

DIPLOMADOLGOZAT

Mónos Gréta

2025



Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem

Szent István Campus

Növényvédelmi Intézet

Növényorvos mesterképzési szak

**Nagycsepely térségében található kukoricatábla viromjának
meghatározása, és a jelenlevő gyomnövények vírusrezervoár
szerepének vizsgálata**

Belső konzulens:	Dr. Dorner Zita egyetemi docens Dr. Várallyay Éva tudományos tanácsadó Dr. Jaksa-Czotter Nikoletta tudományos munkatárs
Belső konzulens intézete/tanszéke:	NVI Integrált Növényvédelmi Tanszék
Készítette:	Mónos Gréta
Neptunkód:	C6VYFH

Szent István Campus

2025

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés és célkitűzés	3
2. Szakirodalmi áttekintés	5
2.1. A kukorica jelentősége a világban	5
2.2. A kukorica jelentősége hazánkban	6
2.3. A vírusok általános jellemzése	8
2.3.1. A vírusok terjedése.....	9
2.3.2. A vírusok szaporodása	11
2.4. A növény védekező reakciója.....	12
2.5. Vírusok kimutatása, diagnosztikája	13
2.5.1. A nukleinsavak nukleotid sorrendjének meghatározása (szekvenálás)	15
2.6. Kukoricában jelentős vírusok	16
2.7. A gyomnövény fogalma, kártételi formája.....	18
2.7.1. Az Ujvárosi-féle életformarendszer	19
2.7.2. A gyomnövények kártétele	19
2.7.3. A kukorica gyomnövényzete	20
2.7.4. A kukorica gyomszabályozása.....	21
2.7.5. Vírusrezervoár gyomnövények	23
3. Anyag és módszer	25
3.1. Szántóföldi vizsgálatok – gyomfelvételezések.....	25
3.1.1. Posztemergens herbicides kezelés	26
3.2. Szántóföldi mintagyűjtés a laborvizsgálatokhoz	27
3.3. Laboratóriumi feldolgozás.....	28
3.3.1. Totál nukleinsav tisztítás (fenolos kivonás).....	28
3.3.2. RNS koncentráció mérés.....	31
3.3.3. Egyed pool-ok és hely pool-ok meghatározása	31
3.3.4. Minták DNáz kezelése	32
3.3.5. A hely pool-ok szekvenálása.....	33
3.3.6. A HTS bioinformatikai elemzése.....	33
3.3.7. cDNS szintézis	34
3.3.8. Vírus specifikus RT-PCR tesztek	35
3.3.9. PCR termék tisztítása	36
3.3.10. Ligálás, klónozás, transzformálás	36
3.3.11. Plazmid tisztítás baktériumtenyészetből	38

3.3.12. Tisztított plazmidok restrikciós emésztése	38
3.3.13. Sanger szekvenálás és szekvenciák elemzése	39
4. Eredmények és értékelésük	40
4.1. A gyomfelvételezések eredményei	40
4.1.1. Első gyomfelvételezés eredményei	41
4.1.2. Második gyomfelvételezés	41
4.1.3. Harmadik gyomfelvételezés	42
4.1.4. Negyedik gyomfelvételezés	42
4.2. A szántóföldi mintagyűjtés eredménye	43
4.3. A laborvizsgálatok eredményei	46
4.3.1. Totál nukleinsav tisztítás eredményei	46
4.3.2. A bioinformatikai elemzés eredménye	47
4.4. Vírusok visszaigazolása	50
4.4.1. cDNS szintézis a hely pool-okból	50
4.4.2. WSMV visszaigazolása PCR-rel a három hely pool-ból	50
4.4.3. WSMV visszaigazolása PCR-rel a 15 faj pool-ban	51
4.4.4. WSMV visszaigazolása PCR-rel az egyedi mintákban	52
4.4.5. PCR termék tisztítása	54
4.4.6. Klónozás és restrikciós emésztés	55
4.4.7. Filogenetikai elem	56
5. Következtetések és javaslatok	57
6. Összefoglalás	59
7. Irodalomjegyzék	61
8. Ábrák és táblázatok jegyzéke	67
9. Köszönetnyilvánítás	70

