153) 219-221 p.
96. HELGUERA, M., BRAVO-ALMONACID, F., KOBAYASHI, K., RABINOWICZ, P. D., CONCI, V. és MENTABERRY, A. (1997): Immunological detection of a GarV-type virus in Argentine garlic cultivars. In: *Plant Disease*. 9 (81) 1005-1010 p.
97. HENDERSON, W. J. (1935): Yellow dwarf, a virus disease of onions, and its control. In: *Research Bulletin (Iowa Agriculture and Home Economics Experiment Station)*. 188 (16) 1 p.
98. HIBBEN, C. R., BOZARTH, R. F. és REESE, J. (1979): Identification of *Tobacco necrosis virus* in deteriorating clones of aspen. In: *Forest Science*. 4 (25) 557-567 p.
99. HODOSSI, S. (2019): A fokhagyma tápértéke és gyógyhatása, termesztésének helyzete a világon és nálunk. Link: '[www.agroforum.hu/szakcikkek/zoldseg/a-fokhagyma-taperteke-es-gyogyhatasa-termesztesenek-helyzete-a-vilagon-es-nalunk/](http://www.agroforum.hu/szakcikkek/zoldseg/a-fokhagyma-taperteke-es-gyogyhatasa-termesztesenek-helyzete-a-vilagon-es-nalunk/)', *Agrofórum*
100. HUNGARIKUM BIZOTTSÁG (2013): Hungarikumok Gyűjteménye - Magyar Értéktár. Link: '[www.hungarikum.hu/hu/mak%C3%B3i-hagyma](http://www.hungarikum.hu/hu/mak%C3%B3i-hagyma)',
101. JACKSON, R. J. (1993): Cytoplasmic regulation of mRNA function: the importance of the 3' untranslated region. In: *Cell*. 1 (74) 9-14 p.
102. JENSER, G., ALMÁSI, A., KAZINCZI, G., TAKÁCS, A., SZÉNÁSI, Á. és GÁBORJÁNYI, R. (2009): Ecological background of the epidemics of Tomato spotted wilt virus in Central Europe. In: *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*. 2 (44) 213-223 p.
103. JENSER, G. és SELJAHUDIN, A. (1978): The occurrence of *Tobacco rattle virus* and its vectors in Hungary (Preliminary report). In: *Acta Phytopathologica Academiae Scientiarum Hungaricae*. 3/4 (13) 297-298 p.
104. JONCZYK, M., BORODYNKO, N. és POSPIESZNY, H. (2004): Restriction analysis of genetic variability of Polish isolates of *Tomato black ring virus*. In: *Acta Biochimica Polonica*. 3 (51) 673-681 p.
105. KADWATI, K. és HIDAYAT, S. H. (2015): Deteksi virus utama bawang merah dan bawang putih dari daerah Jawa Barat dan Jawa Tengah. In: *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. 4 (11) 121 p.
106. KALICIAK, A. és SYLLER, J. (2009): New hosts of *Potato virus Y* (PVY) among common wild plants in Europe. In: *European Journal of Plant Pathology*. 4 (124) 707-713 p.
107. KAMENETSKY, R., SHAFIR, I. L., BAIZERMAN, M., KHASSANOV, F., KIK, C. és RABINOWITCH, H. D. (2002): Garlic (*Allium sativum* L.) and its wild relatives from Central Asia: evaluation for fertility potential. In: (szerk.). *XXVI International Horticultural Congress: Advances in Vegetable Breeding* 637, 83-91 p.
108. KANG, S. G., KOO, B. J., LEE, T. és CHANG, M. U. (2007): Allexivirus transmitted by eriophyid mites in garlic plants. In: *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 11 (17) 1833-1840 p.
109. KANYUKA, K. V., VISHNICHENKO, V. K., LEVAY, K. E., KONDRIKOV, D. Y., RYABOV, E. V. és ZAVRIEV, S. K. (1992): Nucleotide-sequence of *Shallot Virus-X* rna reveals a 5'-proximal

cistron closely related to those of potexviruses and a unique arrangement of the 3'-proximal cistrons. In: *Journal of General Virology*. (73) 2553-2560 p.

110. KASSCHAU, K. D., CRONIN, S. és CARRINGTON, J. C. (1997): Genome amplification and long-distance movement functions associated with the central domain of *Tobacco etch potyvirus* helper component–proteinase. In: *Virology*. 2 (228) 251-262 p.
111. KATIS, N. I., MALIOGKA, V. I. és DOVAS, C. I. (2012): Viruses of the genus *Allium* in the Mediterranean Region. In: Loebenstein, G., Lecoq, H. (szerk.). *Advance in Virus Research: Viruses and Virus Diseases of Vegetables in the Mediterranean Basin*. S.l.: Elsevier. 84 163-208 p.
112. KEKARAINEN, T., MERITS, A., ORUETXEBARRIA, I., RAJAMÄKI, M.-L. és VALKONEN, J. (1999): Comparison of the complete sequences of five different isolates of *Potato virus A* (PVA), genus *Potyvirus*. In: *Archives of Virology*. 12 (144) 2355-2366 p.
113. KEMP, W. G. és BARR, D. J. S. (1978): Natural occurrence of *Tobacco necrosis virus* in a rusty-root disease complex of *Daucus carota* in Ontario. In: *Journal of Phytopathology*. 3 (91) 203-217 p.
114. KING, A. M., LEFKOWITZ, E., ADAMS, M. J. és CARSTENS, E. B. (2011): Virus taxonomy: IX report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. S.l.: Elsevier Academic Press. 903-907, 924-927, 1072-1079 p.
115. KLUKACKOVA, J., NAVRATIL, M. és DUCHOSLAV, M. (2007): Natural infection of garlic (*Allium sativum* L.) by viruses in the Czech Republic. In: *Journal of Plant Diseases and Protection*. 3 (114) 97-100 p.
116. KONVICKA, O. (1978): Die ursachen der sterilität von *Allium sativum* L. In: *Biologia Plantarum*. (15) 144-149 p.
117. KOO, B. J. (1999): Atkával terjedő fokhagyma vírust izoláltak termesztett fokhagymáról [cikkismertetés]. In: *Növényvédelem*. 4 (35) 172 p.
118. KOO, B. J., KANG, S. C. és CHANG, M. U. (2002): Survey of garlic virus disease and phylogenetic characterization of garlic viruses of the genus *Allexivirus* isolated in Korea. In: *The Plant Pathology Journal*. 5 (18) 237-243 p.
119. KOUL, A. K. és GOHIL, R. N. (1970): Causes averting sexual reproduction in *Allium sativum* Linne. In: *Cytologia*. 2 (35) 197-202 p.
120. KRIZBAI, L., NEMETH, M., LAW, V., REED, C., VARGA, A., HANGYAL, R. és JAMES, D. (2010): Molecular characterization of a Hungarian isolate of *Tobacco necrosis virus A*. In: *Archives of Virology*. 6 (155) 999-1001 p.
121. KSH (2020): A fontosabb zöldségfélék betakarított összes termése. Link: [www.ksh.hu/stadat\\_files/mez/hu/mez0024.html](http://www.ksh.hu/stadat_files/mez/hu/mez0024.html), Központi Statisztikai Hivatal
122. KUDELKOVA, M., EICHMEIER, A., BARANEK, M. és CECHOVA, J. (2016): Development of RT-PCR method for detecting GCLV by specific primers. In: *ISHS Acta Horticulturae*. (1110) 21-26 p.
123. LACZKÓ, T. (2003a): A fokhagyma termesztés helyzete, nagyságrendje és piacossága. In: *Őstermelő: gazdálkodók lapja*. 5 (7) 44-46 p.
124. LACZKÓ, T. (2003b): A fokhagyma termesztés helyzete, nagyságrendje és piacossága II. In: *Növényvédelem*. 6 (7) 31-34 p.
125. LAI, R. Q., YOU, M. S., LOTZ, L. A. P. és VASSEUR, L. (2011): Response of green peach aphids and other arthropods to garlic intercropped with tobacco. In: *Agronomy Journal*. 3 (103) 856-863 p.
126. LEE, Y. W., YAMAZAKI, S., OSAKI, T. és INOUE, T. (1979): Two elongated viruses in garlic, garlic latent virus and garlic mosaic virus. In: *Japanese Journal of Phytopathology*. 5 (45) 727-734 p.

127. LEHOCZKY, J. B. J. (1986): A paradicsom fekete gyűrűs foltosság vírus előfordulása szőlőben Magyarországon. In: *Kertgazdaság*. 4 (18) 47-57 p.
128. LEZZHOV, A. A., GUSHCHIN, V. A., LAZAREVA, E. A., VISHNICHENKO, V. K., MOROZOV, S. Y. és SOLOVYEV, A. G. (2015): Translation of the *Shallot virus X* TGB3 gene depends on non-AUG initiation and leaky scanning. In: *Journal of General Virology*. (96) 3159-3164 p.
129. LIN, M., KITAJIMA, E., CUPERTINO, F. és COSTA, C. (1979): Properties of a possible *Carlavirus* isolated from a cerrado native plant, *Cassia sylvestris*. In: *Plant Disease Reporter*. (63) 501-506 p.
130. LOCKHART, B. E. és MASON, S. L. (2010): First report of *Tobacco rattle virus* in sedum in Minnesota. In: *Plant Disease*. 3 (94) 374-374 p.
131. LOT, H., CHOVELON, V., SOUCHE, S. és DELECOLLE, B. (1998): Effects of onion yellow dwarf and leek yellow stripe viruses on symptomatology and yield loss of three French garlic cultivars. In: *Plant Disease*. 12 (82) 1381-1385 p.
132. LOT, H., DELECOLLE, B., BOCCARDO, G., MARZACHI, C. és MILNE, R. G. (1994): Partial characterization of reovirus-like particles associated with garlic dwarf disease. In: *Plant Pathology*. 3 (43) 537-546 p.
133. LOT, H., RUBINO, L., DELECOLLE, B., JACQUEMOND, M., TURTURO, C. és RUSSO, M. (1996): Characterization, nucleotide sequence and genome organization of *Leek white stripe virus*, a putative new species of the genus *Necrovirus*. In: *Archives of Virology*. 12 (141) 2375-2386 p.
134. LU, Y. W., CHEN, J., ZHENG, H. Y., ADAMS, M. J. és CHEN, J. P. (2008): Serological relationships among the over-expressed coat proteins of allexiviruses. In: *Journal of Phytopathology*. 4 (156) 251-255 p.
135. LUKHOVITSKAYA, N. I., GUSHCHIN, V. A., SOLOVYEV, A. G. és SAVENKOV, E. I. (2013a): Making sense of nuclear localization: a zinc-finger protein encoded by a cytoplasmically replicating plant RNA virus acts a transcription factor: a novel function for a member of large family of viral proteins. In: *Plant signaling & behavior*. 8 (8) 960-73 p.
136. LUKHOVITSKAYA, N. I., IGNATOVICH, I. V., SAVENKOV, E. I., SCHIEMANN, J., MOROZOV, S. Y. és SOLOVYEV, A. G. (2009): Role of the zinc-finger and basic motifs of *Chrysanthemum virus B* p12 protein in nucleic acid binding, protein localization and induction of a hypersensitive response upon expression from a viral vector. In: *Journal of General Virology*. 3 (90) 723-733 p.
137. LUKHOVITSKAYA, N. I., SOLOVIEVA, A. D., BODDETI, S. K., THADURI, S., SOLOVYEV, A. G. és SAVENKOV, E. I. (2013b): An RNA virus-encoded zinc-finger protein acts as a plant transcription factor and induces a regulator of cell size and proliferation in two tobacco species. In: *Plant Cell*. 3 (25) 960-973 p.
138. LUNELLO, P., DI RIENZO, J. és CONCI, V. C. (2007): Yield loss in garlic caused by *Leek yellow stripe virus* Argentinean isolate. In: *Plant Disease*. 2 (91) 153-158 p.
139. LUNELLO, P., DUCASSE, D. A., HEIGUERA, M., NOME, S. F. és CONCI, V. C. (2002): An argentinean isolate of *Leek yellow stripe virus* from leek can be transmitted to garlic. In: *Journal of Plant Pathology*. 1 (84) 11-17 p.
140. MAIA, I. G., HAENNI, A.-L. és BERNARDI, F. (1996): Potyviral HC-Pro: a multifunctional protein. In: *Journal of General Virology*. 7 (77) 1335-1341 p.
141. MALANDRAKI, G. I., DRIESSEN, A., VARVERI, C. és VASSILAKOS, N. (2016): First report of *Hippeastrum mosaic virus* in *Hippeastrum* sp. in Greece. In: *Plant Disease*. 4 (100) 869-870 p.
142. MALIOGKA, V. I., DOVAS, C. I., LESEMANN, D. E., WINTER, S. és KATIS, N. I. (2006): Molecular identification, reverse transcription-polymerase chain reaction detection, host reactions, and specific cytopathology of *Artichoke yellow ringspot virus* infecting onion crops. In: *Phytopathology*. 6 (96) 622-629 p.

143. MANSOURI, F., KRAHULEC, F., DUCHOSLAV, M. és RYŠÁNEK, P. (2021): Newly identified host range of viruses infecting species of the genus *Allium* and their distribution in six habitats in the Czech Republic. In: *Plant Pathology*. 6 (70) 1496-1507 p.
144. MANSOURI, F. és RYŠÁNEK, P. (2021): Allexivirus: review and perspectives. In: *Phytopathologia Mediterranea*. 3 (60) 389-402 p.
145. MARTELLI, G. P. L., J. (1968): Isolation of *Arabis mosaic virus* from Hungarian grapevines. In: *Phytopathologia Mediterranea*. (7) 129-133 p.
146. MARTIN, R. R., MACFARLANE, S., SABANADZOVIC, S., QUITO, D., POUDEL, B. és TZANETAKIS, I. E. (2013): Viruses and virus diseases of *Rubus*. In: *Plant Disease*. 2 (97) 168-182 p.
147. MARTINEZ, F., RODRIGO, G., ARAGONES, V., RUIZ, M., LODEWIJK, I., FERNANDEZ, U., ELENA, S. F. és DAROS, J. A. (2016): Interaction network of *Tobacco etch potyvirus* NIa protein with the host proteome during infection. In: *Bmc Genomics*. 87 (17) p.
148. MAVRIC, I. és RAVNIKAR, M. (2005): A carlavirus serologically closely related to *Carnation latent virus* in Slovenian garlic. In: *Acta Agriculturae Slovenica*. 2 (85) 343-349 p.
149. MCDONALD, J. G. és SINGH, R. P. (1996): Host range, symptomology, and serology of isolates of *Potato virus Y* (PVY) that share properties with both the PVYN and PVYO strain groups. In: *American Potato Journal*. 7 (73) 309-315 p.
150. MELHUS, I. E., REDDY, C. S., HENDERSON, W. J. és VESTAL, E. (1929): A new virus disease epidemic on onions. In: *Phytopathology*. (19) 73-77 p.
151. MELO, P. D., NAGATA, T., DUSI, A. N., BUSO, J. A., TORRES, A. C., EIRAS, M. és RESENDE, R. D. (2004): Detection of three *Allexivirus* species infecting garlic in Brazil. In: *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*. 8 (39) 735-740 p.
152. MELO, P. D., RESENDE, R. O., CORDEIRO, C. M. T., BUSO, J. A., TORRES, A. C. és DUSI, A. N. (2006): Viral reinfection affecting bulb production in garlic after seven years of cultivation under field conditions. In: *European Journal of Plant Pathology*. 2 (116) 95-101 p.
153. MITUTI, T., MOURA, M. F., MARUBAYASHI, J. M., OLIVEIRA, M. L., IMAIZUMI, V. M., SAKATE, R. K. és PAVAN, M. A. (2015): Survey of viruses belonging to different genera and species in noble garlic in Brazil. In: *Scientia Agricola*. 3 (72) 278-281 p.
154. MOHAMED, N. A. és YOUNG, B. R. (1981): *Garlic yellow streak virus*, a *potyvirus* infecting garlic in New Zealand. In: *Annals of Applied Biology*. 1 (97) 65-74 p.
155. MOHAMMED, H. S., ZICCA, S., MANGLI, A., MOHAMED, M. E., EL SIDDIG, M. A. R., EL HUSSEIN, A. A. és TOMASSOLI, L. (2013): Occurrence and phylogenetic analysis of potyviruses, carlaviruses and allexiviruses in Garlic in Sudan. In: *Journal of Phytopathology*. 9 (161) 642-650 p.
156. MUNOZ, R. M., LERMA, M. L., LUNELLO, P. és SCHWARTZ, H. F. (2014): *Iris yellow spot virus* in Spain: Incidence, epidemiology and yield effect on onion crops. In: *Journal of Plant Pathology*. 1 (96) 97-103 p.
157. NAM, M., LEE, Y.-H., PARK, C. Y., LEE, M.-A., BAE, Y.-S., LIM, S., LEE, J. H., MOON, J. S. és LEE, S.-H. (2015): Development of multiplex RT-PCR for simultaneous detection of garlic viruses and the incidence of garlic viral disease in garlic genetic resources. In: *The Plant Pathology Journal*. 1 (31) 90 p.
158. NCBI (2019a): Garlic mite-borne mosaic virus. Link: '[www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?lvl=0&id=39058](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?lvl=0&id=39058)', National Center for Biotechnology Information
159. NCBI (2019b): Garlic mosaic virus. Link: '[www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?lvl=0&id=12200](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?lvl=0&id=12200)', National Center for Biotechnology Information
160. NCBI (2019c): Garlic virus G. Link: '<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/1722561065>',

161. NCBI (2019d): Shallot mite-borne latent virus. Link: [www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=547128](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=547128), National Center for Biotechnology Information
162. NCBI (2020): *Cassia mild mosaic virus*; equivalent: *Senna severe yellow mosaic virus*. Link: [www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=742819](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=742819), National Center for Biotechnology Information
163. NÉBIH (2018): Nemzeti Fajtajegyzék - Zöldségnövények. Lukács József (kiadó). Nemzeti Élelmiszerlánc-Biztonsági Hivatal, Budapest
164. NEMCHINOV, L. G., GRINSTEAD, S. C. és MOLLOV, D. S. (2017): *Alfalfa virus S*, a new species in the family *Alphaflexiviridae*. In: *Plos One*. 5 (12) e0178222 p.
165. NIE, X. Z. és MOLEN, T. A. (2015): Host recovery and reduced virus level in the upper leaves after *Potato virus Y* infection occur in tobacco and tomato but not in potato plants. In: *Viruses-Basel*. 2 (7) 680-698 p.
166. NOVAK, F. J. (1972): Tapetal development in the anthers of *Allium sativum* L. and *Allium longicuspis* Regel. In: *Experientia*. 11 (28) 1380-1381 p.
167. OHSHIMA, K., MURAOKA, S., YASAKA, R., ADACHI, S. és TOKUDA, M. (2016): First report of *Scallion mosaic virus* on wild Japanese garlic (*Allium macrostemon*) in Japan. In: *Journal of General Plant Pathology*. 1 (82) 61-64 p.
168. OLIVEIRA, M. L., HOFFMANN, M. I. M., MITUTI, T., PAVAN, M. A. és KRAUSE-SAKATE, R. (2014): First report of *Garlic virus X* in garlic plants in Brazil. In: *Plant Disease*. 7 (98) 1013-1014 p.
169. PADUCH-CICHAL, E. és BEREDA, M. (2017): Viruses infecting ornamental *Allium* species in Poland. In: *Journal of Plant Pathology*. 2 (99) 509-512 p.
170. PAPPU, H. R., HELLIER, B. C. és DUGAN, F. M. (2005): First report of *Onion yellow dwarf virus*, *Leek yellow stripe virus*, and *Garlic common latent virus* in garlic in Washington State. In: *Plant Disease*. 2 (89) 205-205 p.
171. PARK, H. G. (2006): Genetical improvement of brassica in Korea. In: (szerk.). *Proceedings of the Joint Meeting of the XIV. Crucifer Genetics Workshop and IV. ISHS Symposium on Brassicas*, 31-47 p.
172. PARK, K. S., BAE, Y. J., JUNG, E. J. és KANG, S. J. (2005): RT-PCR-based detection of six garlic viruses and their phylogenetic relationships. In: *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 5 (15) 1110-1114 p.
173. PARK, S.-J., NAM, M., KIM, J.-S., LEE, Y.-H., LEE, J.-B., KIM, M.-K., LEE, J.-S., CHOI, H.-S., KIM, J.-S. és MOON, J.-S. (2011): First report of the virus diseases in victory onion (*Allium victorialis* var. *platyphyllum*). In: *Research in Plant Disease*. 1 (17) 66-74 p.
174. PAULECHOVA, K. és BAUMGARTNEROVA, H. (1980): Some properties of *Tobacco necrosis virus* isolated from plums. In: *ISHS Acta Horticulturae*. (94) p.
175. PAUZI, Y., LESTARI, S. és HIDAYAT, S. (2018): Variations of Garlic Common Latent Virus and Shallot Latent Virus Concentration on Shallot and Garlic. In: (szerk.). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 012045 p.
176. PAYLAN, I., ERGUN, M. és ERKAN, S. (2013): First report of *Artichoke yellow ringspot virus* in globe artichoke in Turkey. In: *Plant Disease*. 10 (97) 1388-1388 p.
177. PEARSON, M. N., COHEN, D., COWELL, S. J., JONES, D., BLOUIN, A., LEBAS, B. S. M., SHILLER, J. B. és CLOVER, G. R. G. (2009): A survey of viruses of flower bulbs in New Zealand. In: *Australasian Plant Pathology*. 3 (38) 305-309 p.
178. PEREZ-EGUSQUIZA, Z., WARD, L. I., CLOVER, G. R. G., FLETCHER, J. D. és VAN DER VLUGT, R. A. A. (2009): First report of *Shallot virus X* in shallot in New Zealand. In: *Plant Pathology*. 2 (58) 407-407 p.