1. Bevezetés és célkitűzés

Az éghajlatváltozás növelte abiotikus és biotikus stresszek veszélyeztetik a növények termésmennyiségét és minőségét. A klímaváltozás különösen nagy jelentőséggel bír a kukorica (*Zea mays* L.) esetében mind az abiotikus, mind a biotikus stressztényezőket illetően, mivel a kukorica a világon termesztett legfontosabb haszonnövények egyike. Az abiotikus (környezeti) stressztényezők kukorica esetén okozta károk akár több, mint 60%-os, a biotikus (kórokozók, kártevők) tényezők pedig 30-40%-os termésveszteséget okozhatnak (Szigeti, 2018). A biotikus tényezők közül kiemelt szerepe van a vírusoknak, melyek nagy kockázatot jelentenek a mezőgazdaságban a termésmennyiség csökkenésére. Főleg a trópusi és szubtrópusi területeken optimálisak a feltételek a vírusok és vektoraik (levéltetvek) fennmaradásának, azonban a klímaváltozással már Európában is egyre kedvezőbbek a feltételek számukra (Sharma & Misra, 2011). Levéltetű fajok felmérésével foglalkozó kutatások szerint az éghajlatváltozás hatásaként az utóbbi 30 évben, több mint 20%-kal nőtt Európában a levéltetű fajok száma, és egyre nagyobb arányban jelennek meg a trópusi egzotikusnak számító fajok is (Hullé et al., 2010). A növényi vírusos betegségek mára a mezőgazdaság fő veszélyforrásává váltak. Napjainkban körülbelül 2000 szárazföldi növényt fertőző vírusfajt írtak le, melyek kultúrnövények széles skáláját fertőzik, ezzel számos nagy jelentőségű járványt és súlyos gazdasági károkat okozva (Tatineni & Hein, 2023, Rao & Reddy, 2020). A gabonaféléken nagy károkat okozó vírusok a kukoricát megbetegítő kukorica csíkosság vírus (maize streak virus -MSV, *Mastrevirus storeyi*), kukorica törpülés mozaik vírus (maize dwarf mosaic virus -MDMV, *Potyvirus zeae*), cukornád mozaik vírus (sugarcane mosaic virus -SCMV, *Potyvirus sacchari*) vagy a búzát és más gabonaféléket fertőző árpa sárga törpülés vírus (barley yellow dwarf virus -BYDV, *Luteovirus mavhordei*) vagy a búza csíkos mozaik vírus (wheat streak mosaic virus -WSMV, *Tritimovirus tritici*) is (Tatineni & Hein, 2023). Évről évre növekszik a vírusos betegségek, valamint az újonnan felbukkanó vírusok száma. Az éghajlatváltozás okozta szélsőséges időjárási tényezők (aszály, hőhullám, villámárvíz) egyre gyakoribbá válnak, és becslések szerint az extrém időjárási jelenségek mellett a jövőben 2-4 °C-os hőmérséklet növekedésre számíthatunk (Kemény et al., 2019). A globális felmelegedés hazánkat fokozott mértékben fogja érinteni, és át fogja formálni Magyarország agroökológiai potenciálját, megváltoztatva a vetési és betakarítási időpontokat is. Kukorica esetében a klímodellek szerint 2050-ig a vetésidő 9 nappal tolódik előre, a betakarítás pedig 17 nappal hamarabb fog bekövetkezni, termésveszteséget tekintve pedig 18%-os hozamcsökkenést jósolnak (Kemény et al., 2019). Az éghajlatváltozás befolyással lesz a vírusfertőzések lefolyására és terjedésére is,