179. PEROTTO, M. C., CAFRUNE, E. E. és CONCI, V. C. (2010): The effect of additional viral infections on garlic plants initially infected with Allexiviruses. In: *European Journal of Plant Pathology*. 4 (126) 489-495 p.
180. PEROTTO, M. C., DI RIENZO, J. A., LANATI, S., PANONTO, S., MACCHIAVELLI, R., CAFRUNE, E. E. és CONCI, V. C. (2014): Temporal and spatial spread of *potyvirus* infection and its relationship to aphid populations visiting garlic crops. In: *Australasian Plant Pathology*. 6 (43) 623-630 p.
181. PETROVSKA, B. B. és CEKOVSKA, S. (2010): Extracts from the history and medical properties of garlic. In: *Pharmacogn Rev*. 7 (4) 106 p.
182. POGÁNY, M., KOEHL, J., HEISER, I., ELSTNER, E. F. és BARNA, B. (2004): Juvenility of tobacco induced by cytokinin gene introduction decreases susceptibility to *Tobacco necrosis virus* and confers tolerance to oxidative stress. In: *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 1 (65) 39-47 p.
183. POOLER, M. R. és SIMON, P. W. (1994): True seed production in garlic. In: *Sexual Plant Reproduction*. 5 (7) 282-286 p.
184. PRINGLE, C. R. (1999): Virus Taxonomy – 1999. In: *Archives of Virology*. 2 (144) 421-429 p.
185. PROCHÁZKOVÁ, Z. (1980): Host range and symptom differences between isolates of *Turnip mosaic virus* obtained from *Sisymbrium loeselii*. In: *Biologia Plantarum*. 5 (22) 341 p.
186. RAMACHANDRAIAH, M., VENKATARATHNAM, P. és SULOCHANA, C. B. (1979): *Tobacco necrosis virus* - Occurrence in India. In: *Plant Disease Reporter*. 11 (63) 949-951 p.
187. RAO, R. D. V. J. P., REDDY, A. S., REDDY, S. V., THIRUMALA-DEVI, K., CHANDER, S., RAO, S. C., KUMAR, V. M., SUBRAMANIAM, K., REDDY, T. Y., NIGAM, S. N. és REDDY, D. V. R. (2003): The host range of *Tobacco streak virus* in India and transmission by thrips. In: *Annals of Applied Biology*. 3 (142) 365-368 p.
188. REGŐS, A. (1991): Fertőzött fokhagymák. In: *Magyar mezőgazdaság*. 21 (46) 13 p.
189. REGŐS, A. (1992): A fokhagymaállományok vírusfertőzöttsége Makó térségében. In: *Kertgazdaság*. 2 (24) 83-87 p.
190. RESTREPO-HARTWIG, M. A. és CARRINGTON, J. C. (1994): The *Tobacco etch potyvirus* 6-kilodalton protein is membrane associated and involved in viral replication. In: *J Virol*. 4 (68) 2388-2397 p.
191. RESTREPO, M. A., FREED, D. D. és CARRINGTON, J. C. (1990): Nuclear transport of plant potyviral proteins. In: *Plant Cell*. 10 (2) 987-998 p.
192. REVERS, F. és GARCÍA, J. A. (2015): Molecular biology of potyviruses. In: Maramorosch K., M., T. (szerk.). *Advances in Virus Research*. S.l.: Elsevier. 92 101-199 p.
193. ROBERTS, I. M., WANG, D., FINDLAY, K. és MAULE, A. J. (1998): Ultrastructural and temporal observations of the *potyvirus* cylindrical inclusions (CIs) show that the CI protein acts transiently in aiding virus movement. In: *Virology*. 1 (245) 173-181 p.
194. RONGCHANG, C. (1992): Evaluation of mosaic virus and meristem tissue culture in garlic. In: *Chinese Vegetables (China)*. 4 10-14 p.
195. RYABOV, E. V., GENEROZOV, E. V., VETTEN, D. J. és ZAVRIEV, S. K. (1996): Nucleotide sequence of the 3'-terminal region of mite-borne filamentous virus indicates its relation to the *Shallot virus* X group. In: *Molecular Biology*. 1 (30) 63-67 p.
196. SABANADZOVIC, S., GHANEM-SABANADZOVIC, N. A. és TZANETAKIS, I. E. (2011): *Blackberry virus E*: an unusual flexivirus. In: *Archives of Virology*. 9 (156) 1665-1669 p.
197. SAKO, I., NAKASONE, W., OKADA, K., OHKI, S. T., OSAKI, T. és INOUE, T. (1991): Yellow streak of rakkyo (*Allium chinense* G. Don), a newly recognized disease caused by garlic latent virus and *Onion yellow dwarf virus*. In: *Japanese Journal of Phytopathology*. 1 (57) 65-69 p.

198. SALAMON, P., NEMES, K. és SALÁNKI, K. (2015): Termesztett és vadon élő burgonyafélék vírusos betegségei és vírusai Magyarországon. 8. A paradicsom foltos hervadás vírus (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV) fertőzése és a paprika (*Capsicum annuum* L.) bogyó melanotikus gyűrűsfoltosság (FMRS) ok-okozati kapcsolata. In: *Növényvédelem*. 12 (51) 576-582 p.
199. SALÁNKI, K. (2012): A Cucumovírusok kórtani változékonysága. dolgozat. *Akadémiai Doktori Értekezés*, Gödöllő
200. SÁNCHEZ, P. A. G., MESA, H. J. és MONTOYA, M. M. (2016): Next generation sequence analysis of the forage peanut (*Arachis pintoi*) virome. In: *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*. 2 (69) 7881-7891 p.
201. SENSU, H., YAMAJI, Y., MINATO, N., SHIRAISHI, T., MAEJIMA, K., HASHIMOTO, M., MIURA, C., NERIYA, Y. és NAMBA, S. (2011): A dual strategy for the suppression of host antiviral silencing: two distinct suppressors for viral replication and viral movement encoded by *Potato virus M*. In: *Virology Journal*. 19 (85) 10269-78. p.
202. SHAHRAEEN, N., LESEMAN, D. E. és GHOTBI, T. (2008): Survey for viruses infecting onion, garlic and leek crops in Iran. In: *Eppo Bulletin*. 1 (38) 131-135 p.
203. SHEMESH-MAYER, E., BEN-MICHAEL, T., ROTEM, N., RABINOWITZ, H. D., DORON-FAIGENBOIM, A., KOSMALA, A., PERLIKOWSKI, D., SHERMAN, A. és KAMENETSKY, R. (2015): Garlic (*Allium sativum* L.) fertility: transcriptome and proteome analyses provide insight into flower and pollen development. In: *Front Plant Sci*. (6) p.
204. SHEN, W., SHI, Y. H., DAI, Z. és WANG, A. (2020): The RNA-dependent RNA polymerase Nib of potyviruses plays multifunctional, contrasting roles during viral infection. In: *Viruses*. 1 (12) 77 p.
205. SHUKLA, D. D. és WARD, C. W. (1989): Structure of *Potyvirus* coat proteins and its application in the taxonomy of the *Potyvirus* group. In: Maramorosch, K., Murphy, F., Shatkin, A. (szerk.). *Advances in Virus Research*. S.l.: Elsevier. 36 273-314 p.
206. SIMON, T. (1994): A magyarországi edényes flóra határozója: harasztok-virágos növények. Budapest: *Nemzeti Tankönyvkiadó Rt*. p.
207. SIVAPRASAD, Y., BHASKARA REDDY, B., REKHA RANI, K., RAJA REDDY, K. és SAI GOPAL, D. (2010): First report of *Tobacco streak ilarvirus* infecting onion (*Allium cepa*). In: *New Disease Reports*. 17 (22) 2044-0588.2010 p.
208. SMITH, T. N., WYLIE, S. J., COUTTS, B. A. és JONES, R. A. C. (2006): Localized distribution of *Iris yellow spot virus* within leeks and its reliable large-scale detection. In: *Plant Disease*. 6 (90) 729-733 p.
209. SOMOGYI, N. (2006): Kitörési pont lehet-e a fokhagyma termesztése? In: *Kertészet és szőlészet*. 40 (55.) 6-7 p.
210. SONG, S. I., CHOI, J. N., SONG, J. T., AHN, J. H., LEE, J. S., KIM, M., CHEONG, J. J. és CHOI, Y. D. (2002): Complete genome sequence of *Garlic latent virus*, a member of the *Carlavirus* family. In: *Molecules and Cells*. 2 (14) 205-213 p.
211. SONG, S. I., SONG, J. T., CHANG, M. U., LEE, J. S. és DO CHOI, Y. (1997): Identification of one of the major viruses infecting garlic plants, *Garlic virus X*. In: *Molecules & Cells (Springer Science & Business Media BV)*. 6 (7) p.
212. SONG, S. I. S., J. T., KIM, C. H., LEE, J. S. és CHOI, Y. D. (1998): Molecular characterization of the *Garlic virus X* genome. In: *Journal of General Virology*. 1 (79) 155-159 p.
213. ŠTEFANAC, Z. (1980): *Cucumber mosaic virus* in garlic. In: *Acta Botanica Croatica*. (39) 21-26 p.
214. ŠTEFANAC, Z. és MILIČIĆ, D. (1992): Observations on infection of garlic (*Allium sativum* L.) with *cucumber mosaic virus*. In: *Acta Botanica Croatica*. 1 (51) 1-5 p.
215. ŠTEFANAC, Z. és PLEŠE, N. (1980): *Turnip mosaic virus* in two Mediterranean *Allium* species. In: (szerk.). *Proceedings of the V. Congress of the Mediterranean Phytopathological Union* Patras. 21-27 p.

216. STUBBS, L. L. és GROGAN, R. G. (1963): Necrotic yellows: a newly recognized virus disease of lettuce. In: *Australian Journal of Agricultural Research*. 4 (14) 439-459 p.
217. SUBIKOVA, V. (1998): Natural infection of sugar beet by *Tobacco necrosis virus*. In: *Listy Cukrovarnicke a Reparske*. 9-10 (114) 251-254 p.
218. SUJITHA, A., BHASKARA REDDY, B. V., SIVAPRASAD, Y., USHA, R. és SAI GOPAL, D. V. R. (2012): First report of *Groundnut bud necrosis virus* infecting onion (*Allium cepa*). In: *Australasian Plant Disease Notes*. 1 (7) 183-187 p.
219. SUMI, S., MATSUMI, T. és TSUNEYOSHI, T. (1999): Complete nucleotide sequences of *Garlic viruses* A and C, members of the newly ratified genus *Allexivirus*. In: *Archives of Virology*. 9 (144) 1819-1826 p.
220. SUMI, S. I., TSUNEYOSHI, T. és FURUTANI, H. (1993): Novel rod-shaped viruses isolated from Garlic, *Allium sativum*, possessing a unique genome organization. In: *Journal of General Virology*. (74) 1879-1885 p.
221. SWARD, R. (1990): *Lettuce necrotic yellows rhabdovirus* and other viruses infecting garlic. In: *Australasian Plant Pathology*. 2 (19) 46-51 p.
222. SZALAY, F. (2004): Fokhagyma. In: Balázs, S. (szerk.). *Zöldségtermesztők kézikönyve*. Budapest: *Mezőgazda Kiadó*. 618-622 p.
223. SZARVAS, A. (2010): Hagymavírusok (IYSV, LYSV, OYDV, GCLV) felderítése a Dél-alföldi régióban. MSc. dolgozat. *Debreceni Egyetem, Mezőgazdaságtudományi Kar*, Debrecen
224. SZATHMÁRY, E., SALAMON, P. és PALKOVICS, L. (2008): Egy hazai tarlórépa mozaik vírus - (*Turnip mosaic virus*, TuMV) izolátum molekuláris jellemzése. In: *Növényvédelem*. 11 (44) 553-557 p.
225. SZIRMAI, J. (1941): A fűszerpaprika leromlását megindító, újhitűségnek nevezett vírusbetegségről. In: *Növényegészségügyi Évkönyv*. (1) 109-133 p.
226. SZIRMAI, J. (1958): Vírusveszély a makói hagymatermesztésben. In: *Növénytermelés*. 1 (7) 63-72 p.
227. TANABE, C. M. N. (1999): Avaliacao da degenerescencia em campo causada por fitovirose na cultura do alho (*Allium sativum* L.). Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) dolgozat. *Universidade de Brasília*, Brasília
228. THOMAS, P. E. (2004): *Nicotiana megalosiphon*, a highly susceptible, new, and useful host for *Potato virus A*. In: *Plant Disease*. 10 (88) 1160-1160 p.
229. TÓBIÁS, I. (1987): Vírusos betegségek. In: Botos, G., Füstös, Zs. (szerk.). *Hagymafélék termesztése*. Budapest: *Mezőgazdasági Kiadó*. 230-233 p.
230. TOMASSOLI, L., TIBERINI, A., MASENGA, V., VICCHI, V. és TURINA, M. (2009): Characterization of *Iris yellow spot virus* isolates from onion crops in northern Italy. In: *Journal of Plant Pathology*. 3 (91) 733-739 p.
231. TSUNEYOSHI, T., MATSUMI, T., DENG, T. C., SAKO, I. és SUMI, S. (1998): Differentiation of *Allium carlavirus* isolated from different parts of the world based on the viral coat protein sequence. In: *Archives of Virology*. 6 (143) 1093-1107 p.
232. TSUNEYOSHI, T. és SUMI, S. (1996): Differentiation among garlic viruses in mixed infections based on RT-PCR procedures and direct tissue blotting immunoassays. In: *Phytopathology*. 3 (86) 253-259 p.
233. URCUQUI-INCHIMA, S. (2001): *Potyvirus* proteins: a wealth of functions. In: *Virus Research*. (74) 157-175 p.
234. VALKONEN, J. P. T. (2014): The challenge of controlling plant viruses. In: *Annals of Applied Biology*. 3 (164) 313-317 p.
235. VAN DER VLUGT, R. A. A., STEFFENS, P., CUPERUS, C., BARG, E., LESEMANN, D. E., BOS, L. és VETTEN, H. J. (1999): Further evidence that *Shallot yellow stripe virus* (SYSV) is a

- distinct *Potyvirus* and reidentification of *Welsh onion yellow stripe virus* as a SYSV strain. In: *Phytopathology*. 2 (89) 148-155 p.
236. VAN DIJK, P. (1993a): *Carlavirus* Isolates from Cultivated *Allium* Species Represent 3 Viruses. In: *Netherlands Journal of Plant Pathology*. (99) 233-257 p.
237. VAN DIJK, P. (1993b): Survey and Characterization of Potyviruses and Their Strains of *Allium* Species. In: *Netherlands Journal of Plant Pathology*. 2 (99) 1-48 p.
238. VAN DIJK, P. és SUTARYA, R. (1992): Virus disease of shallot and garlic in Java, and prospects for their control. In: *Onion Newsletter for the Tropics*. 4 57-61 p.
239. VAN DIJK, P., VERBEEK, M. és BOS, I. (1991): Mite-borne virus isolates from cultivated *Allium* species, and their classification into two new rymoviruses in the family *Potyviridae*. In: *Netherlands Journal of Plant Pathology*. 6 (97) 381-399 p.
240. VANZAAYEN, A., DEBLANK, C. M. és BOUWEN, I. (1994): Differentiation between 2 *Potyviruses* in *Alstroemeria*. In: *European Journal of Plant Pathology*. 1 (100) 85-90 p.
241. VASILJEVA, T. Y. és MOZHAEVA, K. A. (1978): Properties of a TMV strain isolated from plants of the genus *Allium*. In: G., R. V. (szerk.). *Plant Virus Strains*. Vladivostok: 75-77 p.
242. VERCHOT, J. és CARRINGTON, J. C. (1995): Debilitation of plant potyvirus infectivity by P1 proteinase-inactivating mutations and restoration by second-site modifications. In: *J Virol*. 3 (69) 1582-1590 p.
243. VISHNICHENKO, V. K., KONAREVA, T. N. és ZAVRIEV, S. K. (1993): A new filamentous virus in shallot. In: *Plant Pathology*. 1 (42) 121-126 p.
244. VISHNICHENKO, V. K. és ZAVRIEV, S. K. (2001): Detection of infectious viral particles in plant protoplasts inoculated with transcripts of full-length shallot virus X cDNA - Brief report. In: *Archives of Virology*. 6 (146) 1213-1217 p.
245. VUČUROVIĆ, I., NIKOLIĆ, D., RADOVIĆ, N., VUČUROVIĆ, A., RISTIĆ, D., KRSTIĆ, B. és STANKOVIĆ, I. (2017): Incidence and distribution of leek yellow stripe virus in allium crops in Serbia. In: *Pesticidi i fitomedicina*. 3-4 (32) 145-155 p.
246. WALKEY, D. G. A. (1990): Virus diseases. Florida: *CRC Press*, . 191–212 p.
247. WANG, C. Y. és CHANG, Y. C. (2006): First identification of *Alstroemeria mosaic virus* in Taiwan. In: *Plant Pathology*. 4 (55) 566-566 p.
248. WARD, L. I., PEREZ-EGUSQUIZA, Z., FLETCHER, J. D. és CLOVER, G. R. G. (2009): A survey of viral diseases of *Allium* crops in New Zealand. In: *Australasian Plant Pathology*. 5 (38) 533-539 p.
249. WEI, T., PEARSON, M. N. és COHEN, D. (2007): First report of *Narcissus latent virus* in New Zealand. In: *Plant Pathology*. 4 (56) 720-720 p.
250. WEI, T., PEARSON, M. N. és FLETCHER, J. D. (2006): Molecular confirmation of New Zealand garlic yellow streak virus as *Leek yellow stripe virus*. In: *Australasian Plant Pathology*. 3 (35) 341-346 p.
251. WOLF, I. és HORVÁTH, S. (2000): A burgonya Y-vírus (potato Y potyvirus, PVY) törzseinek előfordulása burgonya-termőterületeken Magyarországon. In: *Növényvédelem*. 9 (36) 449-455 p.
252. WYLIE, S. J., LI, H., SAQIB, M. és JONES, M. G. K. (2014): The Global trade in fresh produce and the vagility of plant viruses: A case study in garlic. In: *Plos One*. 8 (9) e105044 p.
253. XI, D. H., LI, J., HAN, C. G., LI, D. W., YU, J. L. és ZHOU, X. P. (2008): Complete nucleotide sequence of a new strain of *Tobacco necrosis virus A* infecting soybean in China and infectivity of its full-length cDNA clone. In: *Virus Genes*. 1 (36) 259-266 p.
254. XU, X. H., TANG, W., GAO, R., YANG, S. K., LI, F., SUN, H. W. és LU, X. B. (2017): First report of *Hippeastrum mosaic virus* in *Hippeastrum spp.* in Mainland China. In: *Plant Disease*. 6 (101) 1064-1064 p.

255. YAMASHITA, K., SAKAI, J. és HANADA, K. (1996): Characterization of a new virus from garlic (*Allium sativum* L.), garlic mite-borne mosaic virus. In: *Japanese Journal of Phytopathology*. 5 (62) 483-489 p.
256. YOSHIDA, N., SHIMURA, H., YAMASHITA, K., SUZUKI, M. és MASUTA, C. (2012): Variability in the P1 gene helps to refine phylogenetic relationships among leek yellow stripe virus isolates from garlic. In: *Archives of Virology*. 1 (157) 147-153 p.
257. ZHU, F., CHE, Y. P., LIANG, Z. J. és JI, Z. L. (2018): First report of *Tobacco rattle virus* Infecting Spinach in China. In: *Plant Disease*. 12 (102) 2671-2672 p.

## M2. HaPoty, HaCarla és HaAllexi primerek felhasználásával nyert szekvenciaadatok

M1. táblázat: 23A minta LYSV köpenyfehérjét kódoló régió szekvenciaadatai a HaPoty és M4 primerek felhasználásával, 5'-3' irányban

| Minta neve                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 23A    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| Vírusfaj                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | LYSV   |
| Szenz primer                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | HaPoty |
| Antiszenz primer                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | M4     |
| AATGGAGTTTGGACATGATGGATGGCGAGGAGCAAGTTGAATTTCTTTACGCCC<br>TGTTGTTGAACACGCCAGCCAACCTCTACGCCAAATAATGGCGCATTTTTTCAGCAC<br>TTGCGGAGGCTTATATTGAGATGAGGAATTCAGAGCAGGCTTACATGCCACGGTA<br>TGGATTACAAAGAACTTTACAGACATGGGTCTCGCACGTTATGCATTTGACTTCT<br>ATGAAGTTACATCAAGAACACCAGTTAGAGCGCGCGAGGCTCACGCACAAATGA<br>AAGCAGCGGCCTTACGTAATTCAAGGCCAAAGCTGTTTGGACTAGACGGTAACGT<br>CACAACCATGGATGAGGACACGGAGAGGCACACAGCGCATGATGTGAATGCACG<br>GATGCACCATCTTGATGGTGCACATATGCAGTGATGGTTCGGTTAGCAACCGGTT<br>ATGGGCTTCCATCTAAAAAGTCCCGAGTGCCAAACTCGTATTTTTTGGCTAGGGTAG<br>GGAAACTATAATTCACCTCCTTCAAGGCAGTTTCTACTTTAAGGATGACTTGGAAT<br>TAGAACCTCCCAATGCCGGTCACAAGGGTGATCACCAAAAGTCAACACTTGGTTT<br>GAAGTTGATCGCCTGAAAATCTATCCGGAGTACGGTTTTGTAAAAAAGGTGGATT<br>TAATTTTTTAAGGATAGTAAGTCTGACCCATAATGGTGTATAAGCAGCCCGAATTTT<br>AAAACCCCCACCTTTACCCTACAATGAAGTGCTACTTTAAAGACTACCTAGAATTG<br>AGACCGATCTCTCACGTGCTGGCATGGCCAGTATTTGATCACTCAATGATCAGGTG<br>ACTACTTTACAGTCAAGTTGGAACCCGTAGTATCCTATCCTTACCTAATATCGTAA<br>GTTTTATTTACTGGTGTAGTGTGTTTCACCCACCTTATAAACGCTTTGAATATAAG<br>GATCGACTGTTCGTCTGAAGGCACTAAAGTGGTTAACCTGTGTGTGCGTTTTACGT<br>TGCGGAAGACACAACAATAAAAAGT |        |

M2. táblázat: 1A minta GCLV köpenyfehérjét kódoló régió szekvenciaadatai a HaCarla és M4 primerek felhasználásával, 5'-3' irányban

| Minta neve       | 1A      |
|------------------|---------|
| Vírusfaj         | GCLV    |
| Szenz primer     | HaCarla |
| Antiszenz primer | M4      |

CCTGCTATGCAGCAATGTACACTACTAGTACAAAGTATGCTGCCTTTGATACTTTC  
GATTACGTGCTTAATTCTGCTTGTGTCCAGCCACTCGAGGGGATCATACGGGGTTCC  
AACCGATGAGGAGACCATAGCTCACATGACAAACAAGCGGATTGCTATTGATAGG  
AATAGGCGCAATGGCCGATTTTTCGAGCACAAATAGTTTACTGTTACTGGGGGCATGT  
TCGGTAAAGATATCAAAACAACTTCAATGGATCCAACAACGCAGATTAGTGTA  
GTTTACTCTTAGTCGTAAAGAATAAATTGTGTGATAGTGGCGTGCCTACTGACGTC  
GCGATTGGTATTATAGAACCAATTATTAAAGAGGTGAGGAAATTGCAGCGCCAAG  
AAGAGCAAAGGCTGCTACGTTTTTAATGGTTGTTCTAGGAGTGCTATTAAAAGACG  
AGCTAAGTATCTCAATAAATGTCATAAATGCGGTAAACAAAGTCACTACGGGCTT  
TGTTTCGCGTAATCAGACTATCAGTAACATGGAGGTGGAGCATCTCATCCGTTGTG  
GGACGATTAGGTATCTTACCGAAAATCCACAAAGACGGAAGGATTCCATTTACAG  
TTCTGATTATGAAAAATTAGTAGAGCGTGCTACGCGTGTATAGTAGTGTCAGA  
GCCATATTGGCGACTATTCAGACCTATTTTGAATAGCTTGACTAAGGTTTAATATA  
TTTCCTTTTAA

M3. táblázat: 17A minta SLV köpenyfehérjét kódoló régió szekvenciaadatai a HaCarla és M4 primerek felhasználásával, 5'-3' irányban

|                  |         |
|------------------|---------|
| Minta neve       | 17A     |
| Vírusfaj         | SLV     |
| Szenz primer     | HaCarla |
| Antiszenz primer | M4      |

CTCAGCATGGACGCATGCTTCACTGAGAACACAAAATACGCTGCGTTTGATACCT  
TTGATGCCGTGACGAATAAAGCTGCAATTCAACCATTGGAAGGCCTCATTAGGGT  
TCCGACTGATGCTGAAAGGATCGCTTTTGCAACTCATAAGAAGCTAGCTTTGGCTA  
AGAATGCCCAAATTCACGTTATGCAAACACTTCTGCAGAGGTTACTGGGGGATT  
CTTCGGATGCTTTCCTAAAAATAATTTTCAGAGAGAATCGATGTTGATCAAGCAAA  
GGACTTACCGTAGATTATTGCGCGCTATATTTAAATTACATACTGATAAGAATTGT  
GTGGATTTAATAAATATTATCGTGAGTAAAATAATGTGTGAGAATGCGGGAGCCT  
CGTCCTATGCTCGCGCTCGTAGAGCTAAGAGTATAGGCAGGTGTCCCCGATGTTTC  
CGGTGTTCCCCAGGTTTTAGCTTCACTAAAAACTGTGACACCAAAACTTGTGTACC  
AGGTATTAGCTATAATGATAAAGTCAAATCCTTTATAGTTGATGGTGTAACAATGT  
GAAACCCTACTATAAGATTTGACGTGTTGCCCATAAACCTAAGTAATGTATAAG  
TGGGAACGTATAAAATAATTTGTTTTTAAAATATTTTCGCAAAAAAAAAAAAAAA

M4. táblázat: 17B minta SLV köpenyfehérjét kódoló régió szekvenciaadatai a HaCarla és M4 primerek felhasználásával, 5'-3' irányban

|                  |         |
|------------------|---------|
| Minta neve       | 17B     |
| Vírusfaj         | SLV     |
| Szenz primer     | HaCarla |
| Antiszenz primer | M4      |

CCATTGGACGCAAAGGCTTCACTGAGACACAAAATACGCTGCGTTTGATACCTTT  
GATGCCGTGACGAATAAAGCTGCGATTCAACCATTTGGAAGGCCTCATTAGGGTTC  
CGACTGATGCTGAAAGGATCGCTTTTGCAACTCATAAGAAGCTAGCTTTGGCTAA  
GAATGCCCAAATTCACGTTATGCAAACACTTCTGCAGAGGTTACTGGGGGATTC  
TTCGGATGCTTTCCTAAAAATAATTTTCAGAGAGAATCGATGTTGATCAAGCAAAG  
GACTTACCGTAGATTATTGCGCGCTATATTTAAATTACATACTGATAAGAATTGTG  
TGGATTTAATAAATATTATCGTGAGTAAAATAATGTGTGAGAATGCGGGAGCCTC  
GTCCTATGCTCGCGCTCGTAGAGCTAAGAGTATAGGCAGGTGTCCCCGATGTTTCC  
GGTGTTCGCCAGGTTTTAKCTTCACTAAAAACTGTGACACCAAACCTTGTGTACCA  
GGTATTAGCTATAATGATAAAGTCAAATCCTTTATAGTTGATGGTGTAACAATGTG  
AAACCCTACTATAAGATTTGACGTGTTGCCCATAAACCTAAGTAATGTATAAGT  
GGGAACGTATAAAATAATTTGTTTTTAAAATATTTTCGCAAAAAAAAAAAAAA

M5. táblázat: 19A minta SLV köpenyfehérjét kódoló régió szekvenciaadatai a HaCarla és M4 primerek felhasználásával, 5'-3' irányban.

|                  |         |
|------------------|---------|
| Minta neve       | 19A     |
| Vírusfaj         | SLV     |
| Szenz primer     | HaCarla |
| Antiszenz primer | M4      |

TTTTGCGCCGGAAGCTGGGAATTCCATGTTACTTAATGAACACCCTCCAGCCAGC  
ATGGACGCAAAACGCTTCACTGAGAATACAAAATACGCTGCGTTTGATACCTTTG  
ATGCCGTGACGAATAAAGCTGCAATTCAACCATTGGAAGGCCTCATTAGGGCTCC  
AACTGATGCTGAAAGGATTGCTTTTGCAACTCATAAGAAGCTAGCTTTGGCTAAG  
AATGCCCAAAATTCACGTTATGCAAACACTTCTGCAGAGGTTACTGGGGGATTCTT  
CGGATGCTTTCCTAAAAATAATTTTCAGAGAGAATCGATGTTGATCAAGCAAAGGA  
CTTACCGTAGATTATTGCGTGCTATATTTAAATTACATACTGATAAGAATTGTGTG  
GATTTAATAAACATTATCGTGAGTAAAATAGTGTGTGAGAATGTAGGAGCCTCGT  
CCTATGCTCGAGCTCGTAGAGCTAAGAGTATAGGTAGGTGTCCCGATGTTTCCG  
GTGTTCCCGAGGTTTTAGCTTTACTAAAACTGTGACACCAAACTTGTGTACCAG  
GTATTAGCTATAATGATAAAGTCAAATCCTTTATAGTTGATGGTGTAACAATGTGA  
AACCTACTATAAGATTTGACGTGTTGCCCATAAACCTAAGTAATGTATAAGTG  
GGAACGTATAAAATAATTTGTTTTTAAAATATTTTCGCAAA

M6. táblázat: 23A minta GCLV köpenyfehérjét kódoló régió szekvenciaadatai a HaCarla és M4 primerek felhasználásával, 5'-3' irányban

|                  |         |
|------------------|---------|
| Minta neve       | 23A     |
| Vírusfaj         | GCLV    |
| Szenz primer     | HaCarla |
| Antiszenz primer | M4      |

GGTTACACCGCTAGTACAAAGTATGCTGCTTTTGATACTTTCGATTATGTGCTCAT  
TTCTGCTTGTGTGCAGCCACTTGAGGGGATCATACGGGTTCGAACCGATGAGGAG  
ACCATAGCTCACATGACTAACAAGCGGATCACTATTGATAGAAATAGGCGCAATG  
GCCGATTTTCGAGCACAAACAGTTTAGTTACGGGTGGCATGTTTCGGTAAGGATAT  
CAAAACAAATTTCAATGGATCCAACAATGCAGACTAGTGTGATCTTACTCTTAGC  
CGTTAAGAATAAATTGTGTGATAGTGGCGTGCCTACTGACGTCGCGATTGGTATTA  
TAGAACCAATTATCAAAGAGGTGAGGAAATTGCAGCGCCAAGAAGAGCAAAGGC  
TGCAACGTTTTAATGGTTGTTCTAGGAGTGCTATTAAGACGAGCTAAGTATCTC  
GATAAATGTCATAAATGCGGTAAACAAAGTCACTACGGGCTTTGTTTCGCGTAATC  
AGACTATCAGTAACATGGAGGTGGAGTTTCTTATCCGGTGTGGGACGATTAGGTA  
TCTTACCGAAAATCCACAAAGACGGAAGGACTCTATCTACAGTTCTGATTATGAA  
AAGTTAGTAGAACGTGCTACGCGTGTATTGTAGAGTGTGAGTGCATATTGGCGA  
CTATTCAGACCTAATTTGAATAGCTTGACTAAGGTTTAATATATTTTCCTTGTA

M7. táblázat: 43A minta GCLV köpenyfehérjét kódoló régió szekvenciaadatai a HaCarla és M4 primerek felhasználásával, 5'-3' irányban

|                  |         |
|------------------|---------|
| Minta neve       | 43A     |
| Vírusfaj         | GCLV    |
| Szenz primer     | HaCarla |
| Antiszenz primer | M4      |

TGCTGGATGGCAACAATGTTACACCGCTAGTACAAAGTATGCTGCTTTTGATACTT  
TCGATTATGTGCTCAATTCTGCCTGTGTGCAGCCACTTGAGGGGATCATACGGGTT  
CCAACCGATGAGGAGACCATAGCACACATGACTAACAAGCGGATCACTATTGATA  
GGAATAGGCGCAATGGCCGATTTTCGAGCACAAACAGTTTAGTTACGGGTGGCAT  
GTTTCGGTAAGGATATCAAAACAAATTTCAATGGATCCAACAATGCAGACTAGTGT  
GATCTTACTCTTAGCCGTTAAGAATAAATTGTGTGATAGTGGCGTGCCTACTGACG  
TCGCGATTGGTATTATAGAACCGATTATCAAAGAGGTGAGGAAATTGCAGCGCCA  
AGAAGAGCAAAGGCTGCAACGTTTTAATGGTTGTTCTAGGAGTGCTATTAAAAGA  
CGAGCTAAGTATCTCGATAAATGTCATAAATGCGGTAAACAAAGTCACTACGGGC  
TTTGTTTCGCGTAATCAGACTATCAGTAACATGGAGGTGGAGTTTCTTATCCGGTGT  
GGGACGATTAGGTATCTTACCGAAAATCCACAAAGACGGAAGGACTCTATCTACA  
GTTCTGATTATGAAAAGTTAGTAGAACGTGCTACGCGTGTATTGTAGAGTGTCAGT  
GCCATATTGGCGACTATTCACACCTAAATTGAATAGCTTGACTAAGGTTTAATATA  
TTTCCTTGTA

M8. táblázat: 43B minta GCLV köpenyfehérjét kódoló régió szekvenciaadatai a HaCarla és M4 primerek felhasználásával, 5'-3' irányban

|                  |         |
|------------------|---------|
| Minta neve       | 43B     |
| Vírusfaj         | GCLV    |
| Szenz primer     | HaCarla |
| Antiszenz primer | M4      |

TGGCTGGCAACAATGTTACACCGGCTAGTACAAAGTATGCTGCTTTTGATACTTTC  
GATTATGTGCTCAATTCTGCTTGTGTGCAGCCACTTGAGGGGATCATAACGGGTTCC  
AACCGATGAGGAGACCATAGCTCACATGACTAACAAGCGGATCACTATTGATAGG  
AATAGGCGCAATGGCCGATTTTCGAGCACAAACAGTTTAGTTACGGGTGGCATGT  
TCGGTAAGGATATCAAAACAAATTTCAATGGATCCAACAATGCAGACTAGTGTGA  
TCTTACTCTTAGCCGTTAAGAATAAATTGTGTGATAGTGGCGTGCCTACTGACGTC  
GCGATTGGTATTATAGAACCAATTATCAAAGAGGTGAGGAAATTGCAGCGCCAAG  
AAGAGCAAAGGCTGCTACGTTTTAATGGTTGTTCTAGGAGTGCTATTTAAAGACG  
AGCTAAGTATCTCGATAAATGTCATAAATGCGGTAAACAAAGTCACTACGGGCTT  
TGTTTCGCGTAATCAGACTATCAGTAACATGGAGGTGGAGTTTCTTATCCGGTGTGG  
GACGATTAGGTATCTTACCGAAAATCCACAAAGACGGAAGGACTCTATCTACAGT  
TCTGATTATGAAAAATTAGTAGAACGTGCTACGCGTGTATTGTAGAGTGACAGTG  
CCATATTGGCGACTATTCAAACCTAAATTGAATAGCTTGACTAAGGTTTAATATAT  
TTCCTTGTA

M9. táblázat: 1A minta GarV-X köpenyfehérjét kódoló régió szekvenciaadatai a HaAllexi és M4 primerek felhasználásával, 5'-3' irányban

| Minta neve                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 1A       |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| Vírusfaj                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | GarV-X   |
| Szenz primer                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | HaAllexi |
| Antiszenz primer                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | M4       |
| <p>CAGACGCGCCTTGCGGCATGCCCCACGCGGAGCTCAAGGACTTAGTTGAAGATTA<br/> TTGCACGTTGAGACAATTCTGCGGGTACTATGCCAAAACATGCTATGTCACGGGC<br/> AAACAGCAGAATAAACCACCAGCCAACTGGTCTCGCAAAGGTTTCCAAGATGAGT<br/> CAAAGTTTGCTGCCTTCGACTTCTTCAACGCTGTGCTGAGTGATTCATCACCGAAC<br/> CCCCAGGTGGCATGAGGTTTAAACCGACACACGATGAGATTGTTGGGCATTCCA<br/> TGAACGCAAAGATGTCAATCATCGAGTCCCGCAAAGCTTCAAACATGGTTTCCAC<br/> ACGGGCCGACTTGTTAGCTCAACAACAAATACATGAAGCACCCAAACCTCTCATG<br/> ATCACATTCTGAAATTGATCACCAAATGCATCCTTACGACCTCAATCTCCTAGCTT<br/> GTCTTCATTTCTCTCAACCAACACTTCCAACGGACGTTAAAATAGTAATATATAAA<br/> TTAACTTTTGAAAGTAGGAAACTAGCACATAACTTAGGACAAAATAAACCTTTCA<br/> CAGGGACTTCCAAGTGTGCTGCCCCGACGCAGGGCAAAACGCTATGGTCGATGCTT<br/> TGATTGCGGTGCCACGTTAGGCACTAACCATGCATGTAAATTATTCCAAAGTCGTG<br/> CCAGTACAGACTGTTTGAGCGTCATTCGTGAAGGACCCGCTAAGCTATATGCTGA<br/> AAGGTCTTTTCGCAAATCATCTTACGCCGAGCAGATTATTCGTAACGACTTGATGC<br/> TAATGAAACTATATAAATAGGCTCTGCCCCGAGCCTCCCACTGGGTTTACAGGGCW<br/> CTGGACATGGACAAAGACACCCATGCTCGTTGATATCACCAAACCTTACTTCGTGA<br/> CAACATTTGTCCAAGCGACA</p> |          |

M10. táblázat: 7A minta GarV-D köpenyfehérjét kódoló régió szekvenciaadatai a HaAllexi és M4 primerek felhasználásával, 5'-3' irányban

| Minta neve                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 7A       |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| Vírusfaj                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | GarV-D   |
| Szenz primer                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | HaAllexi |
| Antiszenz primer                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | M4       |
| AAAGCACCTTGCGGATGCCTCACTCAGAACTCAAAGACTTGGTCGAAAATTTTTG<br>CACATTGAGACAATTCTGCGGGTTCTATGCCAAAGCTTGTTACGTCACGGGCAAG<br>CAGCAGAAGAAACCACCAGCTAGCTGGTCTAGGAAAGGGTATCAAGACGATGCG<br>AAGTTTGCCGGGTTTGACTTCTTTAATGCGGTGCTTAGCGACTTCTCCCCTGCCCC<br>ACCTGGGGGAATGAGATTTAAACCCACTGACGCCGAAATTCTCGCTCATTCCATG<br>AATGCTAAGATGTCAATTGTTGAGTCTCGCCGAGCCAGCAACATGGTTTCTACTCG<br>CGCCGACCTCCTTGCACAACAACAGATACATGAACAACCCAAGCCACCAATGATC<br>ACATTCTGATGCATCCACACGACTTCAACTTGCTTTGCTGCCTGCACTTTTCACAA<br>CCTCCTCTCCCGAAAGACCTCAAAGAACTCCTCTTTTCACATTGTGTAGATTGTTG<br>TAAATTAGTACGTAAAATTAGCCAGAATAAGCCTTTCOAAGGCACTTCTAAGTGT<br>GCTAAGCGCCGACGGGCAAAGCGTTACAACCGATGCTTTGACTGTGGGGCTTTCT<br>TAGTAGATGGGCATAGATGTAAAGTATTTGTATCAAATGCTCACTCAGATGTGTTA<br>GCTGTCATACACGAGGGACCCGTTAAGCTATATGCTGAAAGGTCTTATAGGCCAA<br>ACTCTGACGCAGCACAATTGATTGAGAATGACATACTATACATTAAAGCTCTCAA<br>ATTATAAGGCTTGACCCAAGCCTCCCACCGGGTTTACAGGGTTCTGGACGTGAAC<br>AAAGACACTCACGAAATGTTGATATTGCTAAACTTACCTTGCAACAACCTTATGTCC<br>AAGCGACAA |          |

M11. táblázat: 11A minta GarV-D köpenyfehérjét kódoló régió szekvenciaadatai a HaAllexi és M4 primerek felhasználásával, 5'-3' irányban

| Minta neve                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 11A      |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| Vírusfaj                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | GarV-D   |
| Szenz primer                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | HaAllexi |
| Antiszenz primer                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | M4       |
| AAAGCACCTTGCGGAATGCCTCACTCAGAACTCAAAGACTTGGTCGAGAATTTTT<br>GCACATTGAGACAATTCTGCGGGTTCTATGCCAAAGCTTGTTACGTCACGGGCAA<br>GCAGCAGAACAAACCACCAGCTAGCTGGTCCAGGAAAGGGTATCAAGACGATGC<br>AAAGTTTGCCGGATTTGACTTCTTTAATGCGGTGCTTAGCGACTTCTCCCCTGCCC<br>CACCTGGGGGAATGAGATTTAAACCCACTGACGCCGAAATTCTTGCTCATTCCAT<br>GAATGCTAAGATGTCAATTGTGGAGTCTCGCCGAGCCAGCAACATGGTTTCTACT<br>CGCGCTGACCTCCTTGCCCAACAACAGATACATGAACAACCCAAGCCACCAATGA<br>TCACATTCTGATGCATCCGCACGACTTCAACTTGCTTTGCTGCCTGCACTTTTCACA<br>ACCTCCTCTCCCGAAAGACCTCAAAGAACTCCTCTTTTCACATTGTGTAGATTGTT<br>GTAAATTAGTACGTAAGATTAGCCAGAATAAGCCTTTCCAAGGCACTTCTAAGTG<br>TGCTAAGCGCCGACGGGCAAAGCGTTACAACCGATGCTTTGACTGTGGGGCTTTC<br>TTAGTAGATGGGCATAGATGTAAAGTATTTGTATCAAATGCTCACTCAGATGTGTT<br>AGCTGTCATACACGAGGGACCCGTTAAGCTATATGCTGAAAGGTCTTATAGGCCA<br>AACTCTGACGCAGCACAATTGATTGAGAATGACATACTATACATTAAAGCTCTTA<br>AATTATAAGGCTTGACCCAAGCCTCCACCGGGTTTACAGGGTTCTGGACGTGAA<br>CAAAGACACTCACGATTGTTGATATTGCTAAACTTACCTTGCAACAACCTTATGTCC<br>AAGCGAC |          |