mivel elősegíti a vírusvektorok elterjedését. Eddig főként Afrikában és a trópusi, szubtrópusi területeken problémát okozó vírusok, a változó éghajlatnak köszönhetően új területekre jutnak el, ezáltal új-gazda kórokozó kölcsönhatások és új patogén törzsek jelennek meg, melyek letörhetik a már meglévő rezisztenciát az egyes gazdanövényekben. Ezen tényezők a termesztett növényeken kívül az őshonos növényfajokat (erdőket) is fenyegetik, ezáltal nem csak az élelmiszerbiztonságra, de a biológiai sokféleségre is kockázatot jelentenek (Singh et al., 2023). A vírusok jelentőségét az is növeli, hogy a vírusfertőzésekkel szemben rendkívül nehéz a védekezés és viszonylag kevés eszköz áll rendelkezésre ellenük. Az integrált (IPM – Integrated Pest Management) növényvédelmi szemlélet során a megelőzésre helyezve a hangsúlyt, rezisztens/toleráns fajták alkalmazásával, a vektorszervezetek és alternatív gazdaszervezetek hatékony kezelésével tudjuk csökkenteni a vírusbetegségek által okozott gazdasági problémákat. Kémiai védekezés nem áll rendelkezésre ellenük, a fertőzött növényeket utólag már nem lehet kigyógyítani (Rao & Reddy, 2020).

Korábbi kutatásomban az abiotikus stresszek (vízhiánystressz, hőstressz) hatását tanulmányoztam kukoricán, mely során azt vizsgáltam, hogy a növényélettani folyamatok milyen összefüggésben vannak, és hogyan változnak az abiotikus stresszhatásokkal. A 2022-es év aszályos körülményeinek köszönhetően nem csak laboratóriumban, hanem szántóföldi körülmények között is jól tanulmányozható volt a szárazságstressz és hőstressz hatása a kukorica élettani folyamataira. Jelen kutatás során a biotikus stresszhatások (gyomnövények és vírusok) kukoricán okozott hatását vizsgálom, kiemelve a vírusrezervoár gyomok szerepét a vírusok fennmaradásában, terjesztésében. Célom, hogy a gazdálkodók számára is gyakorlati szempontból fontos eredményeket találjak, melyek elősegítik a gazdálkodás hatékonyságát és a termésbiztonság növelését. Ezeket a célokat a következő pontok által kívánom elérni:

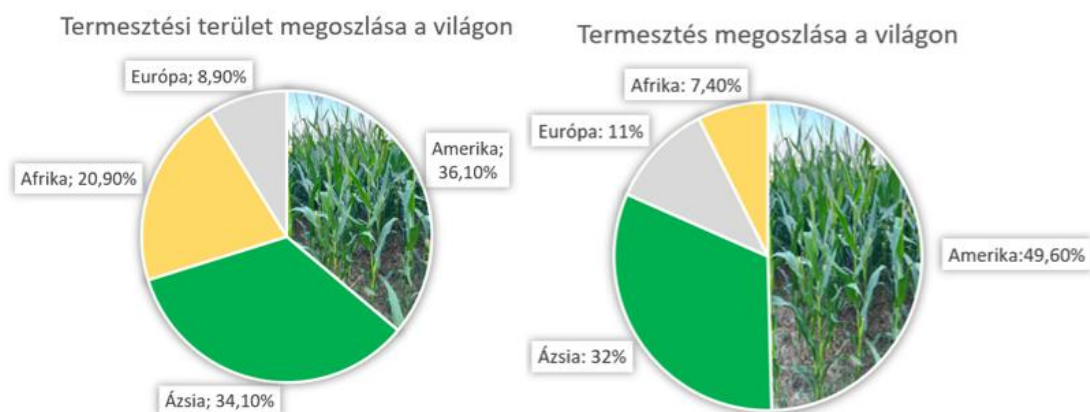
1. Lehetséges vírusrezervoár gyomfajok jelenlétének felvételezése egy Nagycsepely környékén levő kukoricatáblában, valamint a táblaszegélyeken.
2. Levélminták gyűjtése a vektorszervezetekkel fertőzött tüneteket mutató (szívogatásnyom, sárgulás) gyom és kukorica növényekből.
3. A mintázott növények viromjának meghatározása HTS-sel.

Jelen dolgozattal a klímaváltozás hatásaihoz és az ehhez való alkalmazkodás vizsgálataihoz kapcsolódó kutatásokat szeretném elősegíteni.