M12. táblázat: 16A minta GarV-D köpenyfehérjét kódoló régió szekvenciaadatai a HaAllexi és M4 primerek felhasználásával, 5'-3' irányban

| Minta neve                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 16A      |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| Vírusfaj                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | GarV-D   |
| Szenz primer                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | HaAllexi |
| Antiszenz primer                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | M4       |
| AAAGCACTTGCGGATGCCTCACTCAGAACTCAAAGACTTGGTCGAAAATTTTTGC<br>ACATTGAGACAATTCTGCGGGTTCTATGCCAAAGCTTGTTACGTCACGGGCAAGC<br>AGCAGAAGAAACCACCAGCTAGCTGGTCCAGGAAAGGGTATCAAGACGATGCAA<br>AGTTTGCCGGGTTTGACTTCTTTAATGCGGTGCTTAGCGACTTCTCCCCTGCCCCA<br>CCTGGGGGAATGAGATTTAAACCCACTGACGCCGAAATTCTTGCTCATTCCATGA<br>ATGCTAAGATGTCAATTGTTGAGTCTCGCCGAGCCAGCAACATGGTTTCTACTCGC<br>GCTGACCTCCCTGCCCAACCACAGATACATGAACAACCCAAACCACCAATGATCA<br>CATTCTGATGCATCCCCACGAATTCCCCTTGCTTTGCTCCCTGCACTTTTCACACCT<br>CCTCTCCCGATAGGGCTTCAGG |          |

M13. táblázat: 19A minta GarV-D köpenyfehérjét kódoló régió szekvenciaadatai a HaAllexi és M4 primerek felhasználásával, 5'-3' irányban

| Minta neve                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 19A      |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| Vírusfaj                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | GarV-D   |
| Szenz primer                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | HaAllexi |
| Antiszenz primer                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | M4       |
| <p>TTGCGGATGCCTCACTCAGAACTCAAAGACTTGGTCGAAAATTTTTGCACATTGAG<br/> ACAATTCTGCGGGTTCTATGCCAAAGCTTGTTACGTCACGGGCAAGCAGCAGAAG<br/> AAACCACCTGCTAGCTGGTCCAGGAAAGGGTATCAGGACGACGCAAAGTTTGCCG<br/> GGTTTGACTTCTTTAATGCGGTGCTTAGCGACTTCTCCCCTGCCCCACCTGGGGGA<br/> ATGAGATTTAAACCCACTGACGCCGAAATTCTTGCTCATTCCATGAATGCTAAGAT<br/> GTCAATTGTTGAGTCTCGCCGAGCCAGCAACATGGTTTCTACCCGCGCTGACCTCC<br/> TTGCACAACAACAGATACATGAACAACCCAAGCCACCAATGATCACATTCTGATG<br/> CATACGCACGACTTCAACTTGCTTTGCTGCCTGCACTTTTCACAACCTCCTCTCCCG<br/> AAAGACCTCAAAGAACTCCTCTTTTCACATTGTGTAGATTGTTGTAAATTAGTACG<br/> TAAGATTAGCCAGAATAAGCCTTTCCAAGGCACTTCTAAGTGTGCTAAGCGCCGA<br/> CGGGCAAAGCGTTACAACCGATGCTTTGACTGCGGGGCTTTCTTAGTAGATGGGC<br/> ATAGATGTAAAGTATTTGTATCAAATGCTCACTCAGATGTGTTAGCTGTCATACAC<br/> GAGGGACCCGTTAAGCTATATGCTGAAAGGTCTTATAGGCCAAACTCTGACGCAG<br/> CACAAGTGATTGAGAATGACATACTATACATTAAAGCTCTTAAATTATAAGGCTT<br/> GACCCAAGCCTCCCACCGGGTTTACAGGGTTCTGGACGTGACCAAAGACACTCAC<br/> GACTGTTGATATTGCTAAACTTACCTTGCAACAACCTTATGTCCAAG</p> |          |

M14. táblázat: 23A minta GarV-B köpenyfehérjét kódoló régió szekvenciaadatai a HaAllexi és M4 primerek felhasználásával, 5'-3' irányban

|                  |          |
|------------------|----------|
| Minta neve       | 23A      |
| Vírusfaj         | GarV-B   |
| Szenz primer     | HaAllexi |
| Antiszenz primer | M4       |

TGCGGCATACCTCATGCTGAACTCAAGGACTTAGTCGAGGACTACTGCACGTAA  
 GACAGTTTTGTGGATACTACGCCAAGACATGCTATGTGACGGGTAAACAGCAGAA  
 TAAGCCCCCTTCAAACCTGGTCGCGTAAAGGGTTCCAAGAAGAATCAAAATTTTCA  
 GCTTTTGATTTCTTCAATGCCGTGCTTAGCGACTCTTCTCCTCCCCCTCCTGGTGGC  
 ATGCGTTTCAAACCAACACAAGATGAGATTTTAGGTCATTCTATGAACGCCAAAA  
 TGTCTATAATTGAGTCACGCAAGGCATCAAACATGGTTTCCACTCGCGCAGACTTA  
 CTAGCACAACAGCAGATTCACGAAGCGCCGAGACCACTCATGSTCACATTTTAGA  
 GACTCTTGACCCTGAAATGCATCCTTACGATTTCAACTTCTTAGCCTGCCTACAAT  
 TTGCTCAACCCAATCTCCCAAGCGACATTAGAACTAATATATATATATTATCTTCT  
 GTAAGTAGGAACTAGGTCGTAAATCTCAACAAAATAAACCCTTCACTGGGACGT  
 CAAAATGTGCAGCCCGCCGTAGAGCAAAACGCTACAACCGGTGTTTCATTTGCGG  
 CTCTTTGCTGAACACTGACCACGTATGTAAATTATTCCCAAGTCGAGCCAGTACAG  
 ACTGCTTGCAATGTCATTCATGAAGGACCCGCTAAGCTATATGCTGAAAGGAACTT  
 CCGCAAATCCTCTTTTGCTGAGCAGCTTATACTGAACGATTTGGAACCTTATGAAAT  
 TATATGAATAAATAGGCTCTGCCCCGAGCCTCCCACTGGGGTTTACAGGGCTCTGG  
 ACATGGACAAAGACACCCATGCCGTTGATATCACTAACTTACATTGTGACAACA  
 TTTGTCCAAGCGACAAAAAAA

M15. táblázat: 43A minta GarV-D köpenyfehérjét kódoló régió szekvenciaadatai a HaAllexi és M4 primerek felhasználásával, 5'-3' irányban

|                  |          |
|------------------|----------|
| Minta neve       | 43A      |
| Vírusfaj         | GarV-D   |
| Szenz primer     | HaAllexi |
| Antiszenz primer | M4       |

GCAAAGCACCTTGCGGATGCCTCACTCAGAACTCAAAGACTTGGTAGAAAATTTT  
TGCACTTTGAGACAATTCTGCGGGTTCTATGCCAAAGCTTGTTACGTCACGGGCAA  
GCAGCAGAAGAAACCACCAGCTAGCTGGTCCAGGAAAGGGTATCAAGACGATGC  
AAAGTTTGCTGGGTTTGACTTCTTTAATGCGGTGCTTAGCGACTTCTCCCCTGCCC  
CACCTGGGGGAATGAGATTTAAACCCACTGACGCCGAAATTCTTGCTCATTCTATG  
AATGCTAAGATGTCTATTGTGCGAGTCTCGCCGAGCCAGCAACATGGTTTCTACTCG  
CGCTGACCTCCTTGACACAACAACAGATACATGAACAACCCAAGCCACCAATGATC  
ACATTCTGATGCATCCGCACGACTTCAACTTGCTTTGCTGCCTGCACTTTTCACAA  
CCTCCGCTCCCGAAAGACCTCAAAGAACTCCTCTTTTCACATTGTGTAGATTGTTG  
TAAATTAGTACGTAAGATTAGCCAGAATAAGCCTTTCCAAGGCACCTCTAAGTGT  
GCTAAGCGCCGACGGGCAAAGCGTTACAACCGATGCTTTGACTGTGGGGCTTTCT  
TAGTAGATGGGCATAGATGTAAAGTATTTGTATCAAACGCTCACTCAGATGTGTT  
AGCTGTCATACACGAGGGACCCGTTAAGCTATATGCTGAAAGGTCTTATAGGCCA  
AACTCTGACGCAGCACAATTGATTGAGAATGACATACTATACATTAAGCTCTT  
AATTATAAGGCTTGACCCMAAGCCTCCACCGGGTTTACAGGGTTTCTGGACGTG  
AACAAAGACACTCACGAATGTTTGATATTGCTAAACTTTACCTTGCAACAACCTTAT  
GTCCAAGCG

M16. táblázat: 43B minta GarV-D köpenyfehérjét kódoló régió szekvenciaadatai a HaAllexi és M4 primerek felhasználásával, 5'-3' irányban

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |          |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| Minta neve                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 43B      |
| Vírusfaj                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | GarV-D   |
| Szenz primer                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | HaAllexi |
| Antiszenz primer                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | M4       |
| <p>CTAGCAAAGCACCTTGCGGATGCCTCACTCAGAACTCAAAGACTTGGTAGAAAAT<br/> TTTTGCACTTTGAGACAATTCTGCGGGTTCTATGCCAAAGCTTGTTACGTCACGGG<br/> CAAGCAGCAGAAGAAACCACCAGCTAGCTGGTCCAGGAAAGGGTATCAAGACGA<br/> TGCAAAGTTTGCTGGGTTTGACTTCTTTAATGCGGTGCTTAGCGACTTCTCCCCTG<br/> CCCCACCTGGGGGAATGAGATTTAAACCCACTGACGCCGAAATTCTTGCTCATTCT<br/> ATGAATGCTAAGATGTCTATTGTCGAGTCTCGCCGAGCCAGCAACATGGTTTCTAC<br/> TCGCGCTGACCTCCTTGCGCAACAACAGATACCTGAACAAACCAAGCCACTAATG<br/> ATCTATTCTGATGCATTCCCACGAATTCAGATGCTTTACTGCCTGGTGTATCACAA<br/> CGCCCGCTCCCGAAACACCTCAAGGAGCGCCGCTTTTAGCATTGTTTAGATGGAA<br/> TGAAGAT</p> |          |

M17. táblázat: 49A minta GarV-X köpenyfehérjét kódoló régió szekvenciaadatai a HaAllexi és M4 primerek felhasználásával, 5'-3' irányban

|                  |          |
|------------------|----------|
| Minta neve       | 49A      |
| Vírusfaj         | GarV-X   |
| Szenz primer     | HaAllexi |
| Antiszenz primer | M4       |

ATGGGTGATCGGAACCAAGGAATAAATCCCAACCAGGGACTCAATGCCCCAAGCG  
CAAGGTGATGGAACAAGCAGTCAAAATCAACGCCCCAATAGGAATCCAACCTCCTC  
GACCCCAAGCTGACTTAAACGCCCAGAACAACGTCATGCCTTCTGAAAATGACTT  
AGCAGCGATAGCAAGTGATGTAACCTTCCAACCTCGGTAGCCACACAGGAGATTATC  
CGTGAAATCCTCAGCACCTTCAAGCAAGGCGACCCAACGCAACACCCAAAGACT  
TATTTTCGCTTGCGTGGGCATGCTACCACAACGGATCATCACGATTCACAACAATG  
ACCACTGATGCACCTTGCGGTATGCCTCACGCGGAGCTCAAAGACCTTGTTGAAG  
ATTACTGTACGCTGAGACAATTTTGTGGCTATTACGCCAAAACATGCTATGTCACG  
GGGAAGCAGCAAAATAAGCCACCAGCCAACCTGGTCTCGAAAAGGTTTCCAAGAG  
GAATCAAAATTTGCTGCCTTTGACTTCTTCAACGCTGTGATGAGCGACTCGTCTCC  
AACACCGCCTGGCGGCATGCGATTTAAACCAACACACGAGGAGATTGTGGGACAC  
TCCATGAATGCGAAGATGTCTATCATTGAGTCGCGCAAAGCCTCGAATATGGTCT  
CCACTCGCGCTGATCTGTTGGCCCAACAGCAAATCCACGAAGCTCCGAAACCCCT  
CATGCTCACATTCTAA

### M3. A Gupta- és Yoshida-féle módosított primerkészlettel nyert szekvenciaadatok

M18. táblázat: PotyAS3 mesterségesen fertőzött minta LYSV köpenyfehérjét kódoló régió szekvenciaadatai a Gupta-féle optimalizált primerkészlet felhasználásával, 5'-3' irányban

| Minta neve       | PotyAS3 (23A)  |
|------------------|----------------|
| Vírusfaj         | LYSV           |
| Szenz primer     | LYSV CP FULL F |
| Antiszenz primer | LYSV CP FULL R |

GGGGGGAGAACAAGGATAGCGCAGACAGTCCATTGAGCAGCGGAACCCATTATT  
GTCGCAAACACTAGTGTACATGGAAGAAAGATGGTGGTAGCGGTTTCAGGTTTGAGCA  
TAAACAAAGACAGAGACGTGAATGTTGGCACCACAGGAACCTTCAGTGTGCCGCG  
AATAAAACAAATACCGCAGAAGGGCATATTAATTCCAATGGATGGAGGGGAAATC  
AATACTTAACTTAGACCATTTATTACAGTATAAACCGAGTCAATTATGTATATCAA  
ACACTAGRGCCACAAGGACACAATTTATGACTTGGAAGACGAGGTTGCAAGAGG  
AATATGGTGTCACTGATAGTGAAATGAGCATCATTTTAAATGGCTTGATGGTGTG  
GTGCATTGAAAATGGAACCTTCACCTAATATAAATGGAGTTTGGACAATGATGGAT  
GGCGAGGAGCAAGTTGAATTTCTCTACGCCCTGTTGTCGAGCATGCACAGCCAA  
CTCTACGACAAATAATGACGCATTTCTCAGCACTCGCGGAAGCTTATATTGAGAT  
GAGGAATTCGGAACAGGCTTACATGCCACGGTATGGATTACAGAGAAATCTTACA  
GACATGGGTCTCGCACGTTATGCATTTGACTTCTATGAAGTCACATCAAGAACACC  
AGTTAGAGCGCGCGAGGCTCACGCACAAATGAAAGCAGCGGCCTTACGTAATTCA  
AAGCCAAAGCTGTTTGGACTAGACGGTAACGTCACAACCATGGATGAGGACACG  
GAGAGGCACACAGCGCATGATGTGAATGCACGGATGCACCATCTTGATGGTGACA  
TATGCAG

M19. táblázat: PotyAS3 mesterségesen fertőzött minta LYSV Nib fehérjét kódoló régió szekvenciaadatai a Gupta-féle optimalizált primerkészlet felhasználásával, 5'-3' irányban

| Minta neve                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | PotyAS3 (23A) |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| Vírusfaj                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | LYSV          |
| Szenz primer                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | LYSV Nib F    |
| Antiszenz primer                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | LYSV Nib R    |
| TTTACTCTTGACGACGGGAAATGGGAATTCCAATCAGGTCACAAGGATTGGATGT<br>ATAACAAGCTAGAGGGAACTTAAAGGCTGTTGGACGCACGAGCGGAAATCTGG<br>TAACCAAACACTCAGTAAAAGGAAAGTGCATGCTCTTCCAAACATATTTGTCGGT<br>TGAGCCAGAGGAAGCCGCATACTTCACACCACTTATGGGTGCCTATGCAAAAAGT<br>GCTCTTAACAAGGAAGCGTATATTAAAGACTTGAGCAAATACTCAGGTGAAATCA<br>GCGTTGGCAACGTAGACTGCGATGTGTTTCGAGCGAGCTTTTGATAAGGTTGTAAA<br>TTTAATGGAGAGCAAGGGATTCCACGAGTGTGCATACATCACGAATGAACACGAG<br>ATATTGGCAGCACTAAACATGAAAGCAGCCGTTGGAGCATTGTACTCAGGAAAGA<br>AACGTGAGTATTTTGCAGATTTTCTGACCAAGACAAGTATGAAATCGTCAAAGA<br>AAGCTGTAAAAGATTGTTTCTTGGCAAAATGGGTGTGTGGAATGGGTCCTTAAAG<br>GCTGAGCTTCGCCCAATTGAGAAGGTTATGGCTAATAAACTCGTTCATTCACGG<br>CAGCACCGTTAGACACACTTCTTGGAGGAAAAGTTTTCGTGGACGACTTCAATAA<br>CCAATTTTACAGTCGCCACTTTGACTTGCCTTGGACAGTGGGTATGAGCAAGTTCC<br>GCAAAGGGTGGGACACTTTACTTAGAAAGCTGCCCCGACAATTGGGTCTATTGTGA<br>TGCGGATGGCTCTCAGTTCGACAGCTCGTTGTCGCCATATTTAATAAACGCCGTCT<br>TAAACTACGATTGCACTTTATGGAGAATTGGGACGTTGGTGAGGCTATGTTGAAG<br>AATTTGTACACAGAATCGTCTACACACCATAGCAACACCAGATGGCCCATAGTAA<br>GAAATTTAAGGGCAACAATAGTGGGCRCCATCCACTGTAGTTGATACTCCCTGAT<br>GGTTGTCTTCTCGATGTACTATGCTATGGAGATGACCCTATAAGACATACATGACA<br>ATGCGTTTCTTGTAAATGGTGA |               |

M20. táblázat: PotyAS3 mesterségesen fertőzött minta LYSV P1 fehérjét kódoló régió szekvenciaadatai a Yoshida-féle primerkészlet felhasználásával, 5'-3' irányban

| Minta neve       | PotyAS3 (23A)    |
|------------------|------------------|
| Vírusfaj         | LYSV             |
| Szenz primer     | LYSV P1 F - yshd |
| Antiszenz primer | LYSV P1 R - yshd |

GCAAAC TACAAACCAAACACTGATAGCAACATGTCTAAAACATTAGCATCCGCC  
AGATACGTTGAATATGGGCGCAACAGAGCAACACCACTGGAGAGTAAAGATATA  
ATCGAGCAGCGGCGCGAAATACTAAAAGGTATAATCTACCGCACGCAAAC TAATG  
GCCAGACTCCTGCATATGTCTTTGGAGCCACAGGTTACGGTAAGGTT CAGAATAG  
CAAGTCCTTGTGTGCAAGGCGCATAGGAGCTCGCTATAATCGAGATGATGATGTC  
TATGAATGCAACACTTGTAATGGTGCATTCCAAACTAAGGAGGCATTCAAGGAAC  
ATGACTGCGATGAGGAAAACGAGGATATTGACATGCCTTCTCTAGACTTCTCTCTT  
AATGTCGAGGAGTTTCCAACCCTACTGGATAACCCCGCATGAACACCCAAGAGCG  
AGGTCGATGGCATCCAATTCGGGAGCTTTAACACACCTATCTTA ACTGAAGATAG  
CTCTCAATCCAATGCAGTGGACACTCCCATGCCTGAATCCAAGAGTGAGGACAGT  
GTAATTTACTTTGGGAGCTTTGAGACACCAGTCACAGTTGGAGGTGATCTCAAATC  
AGATATATTGGATAGTCCCGCATATGAACCCATAACTGAAGAAAATGTCATTTAC  
TTCGGAAGTTTTGAGACACCTGCACCACTTGCGAGTGTCCCTGAGCCCATTACAAC  
ATCTCGCATTAACATGGGTCAACTAGAGTGCGACGATAATTTACRTGTAGAGTCA  
GAACGGGTTATAGTTTGCCCAATCATTAGTGCTGAAGAAATTCAGATCACACAGC  
ACACCACGCCAGATCCG

#### M4. Fajspecifikus allexivírus primerekkel nyert szekvenciaadatok

M21. táblázat: 9A minta GarV-B ORF2 régió szekvenciaadatai a saját fejlesztésű GarV-B primerkészlet felhasználásával, 5'-3' irányban

| Minta neve                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 9A           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| Vírusfaj                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | GarV-B       |
| Szenz primer                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | GarV-B (for) |
| Antiszenz primer                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | GarV-B (rev) |
| <p>GTGCATTACAGGACGCTCTTGCGGTATAGCTCATGCTGAGCTCAAGGACTTAGTC<br/> GAGGACTATTGCACACTGAGACAGTTTTGTGGATATTATGCCAAAACATGCTACG<br/> TGACGGGCAAACAGCAGAATAAACCCCCCTCAAAGTGGTCACGTAAAGGGTTCCA<br/> AGAAGAATCAAAATTCTCGGCTTTTGATTTCTTCAATGCCGTGCTTAGCGACTCTT<br/> CTCCCCCCCCCCCCGGGGGCATGCGTTTCAAACCCACGCAAAAMGAAATTTTAGG<br/> TCATTCCATGAACCCCAAATGTCTATAATCGAGTCCCGCAAAGCATCAAACAGG<br/> GTCCCCACTCGCGCAAACCTTGCTAGCACAACAACAAATTCACGAAGCGCCRAAAC<br/> CMCTCAGGCTTACATTTTAAAAATTCTTGACYCCRAAAGGCMYCCCTACGATTTT<br/> AACTTCTTAGCCGGTTTACAATTTGCTCAACCCAATCCCCCAAGCGATATTAAAC<br/> TAKTATATATATATTATCTTCTGCAAGTAGGAAACTAGGTCGTAAATCCCAACAA<br/> AATAAACCTTTTACKGGGACGTCAAAGTGGGCAGCTCGCCGAAAAGCAAAACGG<br/> TATAACCGGTGTTTTGACTGCGGCGCCTTGCTGAACACTGACCACGTATGTAAATT<br/> ATTCACAAGTCGAGCCAGTACAGACTGCTAACATGTCATTCATGAAGGACCCGCT<br/> AAGCTATATGCTGAAAGGAACTTCCGWAAATCATCTTTTGCTGAGCAGCTTATAC<br/> TGAACGATTTAAAACTTATGAGATTATATAAATAGGCTC</p> |              |

M22. táblázat: 32A minta GarV-D ORF4 régió szekvenciaadatai a saját fejlesztésű GarV-D primerkészlet felhasználásával, 5'-3' irányban

| Minta neve                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 32A          |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| Vírusfaj                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | GarV-D       |
| Szenz primer                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | GarV-D (for) |
| Antiszenz primer                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | GarV-D (rev) |
| <p>CTTGCGGATGCCTCACTCGGAACTCAAAGACCTGGTCGAGAATTTTTGCACATTGA<br/> GACAATTCTGCGGGTTTTATGCCAAAGCTTGTTACGTCACGGGCAAGCAACAGAA<br/> GAAACCACCAGCCAGTTGGTCCAGGAAAGGCTACCAAGATGATGCAAAATTTGCC<br/> GGATTTGACTTCTTTAATGCGGTGCTTAGTGACTTTTCCCCTGCCCCACCTGGAGG<br/> AATGAGATTCAAACCCACTGACGCTGAAATTCTTGCTCACTCCATGAACGCTAAG<br/> ATGTCAATTGTGGAATCCCGCCGGTCCAGCAACATGGTTTCCACCCGCGCTGACCT<br/> CCTTGACACAACAACAGATACATGAGCAGCCTAAACCTCCAATGATCACATTCTGA<br/> TGCATCCACACGACTTTAACTTGCTTTGTTGCCTACACTTTTCACAACCTCCTCTTC<br/> CAAAAGACCTCAAAGAGTTCATCTTCTCACACTGTGTAGATTGTTGTAAATTAGTA<br/> CGTAAAATTAATCAGAATAAACCTTTCCAAGGTATATCTAAGTGTGCTAAACGTC<br/> GACGGGCAAAGCGCTACAATAGATGCTTTGACTGCGGAGCGTTCTTAGTAGATGG<br/> GCATAGATGTAAGGTATTTGTATCAAAAGCTCACTCGGATGTGTAGCTGTCATAC<br/> ACGAGGGACCCGCTAAGCTATATGCTGAAAGGTCCTATAGGCCAAACTCTGATGC<br/> AGCACAATTGATTGAGAATGACATACTATAATTAAAGCTCTTAAATTATAAGGC<br/> TTGACCCAAGCCTCCCATCGGGTTTACAGGGTTCTGGACGTGAACAAAGACACTC<br/> ACGACTGTTGATATTGCTAAACTTACCTCGCAACAACCTTATGTCCACGCG</p> |              |

M23. táblázat: 34B minta GarV-D ORF4 régió szekvenciaadatai a saját fejlesztésű GarV-D primerkészlet felhasználásával, 5'-3' irányban

| Minta neve                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 34B          |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| Vírusfaj                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | GarV-D       |
| Szenz primer                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | GarV-D (for) |
| Antiszenz primer                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | GarV-D (rev) |
| <p>GCGGATGCCTCATGCGGAGCTCAAGACCTGGTCGAGAATTTTTGCACATTGAGAC<br/> AATTCTGCGGGTTCTATGCCAAAGCTTGCTACGTCACGGGCAAACAGCAGAAGAA<br/> ACCACCGGCTAGTTGGTCCAGAAAAGGATATCAAGATGATGCAAAATTCTGCGGG<br/> TTCGACTTCTTTAATGCGGTGCTTAGCGACTTTTCCCCTGCCCCACCTGGAGGAAT<br/> GAGGTTTAAACCCTCTGACGCCGAAATTCTTGCTCATTCCTGAATGCTAAGATGTC<br/> AATTGTGGAGTCCCGTCGGGCCACCAACATGATTTCACCCGCGCTGACCTCCTCG<br/> CCCAACAACAGATACACGAACAACCCAAGCCTCCCATGATCACATTTTGATGCAT<br/> CGCCACGACTTTGACTTGCTTTGTTGCCTGCTCTTCTCGCCGCCTCCTCTGCCCAA<br/> GACCTCTCAAACCTTCGCTTCTCAAACCTGTGTAAATTGTTGTAAATTAATACGTAT<br/> TATTAACCAGAATAAGCCTTTCCAAGGCGTTTCCCTTTGTGGTAAGTGCCGCCGGG<br/> GATGCCGCTATAACCGATGCTTTGACTGCCGAACCTTTCTTACTATATGAGAATATA<br/> TGTAAGTATTTGGATCGAAAGCTCATCCCAATGCGTGAGCTGTCATACTCCATCG<br/> ACGCGCTTAACCTATATGCCTAATGGTCTTACTGGTCAAATTCTGATGCCACACAAT<br/> TGATTGACAGAGACATACTATACGATAAAGCTCTTAATTTATAAGGCTTGACCCA<br/> AGTCTCCTTTTGGGTTTACAGGGTTCTGGATTTGAACAATCACACTCAGGACTGTT<br/> ACTATTGCGATTGTTACCTTG</p> |              |

M24. táblázat: BAJA minta GarV-D ORF4 régió szekvenciaadatai a saját fejlesztésű GarV-D primerkészlet felhasználásával, 5'-3' irányban

| Minta neve                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | BAJA         |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| Vírusfaj                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | GarV-D       |
| Szenz primer                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | GarV-D (for) |
| Antiszenz primer                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | GarV-D (rev) |
| AGCGTGTCAAGGCTTTCGGCAGGTCAACTAGGCCTTCTGGCAGCCGTGACCCTCCA<br>AATGCTAACCCAGTTACCAAAGAACAGGAGGACCTRATGCCTGCCGTTACTGAAT<br>TCGAAAATCTGGCTAACGACGTGARTCAAACCTCAATAGCTTCAAGGGCGACTAT<br>ACGAGATATCCTGGACATGTTACAAGCAACCAAGCAAGGGAGCATACACCCGAA<br>GGACCTCTTTTTCTTTTAGCTTTGGACGTGCTACCCACAATGGGCTCCCTCACGCTT<br>TTGTTACACTAAGCAGGAAAGCACCTTGCGGAATGCCTCACTCRGAACTCAAAGA<br>CTTGGTCGAGAATTTTTGCACGTTGAGACAATTCTGCGGGTTCTATGCCAAAGCTT<br>GTTACGTCACGGGCAAGCAGCAGAAGAAACCACCGGCTAGCTGGTCCAGGAAAG<br>GCTATCAAGAGGATGCAAAGTTTGCCGGATTTGACTTCTTTAATGCGGTGCTTAGC<br>GACTTYTCCCCTGCCCCACCTGGRGGAATGAGATTCAAACCCACTGACGCYGAAA<br>TTCTTGCTCATTCCATGAATGCTAAGATGTCAATTGTGGAGTCYCGCCGAGCCAGC<br>AACATGGTTTCCACTCGCGCTGACCTCCTTGACACAACAACAGATACATGAACAAC<br>CCAAACCTCCAATGATCACATTCTGATGCATCCACACGACTTCAACTTGCTTTGYT<br>GYCTGCACTTTTACAAACCTCCTCTYCCGAAAGACCTCAAAGAACTCCTCTTTTCA<br>CATTGGGTAGATTGTTGTAAATTAGTACGTAAAATTAATCAGAATAAACCTTTCCA<br>AGGYACATTCTAAGTGTGCTAAGCGTCGACGGGCAAAGCGCTACATCGATGCTTT<br>GACTGGTGAGCGTTTCTTAGTAGATGGCATAGATGTAAAGTATTTGTATCAAATGC<br>TCACTCGATGTGTTAGCTGTCATACACGAGGACCGCTAGCTATATGCTGAAGTCTA<br>TAGCAACTCTGACGCAGCCATGATGAAAAT |              |

M25. táblázat: BAJA minta GarV-C ORF4-5 régió szekvenciaadatai a szakirodalmi eredetű GarV-C-brd primerkészlet felhasználásával, 5'-3' irányban

| Minta neve                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | BAJA               |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|
| Vírusfaj                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | GarV-C             |
| Szenz primer                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | GarV-C (for) - brd |
| Antiszenz primer                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | GarV-C (rev) - brd |
| <p>CGCTGCGCACTATGGCACTTTAATTTATAATGGGTCAAGCTTGCACATGCCAATGG<br/> ACATATTAGGTAAACCAGCCAGTACAGCCCTGCAGCTGCAAATTGACATTCAGCC<br/> CTCGCCAGGAGGAACCAGTGTAACCTACAAATTGGCTGACAATGGCGCGCTGCTA<br/> TTAAGTGACGAAATATTTACGCCACACAAGTTGAATAAGCCTTTAAGTGACGCTC<br/> TCTCCCTGTTACATAACAATTGCTCAAGCTTCATCTACAACAACAAAGGCGATCGG<br/> CTTTGTTAAGTTGTAGTGTAGTTCGAATATGAGCAGAGACGACCTATCAGACGAT<br/> CTCGTGAACGCTGCCATGACCGATCCGCCAACTCAGGGACTAAATCAAGCCACAT<br/> CTGCCCAGGGCTCTAGACCGGGACTTATATCTGGACCAGGTTACAAACGCCTAG<br/> CAAGAATCCCAGACCATCTTCTACACAAAGTGGACCGACTGTCACAAACGACTTG<br/> TTGCCGAGTGAGTCCGAATTGGAGGCAGTTGCGAATGATGTCACATCTAACTCTG<br/> TAGCTACGCAGAGCACAATTCGCGAAATACTAGACTTGCTCCGTGCACGTAAGCC<br/> CAATGCCACACCAAAAGATCTCTTCTCTCTTGCATGGGCTTGCTACCACAATGGTT<br/> CCTCTAGGTACACCAACCTCGCCACAGATGCGCCGTGTGGAATGTCTCACGCGGA<br/> GCTCAAAGACCTTGTTGAGGACTTTTGCACTTTACGACAATTCTGCGGGTTTTATG<br/> CGAAAACCTTGCTACGTAACCGGACGACAGCAGAACAAACCACCAGCGAATTGGG<br/> CAAGGAAAGGATTCCAGGATGAGTCAAAATTTGCAGCTTTTCGATTTCTTTAATGC<br/> GGTGTCAAGTGA CT CGGCCCCAAA</p> |                    |

## M5. Eredmények a saját LYSV full genom primerekkel nyert szekvenciaadatok

M26. táblázat: PotyAS3 minta LYSV HC-Pro – P3 fehérjét kódoló régió szekvenciaadatai saját fejlesztésű LYSV primerkészlet felhasználásával, 50 °C-os PCR protokollal, 5'-3' irányban

|                  |               |
|------------------|---------------|
| Minta neve       | PotyAS3 (23A) |
| Vírusfaj         | LYSV          |
| Szenz primer     | LYSV2 (FOR)   |
| Antiszenz primer | LYSV2 (REV)   |
| Protokoll        | 50 °C         |

GATCTATAATCCAACAGCGACTATGCGAATCACGTTGTTAGACACAACCCAAATG  
GTTTCGAGAAAGCTGGCTACTGGACGACTGATAGTATCAACAACTTTGAGACATA  
TAGGGAGAATCTGAAGGGTGAGAAAGTGCATGCACATAAGATCACAGAAGAGTG  
CGTGAGCCGCGATGAAAAGAAATTTGTTTACAGTTGCTCATGTGTTACACATGAG  
GATGGAAGTGCTATGGAATCACGTGTAATATTACCAACGAAGAATCATCTCGTAA  
TTGGTAACTCAGGCGAGCCTAAATATATCGATTTACCAACTGAGTCTGAACTGAC  
GTTGTACATAGCGAAAGAGGGATATTGTTACATCAACATTTTTCTTGCAATGTTAG  
TCAATGTGCGTGAGTCACAGGCAAAAACATTTACAAAAATGGTTTCGCGATGTATT  
AGTAAATAAACTTGGCAAATGGCCAACTATGATGGATGTTGCAACAGCATGTAGC  
TTGTTGACCGTGTTCTATCCGGATACGATAACAGCTGAATTGCCTCGAATTTTAGT  
GGATCATAACTGCAAGAGTATGCATGTCATTGATTCGTATGGTTTCGCTAGACACA  
GGATTTTCATATTTTGAAGGCCAACCCAGTTAATCAGATACTACATTTTGCKAGCAC  
GGATCTAAAATCTGATTTTAAAACATTACCTGTTG

M27. táblázat: PotyAS3 minta LYSV HC-Pro – P3 fehérjét kódoló régió szekvenciaadatai saját fejlesztésű LYSV primerkészlet felhasználásával, 65 > 48 °C-os td-PCR protokollal, 5'-3' irányban

|                  |               |
|------------------|---------------|
| Minta neve       | PotyAS3 (23A) |
| Vírusfaj         | LYSV          |
| Szenz primer     | LYSV2 (FOR)   |
| Antiszenz primer | LYSV2 (REV)   |
| Protokoll        | 65 > 48 °C    |

TGTGCTTTGCCTTTTAATCTGGAGCGTTGAGTTTGATTGGTCCAACATTTGCAAG  
 TACGACTTTGTAGTAGCAATGATTGAAGATAACCTTTGTGACAAAGGCTGCTCTCG  
 CCACTGCTCCTGTAAAGTGCTCCTGATAATTTTTTTTCGTACACTTCCCGTGACAAATC  
 GATTGTATTAATGAACCCCTCTTCTAGTAGTGACCTGTCGGTGAGGCTCTTGCTAT  
 ATACARACGATATGACATTACTGGCTAGAACCCTTGAATGCATAGTATGACTAGT  
 CTTTTCAAGCAATCTATGCAATGTTCCACGTTGTTTTCTAAGAATTGCATTTGATC  
 TTGTAAACTATTAGAAACTGGAATTCTTTGCGCTAGGGTTTTCAATAGCGCCATGA  
 TTTGCGTGATGTCTCTATCTCGGTGAATCCAAAAAGATATGCTCTTTTCAAATGAC  
 TCATTGCTAAGCATAGCACGCATTATTGCTGGTGATAAACTGATAAACTAAGG  
 TGAAAGGCTCCTGCTCCACTATTTGGCGGAAGCGCTTTGGTTTATAAAATACTCGTG  
 ATGAGCATATATAGCGTGCTAGTAGTCATATCAAGCTTTGGGGCCACATCAACGT  
 ATAGAATGTCATTCGTTCTGCCCCCAACATGGTAATGTTTTAAATCAGATTTTAAA  
 TCCGTGCTCGCAAAATGAATATCTGATTAAGTGTGTTTGCCTTCAAAATATGAAAT  
 CCTGTGTCTAGCGAATCATACAATCATTGACATGCATACTCTTGCACTTATGATCC  
 ACTAAAAATTCAAGGCATTCRGTGTAATCGAACCGGATAAA

M28. táblázat: PotyAS3 minta LYSV CI fehérje kódoló régió szekvenciaadatai saját fejlesztésű LYSV primerkészlet felhasználásával, 48 °C-os PCR protokollal, 5'-3' irányban

|                  |               |
|------------------|---------------|
| Minta neve       | PotyAS3 (23A) |
| Vírusfaj         | LYSV          |
| Szenz primer     | LYSV4 (FOR)   |
| Antiszenz primer | LYSV4 (REV)   |
| Protokoll        | 48 °C         |

AKSGGGAGATWAAMTTCTTATTTTACGTGGCAGTTATAATGAAGTCGACCAACTA  
AGCAAAGTCTGATGGATCGGAAGTTCAAGGTCTCAAAAGTTGATGGGCGAACTA  
TGAAAAGTGGAAAGATTGAAATAATAACAGAGGGTACACCTACCAACAAGCATT  
TCATAGTGGCAACGAATATAATTGAAAATGGAGTAACGCTTGATGTGGATGTGGT  
GGTGGACTTCGCGACGAAAGTTGTGCCAGAGCTTGATGAGGATGCGCATATGATC  
CGGTACAATAAAAAAGAGCATATCATATGGTGAGCGCATACAGCGAATGGGACGT  
GTTGGACGTCATAAGCGCGGAACGGTTTTAAAGATTGGTGAGACGGAAAAGGCTA  
GCTGGCGCGTCCCGCCGTGTATTGCAACAGAAGCTGCGTTCTATTGCTTTGCTTAT  
GGATTACCTGTAATCTCTGATGGAGTATCCACAAGCATACTTGAAAAGTGTACAG  
TGCCGCAAGCGAGAACGATGATGCAATTTGAGTTGAGCATATATTTTCATGTTCCAT  
TTCGTGAAACATGATGGTAGTATGCACCCAGCCATTCACGATCGCTTAAAGCAAT  
ACAAAGTGGTGACTCTGAAATTGTTTTGAATAAAACAGCTATTCCACWCAGGGG  
ATTAACCACTTGGCCTACAGTCGAAGAGATGAARCGGCACGGTTGTTCTATAAAY  
CAACCAGACKATGTGAGACTACCTTTTCTTYATAAAGGATGTTCCGGATAAATTAT  
ATGGCGATCTCCATGAASTATTAAAAARACATACGGCGATGCTTGCTTTTCGRAAG  
ATCCKARGSATAAGTGC

M29. táblázat: PotyAS3 minta LYSV CI fehérje kódoló régió szekvenciaadatai saját fejlesztésű LYSV primerkészlet felhasználásával, 60 > 45 °C-os PCR protokollal, 5'-3' irányban

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |               |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| Minta neve                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | PotyAS3 (23A) |
| Vírusfaj                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | LYSV          |
| Szenz primer                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | LYSV4 (FOR)   |
| Antiszenz primer                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | LYSV4 (REV)   |
| Protokoll                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 60 > 45 °C    |
| AYGKKTMMMAAWWTGGGTTTGTAAATTGAGCATCGTCACCATGTATTTTCATAGGC<br>ATGTTTTGAATCGTGTGCTTCGCGGAATCGAAGTTTCTGTCTTTGCCTATAATTCTT<br>TCCTTGATAATCCATGGGTTCCCTCCAATTTGCCTTTTACATATTCATATATCATTAG<br>GATTCCGCCGACAACGTGACTCCTGCGAGTACTATGTCTTTAATGATTATACTTT<br>TATTCCAACGACCTTTCAATCCAAGGTGATTGCTCATCTCATTCTCAGACTGGTAC<br>ATCATACATTCTAAGGCCCCATAATCAATTAATGCGTCCTCCGTCATTCTCGGCGT<br>TCTAATGTTGTTGAATTCAAGCAACTGACTTTTGGCATTTTGAATTACACTCAAAT<br>TTTCAGTTGTATAGTCCTGCATGTGTCTAGCTCGAATGGCATTTCGTTATTGTAGTG<br>AGAGCATAGTTGAAGGTTGAACAAGAGCTAGATGTCACATTCGCAAAATATGCTT<br>TCTTCTGTAGCTCACTCTCGTATAGTTTATCAAGTATCTTGATTGTTTCGCTGGATGG<br>ATGCTGGATCAGTTTGTAAACGTGTATGCGATTTTGCTAGCACTTATCCCTCGGATC<br>CTTCCGAAGCAAGCATCCCCGCTATGCTTCTTTAATACTTCATGGAGATCGCCATA<br>TAATTTATCCGGAACATCCTTTATGAAGAAAGGTAGTCTCACATCGTCTGGTTGGT<br>TTATAGAACAACCGTGCCGCTTCATCTCTTCGACTGTAGGCCAAGTGGTTAATCCC<br>CTGTGTGGAATAGCTGTTTTATTCAAAACAATTTTCAGAGTCACGCAGTTTGTATT<br>GCTTTTAAGCGATCGTTGAAWGGSTGGGTGCATACTACCCATCATGTTTCACGAA<br>AWGGAAMATGAAATATATGCTCAACTCAAATTGCATCWTCGTTCTCGCTTGCGGT<br>ACTGTACAGTTTTTCAGTAATGCTTGTGAATACTCCMTCATASATAMCARGWAACC<br>CAWAGCAAACAYTAGACGSAGYTTTCYGTGGWATAACACGGCGGSACGCGCCMR<br>CTTAKCCTTTCCCGTCTCACCAKTCTTTASAACCC |               |

M30. táblázat: PotyAS3 minta LYSV köpenyfehérjefehérje kódoló régió szekvenciaadatai saját fejlesztésű LYSV primerkészlet felhasználásával, 60 > 45 °C-os PCR protokollal, 5'-3' irányban

|                  |               |
|------------------|---------------|
| Minta neve       | PotyAS3 (23A) |
| Vírusfaj         | LYSV          |
| Szenz primer     | LYSV8 (FOR)   |
| Antiszenz primer | LYSV8 (REV)   |
| Protokoll        | 50 °C         |

GAWTTTTYCTTTTWMGCCCTGTTTGTTGACAYGCGCAACCAACTCTACGCCAAATA  
 ATGGCGCATTTTTTCAGCACTTGCGGAGGCTTATATTGAGATGAGGAATTCAGAGC  
 AGGCTTACATGCCACGRTATGGATTACAAAGAAACCTAACAGACATGGGTCTCGC  
 ACGTTATGCATTTGACTTCTATGAAGTTACATCAAGAACACCAGTTAGAGCGCGC  
 GAGGCTCACGCACAAATGAAAGCAGCGGCCTTACGTAATTCGAAGCCAAAGCTGT  
 TTGGATTAGACGGTAACGTCACAACCATGGATGAGGACACGGAGAGGCACACAG  
 CGCATGATGTGAATGCACGGATGCACCATCTTGATGGTGCACATATGCAGTGATG  
 CTTTCGGTTAGCAACCGGTTATGGGCTTCCATCTAAAAAGTCCCGAGTGCCAAACTC  
 GTATTTTTGGCTAGKGTAKKGAAACTATAATTCACTCGTTCAAGGCAGTTTCTACT  
 TTAAGGATGACTKGGRAATTAKWASCTCCCAAKGCCGGTCACAGTGGTGATCACC  
 AARAGTCAACACTTGGTTTGGAGTTGATCGTCKGAAATCTATCCGGAGWACGGTT  
 TTGTAAAGAAGGTGGATTTAATTTTTAGGGATAGTAAGTCTGAAACCATAWTGGT  
 GTATAASCASCCRAATTTTAAAAACCCCCMCCTTTACCCTACARKGGAGTGCTAC  
 TTTAAAGACTASCTAGGATTGAGACCRAAMTCTCRCGGGCTGGRTGGCCAGWAKT  
 GATCACTCARTGATCAGGKGACTACTTTAMRSTCAKTTGGAACCCCGRAATAYCC  
 TAYCCTTACCAAACCCRAAGTTTTAATTTACGGGSGWASCGGGGTWCAMCAYCTT  
 AA

M31. táblázat: PotyAS3 minta LYSV köpenyfehérjefehérje kódoló régió szekvenciaadatai saját fejlesztésű LYSV primerkészlet felhasználásával, 65 > 48 °C-os PCR protokollal, 5'-3' irányban

|                  |               |
|------------------|---------------|
| Minta neve       | PotyAS3 (23A) |
| Vírusfaj         | LYSV          |
| Szenz primer     | LYSV8 (FOR)   |
| Antiszenz primer | LYSV8 (REV)   |
| Protokoll        | 65 > 48 °C    |

AWKKAGTCTTTTACGCCTGTTGTTGAGCAYGCGCAGCCAACTCTACGMCAAATAA  
TGRCGCACTTTYTCAGCACTYGCGGAGGCTTATATTGAGATGAGGAATTCRGAGC  
AGGCTTACATGCCACGRTATGGATTACAAAGAAACCTAACAGACATGGGTCTCGC  
ACGTTATGCATTTGACTTCTATGAAGTYACATCAAGAACACCAGTTAGAGCGCGC  
GAGGCTCACGCACAAATGAAAGCAGCGGCCTTACGTAATTCRAAGCCAAAGCTGT  
TTGGATTAGACGGTAACGTCACAACCATGGATGAGGACACGGAGAGGCACACAG  
CGCATGAYGTGAATGCACGGATGCACCATCTTGATGGTGACATATGCAGTGATG  
CTTCGGTTAGCAACCGGTTATGGGCTTCCATCTAAAAAGTCCCGAGTGCCAAACTC  
GTATTTTTGGCTAGKGWAGKGAAACTATAATTCCTCGTTCAAGGCAGTTTCTAC  
TTTAAGGATGACTTGGRAATTAGWASCTCCCAAKGCCGGYCACAGTGGTGATCAC  
CAARAGTCAACACTTGGTTTGRAGTTGATCGYCTGAARATCTATCCGRAGTACGGT  
TTTGTAARAAGGTGRATTTAATTTTTAGGGATAGTAAGYCTGAACCATAWTGGT  
GTATAASCAGCCCGAATTTTAAAAMCCCCACCTTTACCCTACARTGGAGYGCTAC  
TTTAAAGACTAYCTAGGATTGAAACCGAWMTCTCACGTGCTGACRTGCCCAGTAK  
TTGATCACTCAGWGATCRGGTGACTAYTTTACASTCAAGTTGGAAMCCCGAATAY  
CCTAYCCTTACCTAATATCRAAGTTTTATTASKGGKGAAGCGTGYTCAMCCMCCT  
TATAAACYTTTGAATATWAGATCRAGCTGTTTCGTCYTGAG

## M6. Vizsgált minták fertőzöttségét mutató táblázat

M32. táblázat: A HaPoty, HaCarla, HaAllexi és M4 primerpárokkal vizsgált 45 minta vírusfertőzöttsége

| Minta neve | Származási ország | Potyvirus        | Carlavirus | Allexivirus |
|------------|-------------------|------------------|------------|-------------|
| 1A         | Franciaország     | -                | GCLV*      | GarV-X*     |
| 1B         | Franciaország     | SYSV             | GCLV       | +           |
| 2A         | Franciaország     | SYSV             | GCLV       | +           |
| 4A         | Csehország        | OYDV, SYSV       | SLV        | +           |
| 6A         | Franciaország     | SYSV             | GCLV       | +           |
| 7A         | Spanyolország     | OYDV             | -          | GarV-D*     |
| 7B         | Spanyolország     | OYDV             | -          | -           |
| 8A         | Spanyolország     | LYSV, OYDV       | -          | +           |
| 8B         | Spanyolország     | LYSV, OYDV       | -          | +           |
| 9A         | Kína              | LYSV, OYSV, SYSV | SLV        | GarV-B*     |
| 9B         | Kína              | LYSV, OYDV       | SLV        | +           |
| 10A        | Kína              | LYSV, OYDV       | SLV        | +           |
| 10B        | Kína              | LYSV, OYDV       | SLV        | +           |
| 11A        | Magyarország      | SYSV             | -          | GarV-D*     |
| 11B        | Magyarország      | SYSV             | -          | +           |
| 16A        | Ausztria          | -                | -          | GarV-D*     |
| 17A        | Románia           | -                | SLV*       | -           |
| 17B        | Románia           | -                | SLV*       | -           |
| 19A        | Magyarország      | SYSV             | SLV*       | GarV-D*     |
| 22A        | Magyarország      | OYDV             | GCLV       | +           |
| 23A        | Magyarország      | LYSV*            | GCLV*      | GarV-B*     |
| 26A        | Magyarország      | -                | -          | +           |
| 28A        | Magyarország      | OYDV             | -          | +           |
| 29B        | Magyarország      | SYSV             | -          | +           |
| 32A        | Magyarország      | LYSV, OYDV       | -          | GarV-D*     |
| 34B        | Magyarország      | LYSV, OYDV, SYSV | -          | GarV-D*     |
| 35B        | Magyarország      | LYSV, OYDV       | -          | +           |

|      |              |            |       |         |
|------|--------------|------------|-------|---------|
| 37A  | Magyarország | LYSV       | GCLV  | +       |
| 39A  | Magyarország | LYSV, OYDV | GCLV  | +       |
| 39B  | Magyarország | LYSV, OYDV | GCLV  | +       |
| 40A  | Magyarország | -          | -     | +       |
| 41A  | Hollandia    | -          | ?     | ?       |
| 41B  | Hollandia    | LYSV, OYDV | ?     | ?       |
| 42A  | Hollandia    | -          | ?     | ?       |
| 42B  | Hollandia    | -          | ?     | ?       |
| 43A  | Magyarország | -          | GCLV* | GarV-D* |
| 43B  | Magyarország | -          | GCLV* | GarV-D* |
| 81/2 | Magyarország | -          | -     | GarV-X* |
| 81/3 | Magyarország | -          | -     | +       |
| 81/4 | Magyarország | -          | -     | +       |
| BAJA | Magyarország | -          | -     | GarV-D* |
| 48A  | Magyarország | LYSV       | -     | +       |
| 49A  | Magyarország | LYSV       | -     | GarV-X* |
| 50A  | Magyarország | LYSV       | -     | +       |
| 51A  | Magyarország | LYSV       | -     | +       |

Megjegyzés: a + jellel jelölt minták esetében a nemzetség jelenlétét meg tudtuk erősíteni, azonban a fajsztípus meghatározást nem tudtuk végezni az alkalmazott módszerrel, a – jellel jelölt minták esetében a minta adott vírusfajra vagy nemzetségre negatív volt, a ? jellel jelölt mintákat adott nemzetségre nem vizsgáltuk, a \* jellel jelölt minták esetében szekvenciaanalízist is végeztünk.

## M7. Gupta- és Yoshida-féle primerek optimalizációja

M33. táblázat: A Gupta- és Yoshida-féle primerkészlet optimalizálása a KP258216 referencia izolátum szekvenciaadatai alapján

| Primer neve      | Indítószekvencia és a végrehajtott változtatások               | Forrás                        |
|------------------|----------------------------------------------------------------|-------------------------------|
| LYSV P3 F        | GTT TGA TGA GTG TCA TTG TTT                                    | (GUPTA et al., 2017)          |
|                  | GTT TGA TGA <b>ATG</b> TCA <b>CTG</b> TTT                      | optimalizált KP258216 alapján |
| LYSV P3 R        | CTT GCC AGT GCT ATT CTT TTG                                    | (GUPTA et al., 2017)          |
|                  | <b>TTT GTC TGC GTT</b> ATT <b>CCT</b> TTG                      | optimalizált KP258216 alapján |
| LYSV 5' F        | CTG TTC TGA ACC TTT CCA TAG CC                                 | (GUPTA et al., 2017)          |
|                  | CT <b>A</b> TTC TG <b>G</b> ACC TT <b>A</b> CC <b>G</b> TAG CC | optimalizált KP258216 alapján |
| LYSV 5'R         | CCT CAT CAC AAT CGT GCT CCT T                                  | (GUPTA et al., 2017)          |
|                  | CCT <b>CGT CGC AGT</b> CGT <b>GTT</b> CCT T                    | optimalizált KP258216 alapján |
| LYSV P1 F        | ATC TCA ACA CAA CTT ATG CAA                                    | (GUPTA et al., 2017)          |
|                  | ATC TCA <b>AAA CCC ACT TAT GCA</b>                             | optimalizált KP258216 alapján |
| LYSV P1 R        | GCA CAC AAC GAC CGT CCA ATC T                                  | (GUPTA et al., 2017)          |
|                  | GCA <b>CGC</b> AAC GAC CGT CCA ATC T                           | optimalizált KP258216 alapján |
| LYSV HC-Pro F    | ACC AGA TCC GTC TTT GGT CA                                     | (GUPTA et al., 2017)          |
|                  | ACC AGA TCC GTC TTT <b>SGT</b> CA                              | optimalizált KP258216 alapján |
| LYSV HC-Pro R    | CTT CGT ATA GCG RAC RAC TTC                                    | (GUPTA et al., 2017)          |
|                  | CCT CGT <b>CGC AGT CGT GTT CCT T</b>                           | optimalizált KP258216 alapján |
| LYSV CI F        | GCC TTT CGA CAA GCT AAA TGA C                                  | (GUPTA et al., 2017)          |
|                  | GCC <b>ATT TGA</b> CAA <b>GTT GAA CAA</b> C                    | optimalizált KP258216 alapján |
| LYSV CI R        | GGT GTY GCT GAA ACY TTR AG                                     | (GUPTA et al., 2017)          |
|                  | GG <b>C GTC</b> GCT GAG <b>ACT TTA</b> AG                      | optimalizált KP258216 alapján |
| LYSV NIa F       | AAA TTG TAC GAA AGT GAG TTG                                    | (GUPTA et al., 2017)          |
|                  | AAG <b>TTA TAT GAG</b> AGT GAG <b>TTA</b>                      | optimalizált KP258216 alapján |
| LYSV NIa R       | CAT CCA ATC CTT GTT ACC TG                                     | (GUPTA et al., 2017)          |
|                  | <b>ATA CAT CCA GTC CTT GTG GCC TGA</b>                         | optimalizált KP258216 alapján |
| LYSV N1b F       | TGT TGG GAT GGT ATC ACA CT                                     | (GUPTA et al., 2017)          |
|                  | TG <b>C</b> TGG GAT GG <b>A</b> ATC ACA AT                     | optimalizált KP258216 alapján |
| LYSV N1b R       | CCC ATG TAT GCT AGT CTG TG                                     | (GUPTA et al., 2017)          |
|                  | <b>CTC GTT TAA ATT TGT TTG</b> TG                              | optimalizált KP258216 alapján |
| LYSV CP FULL F   | GCT GGT GAG GAG ATT GAT G                                      | (GUPTA et al., 2017)          |
|                  | G <b>C</b> G <b>G</b> C G <b>A</b> C GAA <b>CTA</b> GAT G      | optimalizált KP258216 alapján |
| LYSV CP FULL R   | CTG CAT ATG CGC ACC ATC                                        | (GUPTA et al., 2017)          |
|                  | CTG CAT ATG <b>TGC</b> ACC ATC                                 | optimalizált KP258216 alapján |
| LYSV 3' F        | GCA CAC AGC ACA TGA CGT G                                      | (GUPTA et al., 2017)          |
|                  | GCA CAC AGC ACA TGA CGT G                                      | változatlanul hagyva          |
| LYSV 3' R        | CTC ACG CAC AAA TGA AAG CAG                                    | (GUPTA et al., 2017)          |
|                  | CTC ACG CAC AAA TGA AAG CAG                                    | változatlanul hagyva          |
| LYSV P1 – yshd F | AAT CTC AAC ACA ACT TAT RC                                     | (YOSHIDA et al., 2012)        |
|                  | AAT CTC AAC ACA ACT TAT RC                                     | változatlanul hagyva          |
| LYSV P1 – yshd R | AGT ACG TTG CCT GCT CTG TAG                                    | (YOSHIDA et al., 2012)        |
|                  | AGT ACG TTG CCT GCT CTG TAG                                    | változatlanul hagyva          |

## M8. Vizsgált szakirodalmi allexivírus primerek

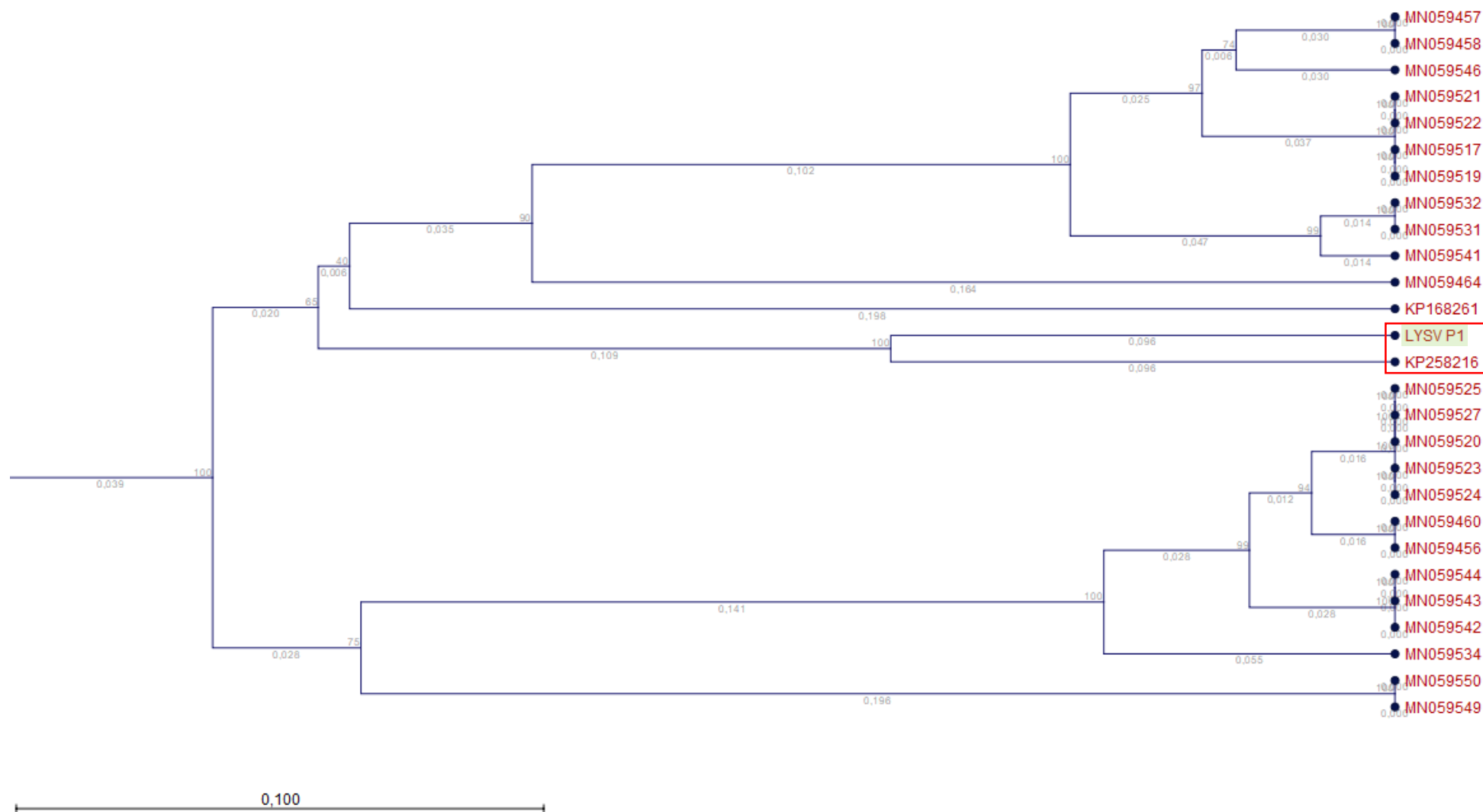
M34. táblázat: A fajspecifikus Allexivirus primerek kiválasztása során vizsgált primerek

|    | Vírus       | Primer helye | Szekvencia (5' - > 3')                                         | Idézett referencia izolátum(ok)                         | Amplikon hossza | Hivatkozás                       |
|----|-------------|--------------|----------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|-----------------|----------------------------------|
| 1  | Allexivirus | For Rev      | CTACCACAAYGGNTCVTC<br>CACNGCGTTRAAGAARTC                       | -                                                       | 230 bp          | (OLIVEIRA <i>et al.</i> , 2014)  |
| 2  | Allexivirus | For Rev      | GACGACGGYGCACTACTC<br>YGTGAATCGTGATGATCC                       | KF530328                                                | -               | (OLIVEIRA <i>et al.</i> , 2014)  |
| 3  | Allexivirus | For Rev      | RCTGAGACAATYYGTGG<br>CAAAGCATCGGCCRTAGCG                       | -                                                       | -               | (OLIVEIRA <i>et al.</i> , 2014)  |
| 4  | Allexivirus | For Rev      | CYGCTAAGCTATATGCTGAARGG<br>TGTTTCAARGTAAGTTTATAGYAATATCAACA    | -                                                       | 183-192 bp      | (DOVAS <i>et al.</i> , 2001a)    |
| 5  | Allexivirus | For Rev      | ATAGGATCCCATATGAACGCACCTGTTGAC<br>GTAACCTGAATTCTAGAGGAATCATC   | -                                                       | -               | (HELGUERA <i>et al.</i> , 1997)  |
| 6  | Allexivirus | For Rev      | TGGRCTGTGCTACCACAAYGG<br>CCYTCAGCATATAGCTTAGC                  | -                                                       | 750 bp          | (CHEN <i>et al.</i> , 2004)      |
| 7  | Allexivirus | For Rev      | CAYTCHATGAAYGCBAARATGTC<br>CCYTCAGCATATAGCTTAGC                | -                                                       | 456 bp          | (FIDAN <i>et al.</i> , 2012)     |
| 8  | Allexivirus | For Rev      | CAYTCHATGAAYGCBAARATGTC<br>GGCTTATTYTGWCTAGYYTTACG             | -                                                       | 281 bp          | (NAM <i>et al.</i> , 2015)       |
| 9  | GarV-A      | For Rev      | TGGAGACCCTTTCCAAGGCA<br>CTCATCCGCGAATGGTGGTT                   | -                                                       | 417 bp          | (GAWANDE <i>et al.</i> , 2015)   |
| 10 | GarV-A      | For Rev      | GACGGCTGTGCAAAAGCTTT<br>TGCATGCGTTTAATGAACAC                   | KM588079,<br>KP835205                                   | 936 bp          | (GAWANDE <i>et al.</i> , 2015)   |
| 11 | GarV-A      | For Rev      | CCATATGAACAATCCTGTTGATCC<br>GGGATCCTT AGAACGTGATCATTGGAG       | -                                                       | -               | (LU <i>et al.</i> , 2008)        |
| 12 | GarV-A      | For Rev      | CCCAAGCTTACTGGAAGGGTGAATTAGAT<br>CCCAAGCTTAGGATATTAAAGTCTTGAGG | AB10300                                                 | 800 bp          | (MELO <i>et al.</i> , 2004)      |
| 13 | GarV-A      | For Rev      | TGTCTCGCGCTCCTACATCAGAA<br>TCTGGGGACAATAGTTGTTGCAAGGT          | AB010300.1,<br>AF478197.1,<br>AB010300.1,<br>KF632716.1 | 1330 bp         | (BEREDA <i>et al.</i> , 2017)    |
| 14 | GarV-A      | For Rev      | ATGTCGAATCCAACCTCAGTCG<br>AGACCATGTTGGTGCGCG                   | JX628786.1 - JX628790.1                                 | 444 bp          | (CHODORSKA <i>et al.</i> , 2014) |
| 15 | GarV-A      | For Rev      | ACATCTTATGCCGCCCTTCT<br>GGTGCCTAGTCTCATCGTT                    | -                                                       | 482 bp          | (DA SILVA <i>et al.</i> , 2019)  |

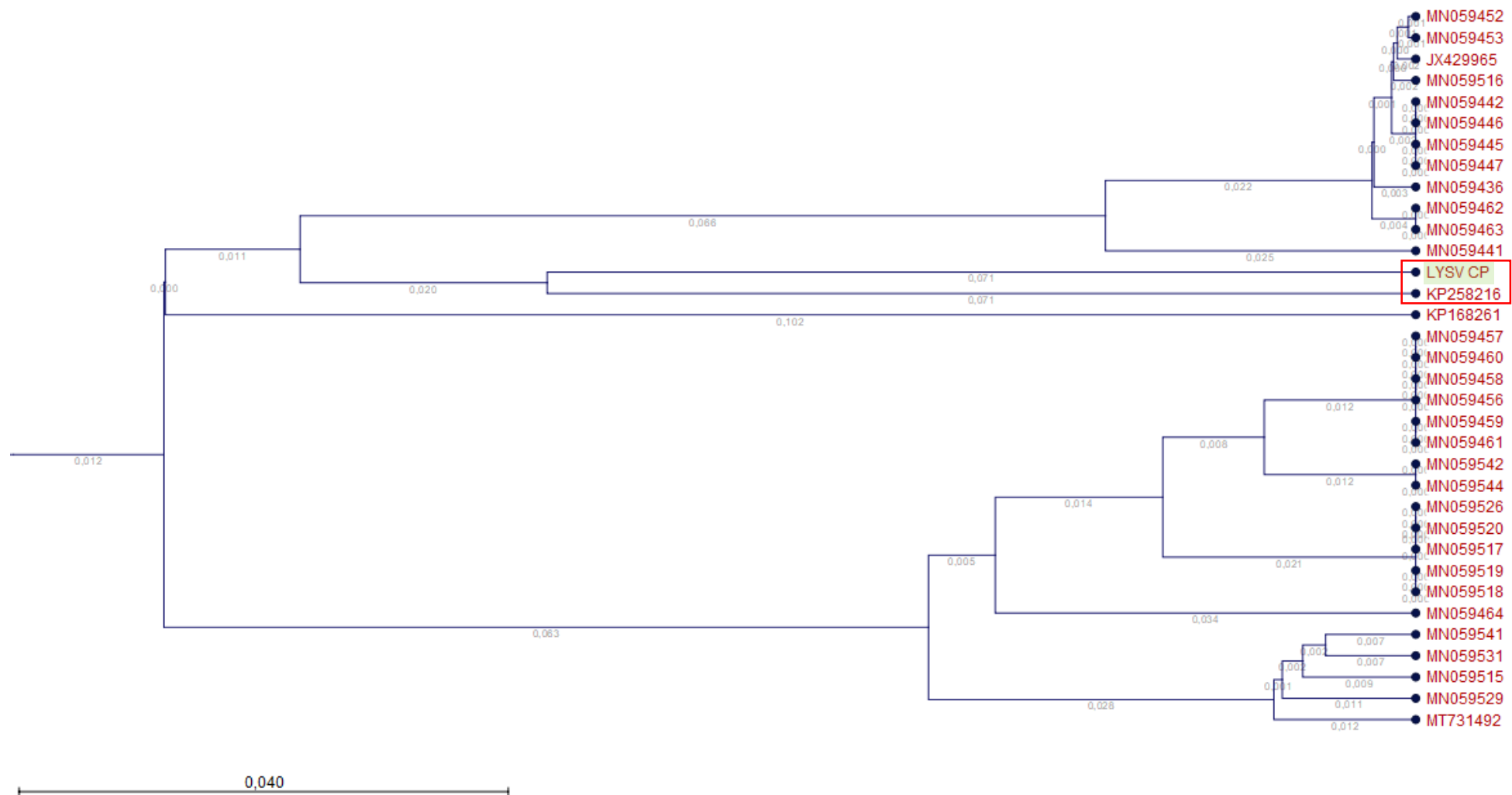
|    |        |         |                                                               |                                                                                              |         |                                    |
|----|--------|---------|---------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|---------|------------------------------------|
| 16 | GarV-B | For Rev | GCAGAATAARCCCCCYTC<br>RAAGGGTTTATTCTGTG                       | -                                                                                            | -       | (OLIVEIRA <i>et al.</i> , 2014)    |
| 17 | GarV-B | For Rev | CCATATGGGAGACAGGTCACAAGG<br>GGGATCCCTAAAATGTGAGCATGAGCGG      | -                                                                                            | -       | (LU <i>et al.</i> , 2008)          |
| 18 | GarV-B | For Rev | TGACGGGCAAACAGCAGAATAA<br>ATATAGCTTAGCGGGTCCTTC               | JX561094.1,<br>KC117180.1 -<br>KC117182.1,<br>KC517076.1                                     | 576 bp  | (CHODORSKA <i>et al.</i> , 2014)   |
| 19 | GarV-B | For Rev | CCAAGCTTTTAAATTTACTGGCTTAGA<br>CCAAGCTTTATGCATTTCTGGGTCAAGA   | GVU89243                                                                                     | 800 bp  | (MELO <i>et al.</i> , 2004)        |
| 20 | GarV-B | For Rev | TTGTGTTAAGTTTGGAYTTGGGTTGA<br>TGATATCAACAGCATGGGTGTCTT        | KM379144.1,<br>JQ899448.1, JQ899447.1,<br>JN019814.1, AB010302.1                             | 1216 bp | (BEREDA <i>et al.</i> , 2017)      |
| 21 | GarV-B | For Rev | ACTTCGCCTACATGCCTGG<br>CCTGTGATTGACGGTGTGGT                   | -                                                                                            | 700 bp  | (DA SILVA <i>et al.</i> , 2019)    |
| 22 | GarV-C | For Rev | CCATGGGTGGAGACAGCCTATCTG<br>CCATGGAACGTTAACATGAGAGGC          | -                                                                                            | 780 bp  | (FAYAD-ANDRE <i>et al.</i> , 2011) |
| 23 | GarV-C | For Rev | AGTGATTTGSAMCCATAYCAAGC<br>TAGTAATATCAACAAGCATGGGTGT          | JQ899448.1,<br>AF519572.1,<br>AB010303.1, JN019815.1                                         | 1557 bp | (BEREDA <i>et al.</i> , 2017)      |
| 24 | GarV-C | For Rev | CCCAAGCTTCATCTACAACAACAAAGGCG<br>CCCAAGCTTATAAGGTGCATGATTGTGG | AB10302                                                                                      | 800 bp  | (MELO <i>et al.</i> , 2004)        |
| 25 | GarV-C | For Rev | TTGCTACCACAATGGTTCCTC<br>TACTGGCACGAGTTGGGAAT                 | JX628791.1, KC491199.1                                                                       | 679 bp  | (CHODORSKA <i>et al.</i> , 2014)   |
| 26 | GarV-C | For Rev | CCATATGAGTGGAGACAGCCTATC<br>GGGATCCTCAAAACGTTAACATGAGAGG      | -                                                                                            | -       | (LU <i>et al.</i> , 2008)          |
| 27 | GarV-C | For Rev | CATTTGCGGCGAACAATGGT<br>TTGAGTTTTTGTCTCTTGAGTTGTG             | -                                                                                            | 671 bp  | (DA SILVA <i>et al.</i> , 2019)    |
| 28 | GarV-D | For Rev | CCATGGATGAACAAGGAAACACG<br>CCATGGAGAATGTGATCATTGGAGG          | -                                                                                            | 753 bp  | (FAYAD-ANDRE <i>et al.</i> , 2011) |
| 29 | GarV-D | For Rev | AATCTACGATGATGGTACCTTT<br>TTCACGTCCAGAACCCTGTA                | KF555653.1, U89243.1,<br>KF530328.1,<br>JX429971.1,<br>JX429969.1, JQ807994.1,<br>AJ292229.1 | 1337 bp | (BEREDA <i>et al.</i> , 2017)      |
| 30 | GarV-D | For Rev | CCAAGCTTAAGCAAGTGAAGAGTGAAG<br>CCAAGCTTTTTGGAAGAGGAGGTTGAGA   | AB10303                                                                                      | -       | (MELO <i>et al.</i> , 2004)        |
| 31 | GarV-D | For Rev | CCATATGAATGAACAAGGAAACAC<br>GGGATCCTCAGAATGTGATCATTGGAGG      | -                                                                                            | -       | (LU <i>et al.</i> , 2008)          |
| 32 | GarV-D | For Rev | AAGGAGCTACACCGAAGGAC<br>TAAAGTCGTGTGGATGCATCAGA               | KC491198.1                                                                                   | 456 bp  | (CHODORSKA <i>et al.</i> , 2014)   |
| 33 | GarV-D | For Rev | TTCCCAGCCTCTTCCCGG<br>ACTTTCATCGTCACTCCAGTC                   | -                                                                                            | 1064 bp | (DA SILVA <i>et al.</i> , 2019)    |

|    |                            |         |                                                        |                                     |        |                                        |
|----|----------------------------|---------|--------------------------------------------------------|-------------------------------------|--------|----------------------------------------|
| 34 | GarV-E                     | For Rev | TTGCTAGACCACCTCAGTATTGAGAA<br>TATTGGGCGTACATCGGTGACTGT | KC491196.1                          | 458 bp | (CHODORSKA <i>et al.</i> , 2014)       |
| 35 | GarV-E                     | For Rev | CCATATGAACGACCCACGAA<br>CGGATCCTTAGAATGTTATCATTGGGGG   | -                                   | -      | (LU <i>et al.</i> , 2008)              |
| 36 | GarV-X                     | For Rev | GATCGGAACCAAGGAATAA<br>GAGTGGAAACCATATTCGAG            | NC_001800                           | 661 bp | (PARK <i>et al.</i> , 2005)            |
| 36 | GarV-X                     | For Rev | GCGGTAATATCTGACACGCTCCA<br>ACGTTAGCTTCACTGGGGTAGAATAT  | KC491197                            | 386 bp | (CHODORSKA <i>et al.</i> , 2014)       |
| 37 | GarV-X                     | For Rev | CCATATGGGCGATCGGAACCAAG<br>GGGATCCTTAGAATGTGAGCATGAGGG | -                                   | -      | (LU <i>et al.</i> , 2008)              |
| 38 | GarV-X                     | For Rev | GATCGGAACCAAGGAATAA<br>GAGTGGAAACCATATTCGAG            | NC_001800                           | 661 bp | (PARK <i>et al.</i> , 2005)            |
| 39 | GarV-X                     | For Rev | GCCAGAGTTCGCGAGTTCTT<br>CAAAGGTAGTTGACACGCTTGA         | -                                   | 900 bp | (DA SILVA <i>et al.</i> , 2019)        |
| 40 | ShVX                       | For Rev | ATTTAGGGGTGAAGGTCTGT<br>GAGTTTTGAGGTCGTTGG             | M97264                              | 912 bp | (PEREZ-EGUSQUIZA <i>et al.</i> , 2009) |
| 41 | ShVX                       | For Rev | ACCGAAATCACAGTTAACTCCTTTGG<br>TCTACGGTTGTCGATTTTGTGCGT | JX310755.1, JX310755.1,<br>M97264.1 | 800 bp | (BEREDA <i>et al.</i> , 2017)          |
| 42 | ShVX                       | For Rev | ACCGAAATCACAGTTAACTCCTTTGG<br>TCTACGGTTGTCGATTTTGTGCGT | -                                   | -      | (CHODORSKA <i>et al.</i> , 2014)       |
| 43 | GarMbFV                    | For Rev | ATGAACGACCCTGTTGACC<br>TCAGAACGTAATCATGGGAG            | X98991.1                            | 721 bp | (BEREDA <i>et al.</i> , 2017)          |
| 44 | GarMbFV                    | For Rev | ATGTCAGGTTCCACAAGT<br>TCAGAACGTAATCATGGGA              | X98991, I38892                      | 723 bp | (PARK <i>et al.</i> , 2005)            |
| 45 | GarMbFV                    | For Rev | CCATGGACGACCCTGTTGACCCAA<br>CCATGGAGAACGTAATCATGGGAG   | -                                   | 762 bp | (FAYAD-ANDRE <i>et al.</i> , 2011)     |
| 46 | GarMbFV                    | For Rev | ATGTCAGGTTCCACAAGT<br>TCAGAACGTAATCATGGGA              | X98991, I38892                      | 723 bp | (PARK <i>et al.</i> , 2005)            |
| 47 | GarV-X,<br>GarV-E,<br>ShVX | For Rev | GCCTTCTGAAAATGACTTAG<br>CTAGGATTGCTGTTGGG              | -                                   | 550 bp | (OLIVEIRA <i>et al.</i> , 2014)        |

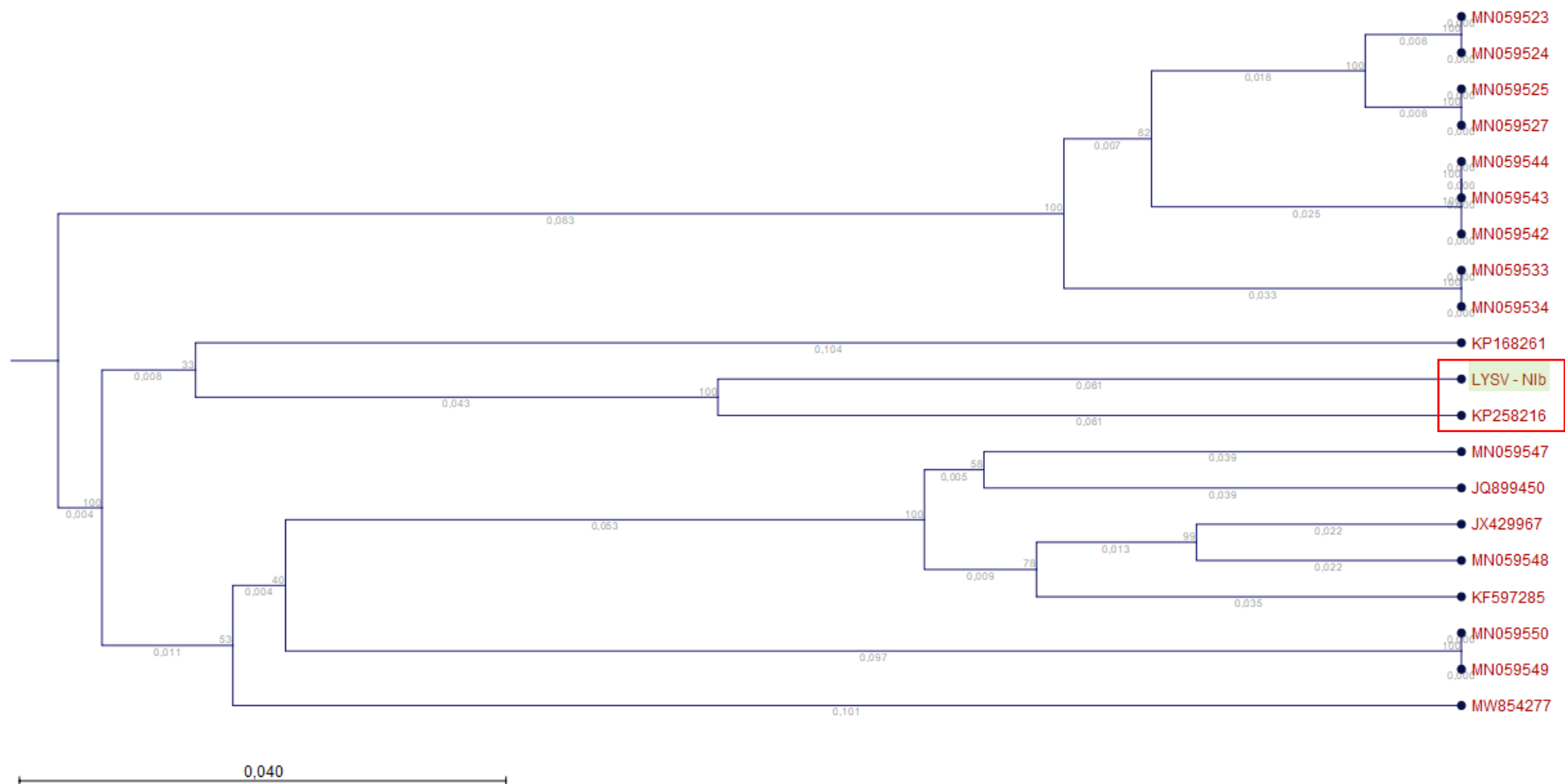
## M9. A 23A (PotyAS3) LYSV izolátum szekvenciaadataival elért eredmények



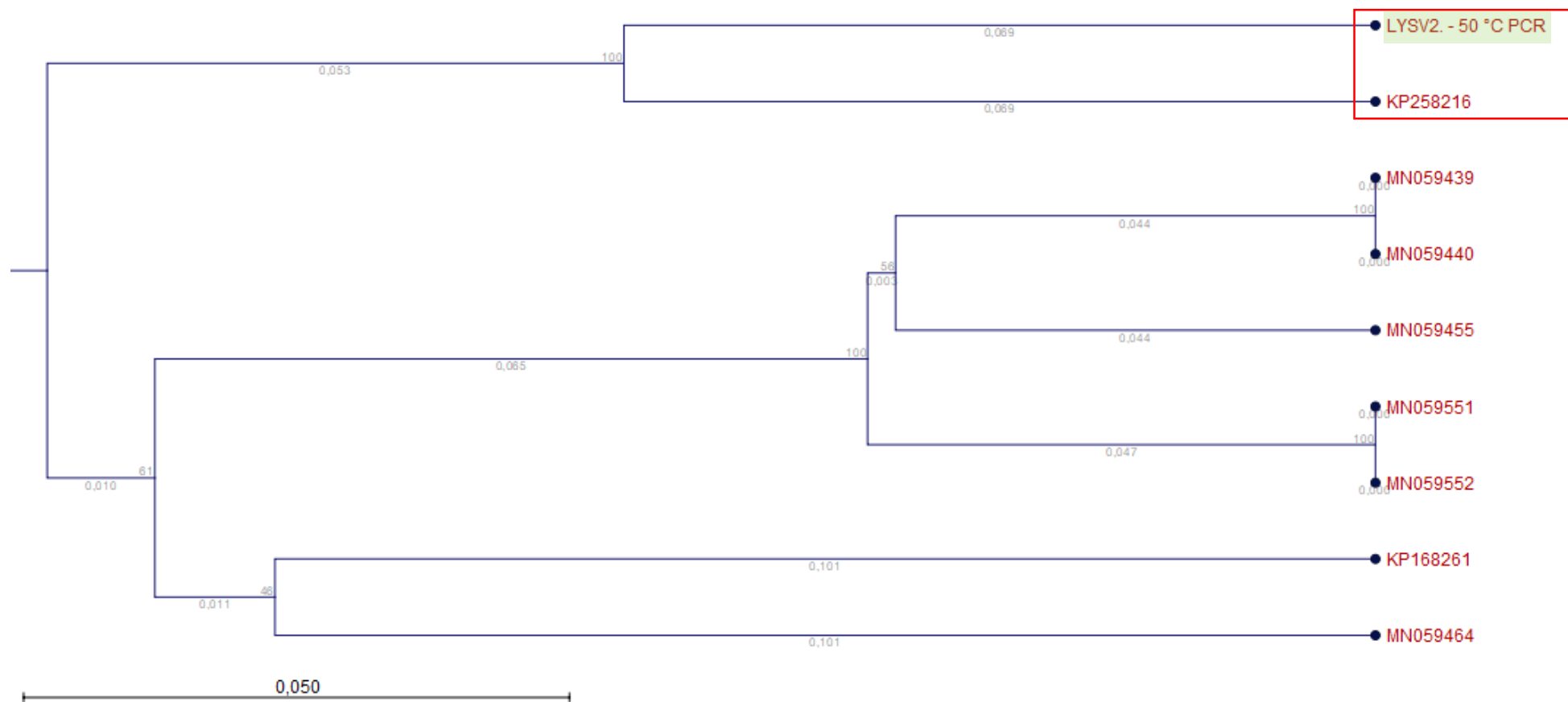
M1. ábra: PotyAS3 mintából, a LYSV P1 - yshd F és R primerpárral, 50 °C anellációs hőmérsékletű PCR protokollal kimutatott LYSV izolátum rokonsági viszonyai P1 fehérjét kódoló régió alapján (1000 ismétléses bootstrap analízis, UPGMA módszerrel, filogenetikai törzsfa részlet)



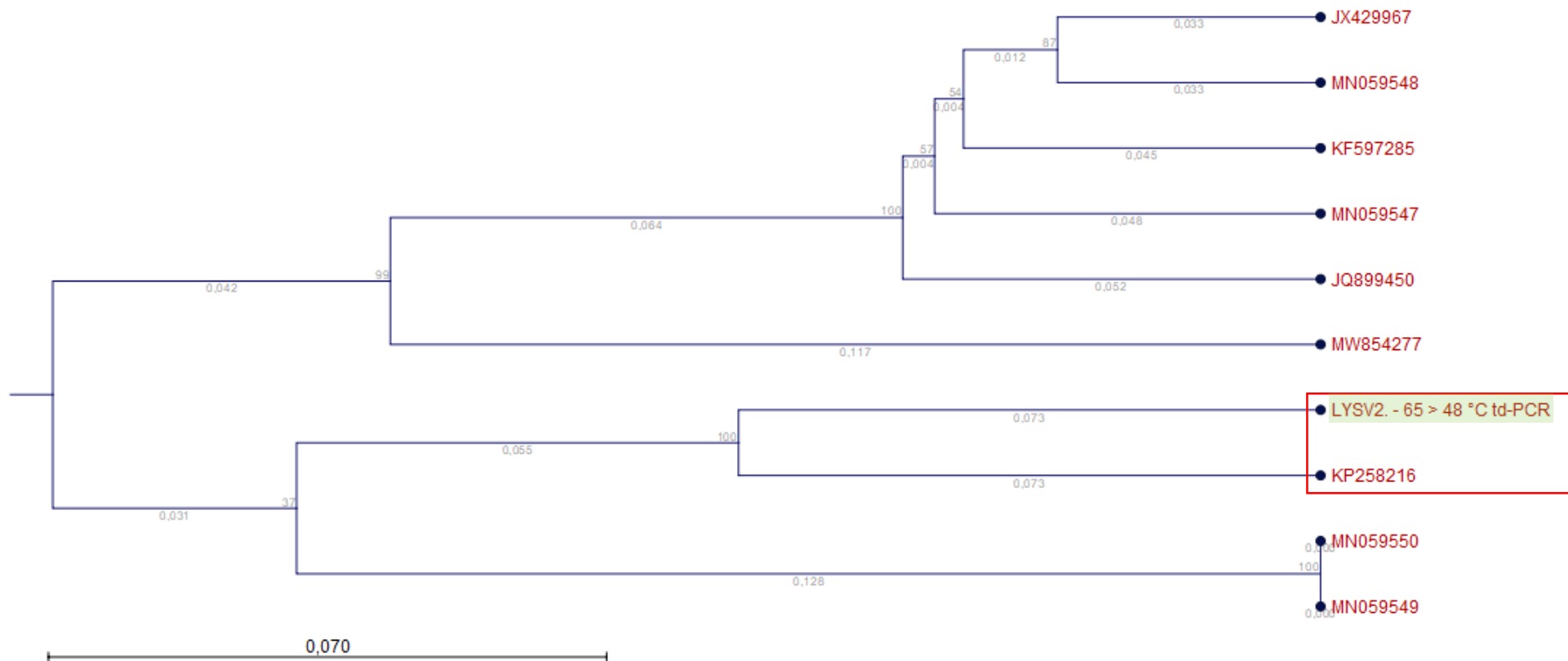
M2. ábra: PotyAS3 mintából, a LYSV CP F és LYSV CP R primerpárral, 55 °C anellációs hőmérsékletű td-PCR protokollal kimutatott LYSV izolátum rokonsági viszonyai CP fehérjét kódoló régió alapján (1000 ismétléses bootstrap analízis, UPGMA módszerrel, filogenetikai törzsfá részlet)



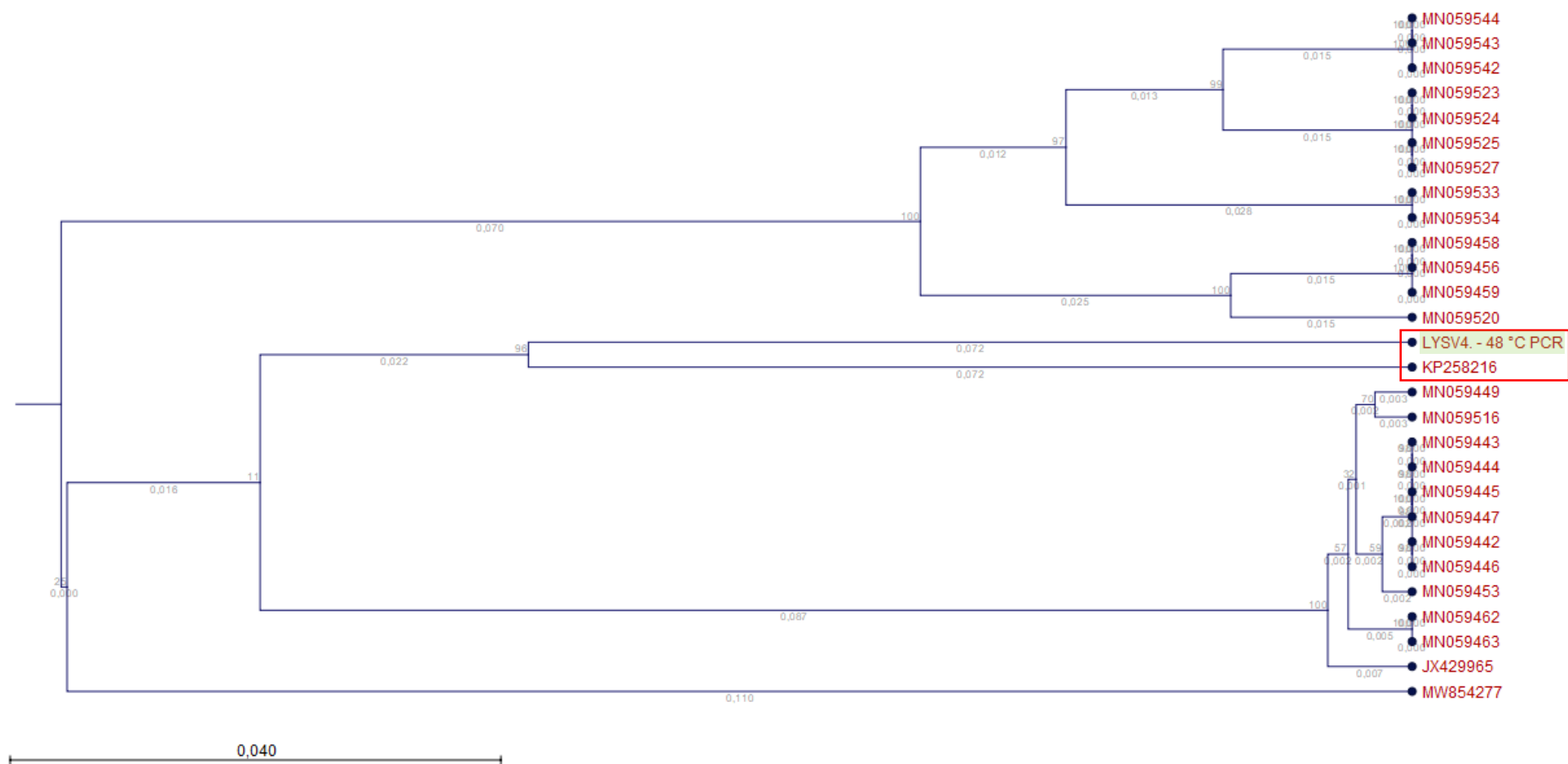
M3. ábra: PotyAS3 mintából, a LYSV Nib F és LYSV Nib R primerpárral, 52 > 40 °C anellációs hőmérsékletű td-PCR protokollal kimutatott LYSV izolátum rokonsági viszonyai Nib fehérjét kódoló régió alapján (1000 ismétléses bootstrap analízis, UPGMA módszerrel, filogenetikai törzsfa részlet)



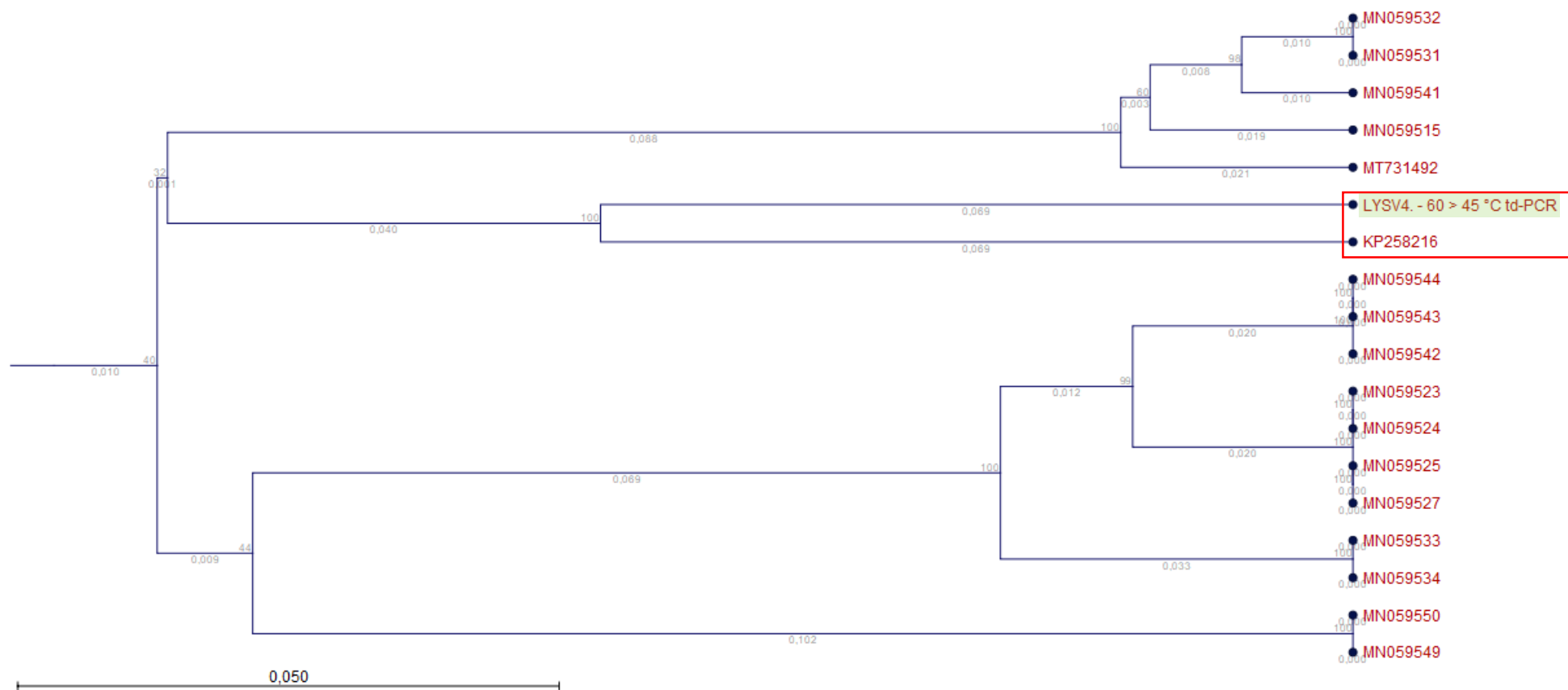
M4. ábra: PotyAS3 mintából, a LYSV2 FOR és LYSV2 REV primerpárral, 50 °C-os anellációs hőmérsékletű PCR protokollal kimutatott LYSV izolátum rokonsági viszonyai CI fehérjét kódoló régió alapján (1000 ismétléses bootstrap analízis, UPGMA módszerrel, filogenetikai törzsfa részlet)



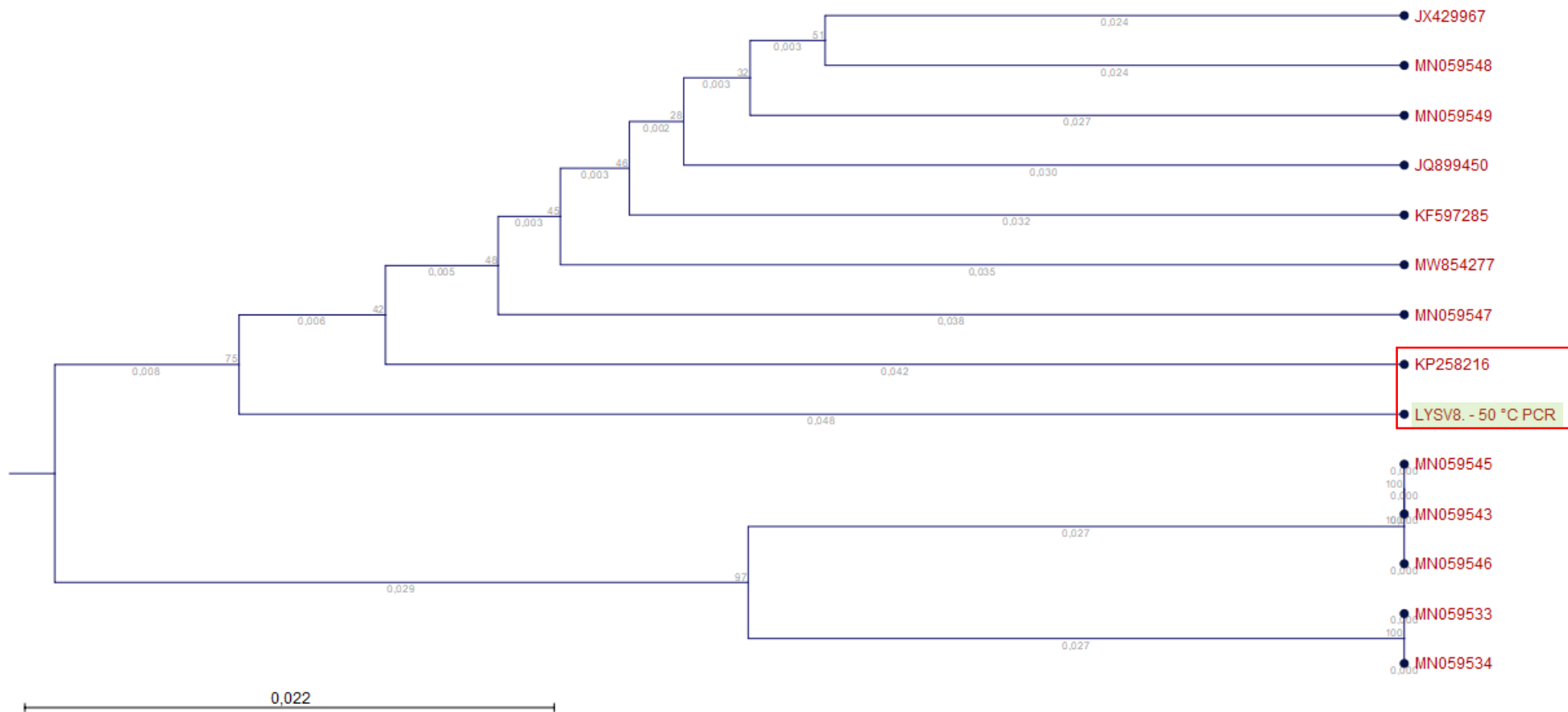
M5. ábra: PotyAS3 mintából, a LYSV2 FOR és LYSV2 REV primerpárral, 65 > 48 °C-os anellációs hőmérsékletű td-PCR protokollal kimutatott LYSV izolátum rokonsági viszonyai CI fehérjét kódoló régió alapján (1000 ismétléses bootstrap analízis, UPGMA módszerrel, filogenetikai törzsfa részlet)



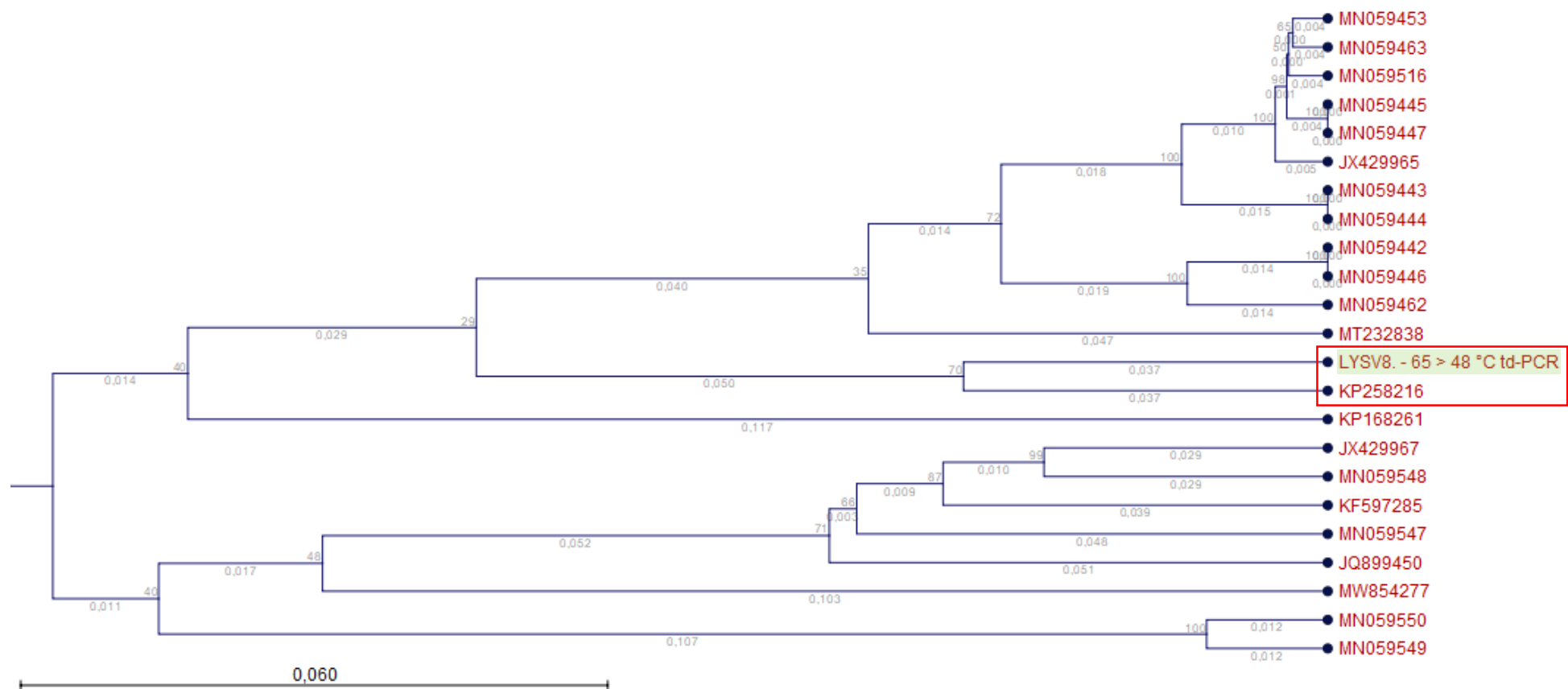
M6. ábra: PotyAS3 mintából, a LYSV4 FOR és LYSV4 REV primerpárral, 48 °C-os anellációs hőmérsékletű PCR protokollal kimutatott LYSV izolátum rokonsági viszonyai CI fehérjét kódoló régió alapján (1000 ismétléses bootstrap analízis, UPGMA módszerrel, filogenetikai törzsfa részlet)



M7. ábra: PotyAS3 mintából, a LYSV4 FOR és LYSV4 REV primerpárral, 60 > 45 °C-os anellációs hőmérsékletű td-PCR protokollal kimutatott LYSV izolátum rokonsági viszonyai CI fehérjét kódoló régió alapján (1000 ismétléses bootstrap analízis, UPGMA módszerrel, filogenetikai törzsfa részlet)



M8. ábra: PotyAS3 mintából, a LYSV8 FOR és LYSV8 REV primerpárral, 50 °C-os anellációs hőmérsékletű PCR protokollal kimutatott LYSV izolátum rokonsági viszonyai CP fehérjét kódoló régió alapján (1000 ismétléses bootstrap analízis, UPGMA módszerrel, filogenetikai törzsfa részlet)



M9. ábra: PotyAS3 mintából, a LYSV8 FOR és LYSV8 REV primerpárral, 65 > 48 °C-os anellációs hőmérsékletű td-PCR protokollal kimutatott LYSV izolátum rokonsági viszonyai CP fehérjét kódoló régió alapján (1000 ismétléses bootstrap analízis, UPGMA módszerrel, filogenetikai törzsfa részlet)

## 11. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetemet fejezem ki témavezetőmnek, DR. PALKOVICS LÁSZLÓ professzor úrnak, az MTA doktorának a közel hét éves belém fektetett munkáért, amelyet a mesterképzésem elejétől a doktori képzésem végéig kaptam tőle. Türelmére és támogatására mindig számíthattam, tapasztalatával és hasznos tanácsaival mindvégig segítette a munkámat.

Köszönetet mondok DR. ÁDÁM JÁNOSNAK, aki kezdetben témavezetőmként, majd mentoromként járult hozzá rendkívüli önzetlenséggel, jóindulattal és segítőkészséggel a molekuláris virológia tudományában való elmélyedésemhez. Hálásan köszönöm!

Köszönetet mondok DR. ÁGOSTON JÁNOSNAK a fokhagymamintákért, valamint a közös munkáért és a segítőkészségért, melyet irányomba tanúsított!

Köszönettel tartozom a Növénykórtani Tanszék valamennyi munkatársának, név szerint DR. HORVÁTHNÉ PETRÓCZY MARIETTÁNAK, DR. KARACS-VÉGH ANITÁNAK, DR. TÓTH ANNAMÁRIÁNAK, KOÓSNÉ DR. SZATHMÁRY ERZSÉBETNEK és DR. MARKÓ GÁBORNÁK.

Köszönöm kiváló barátomnak és kollégámnak, KÁROLY LÁSZLÓNAK a közös munkát, a támogatást és a fokhagymamintákat. További fokhagymamintákért mondok köszönetet HOVANECS-SÁNDOR VIKTÓRIÁNAK.

Köszönöm továbbá családomnak és barátaimnak, akik segítettek az utóbbi években, külön köszönetemet fejezem ki BORBÉLY LILLÁNAK és PÉTER DÁVIDNAK, akik emberi oldalról járultak hozzá az elmúlt évek nehézségeinek átvészeléséhez.