2. Szakirodalmi áttekintés

2.1. A kukorica jelentősége a világban

A búza és rizs 10.000 évvel ezelőtti domesztikációját a kukorica (*Zea mays* L.) körülbelül 9000 évvel ezelőtti Dél-Mexikóban/Közép-Amerikában történő domesztikációja követte. Az európaiak Amerikába jutásával az 1500-as évektől e növény hamarosan az egész világon elterjedté vált (Pepó & Sárvári, 2011), és azóta az éves 1 milliárd tonnát is meghaladó termeléssel a világ vezető gabonaféléi közé tartozik (Erenstein et al., 2022). Jelentősége kiemelkedő az élelmiszerbiztonságban, főleg a fejlődő országokban, hiszen ezen területeken a búzával és rizzsel együtt az élelmiszer kalória legalább 30%-át biztosítja. Főleg Afrika és Közép-Amerika egyes részein kiemelkedő a szerepe, ahol a kukorica egyedül a kalóriabevitel 20%-át teszi ki (Shiferaw et al., 2011). A világon körülbelül 197 millió hektáron termesztik, mellyel a 2. legnagyobb területen termesztett növény. A kukorica sokoldalú, több felhasználási lehetőséget magában foglaló növény, hasznosítása lehet tömegtakarmány, siló, keményítő, invertcukor, bioetanol (Pepó & Sárvári, 2011). Termesztése az egész világon, kb. 165 országban történik, melyből a következő nyolc ország dominál: az USA, Kína, Brazília, Argentína, Ukrajna, Indonézia, India és Mexikó. Ezen országok együttesen a világ kukorica termesztésének háromnegyedét adják a körülbelül 881 millió tonnás termelésükkel (Erenstein et al., 2022). A világon a kukorica termesztési területének 36,1%-a Amerikában, 34,1%-a Ázsiában, 20,9%-a Afrikában és 8,9%-a Európában található. Amerika a világ kukorica termesztésének körülbelül felét adja 49,6%-kal, melyet Ázsia követ 32%-kal, majd Európa 11%-kal, végül pedig Afrika 7,4%-kal (**1. ábra**).



1. ábra: A kukorica termesztési területének megoszlása (bal) és a termés megoszlása (jobb) a világon kontinensenként (Erenstein et al., 2022 alapján)

A kukorica a világon a 3. legnagyobb mennyiségben fogyasztott gabona a búza és a rizs után. Világszerte a fogyasztása évente 18,5 kg/fő/év, mely az éves 175 kg-os gabonafogyasztás 11%-át jelenti, de Afrika egyes országaiban a fogyasztás akár az 50-100 kg/fő/évet is elérheti. A humán élelmezésben betöltött szerepe mellett, kiemelkedő a takarmánycélú felhasználása is, azonban ipari energianövényként (bioetanol) sem elhanyagolható. A globális kukoricatermesztés több, mint felét takarmányozásra használják (Erenstein et al., 2022).

A kukorica C4-es fotoszintézisének köszönhetően számos területen elterjedt, így a trópusi, szubtrópusi és mérsékelt övben is megtalálható. Széleskörű elterjedése és változatos körülményekhez való alkalmazkodása (nedvesebb-szárazabb, alacsonyabb-magasabb fekvésű területek), különböző fajták kialakulásához és nemesítéséhez vezetett. Ezek alapján klímazónahatárok szerint csoportosíthatjuk az egyes területeken termesztett kukorica fajtákat, melyek eltérnek tenyészidejükben (pl. hosszú és rövid tenyészidejű, mérsékeltövi, trópusi fajták), és egyéb tulajdonságaikban pl. szárazságtűrés, biotikus stressz rezisztencia. Az éghajlatváltozással azonban megváltoznak az egyes területek termesztési kilátásai, például az északi és déli szélességi fokokon és magasabban fekvő területeken növekszik, a szubtrópusi/trópusi területeken viszont az abiotikus (szárazság, magas hőmérséklet) és biotikus (kórokozók, kártevők) stresszhatások növekedésével csökken a termeszthetőség esélye. A klímaváltozással új virulens kórokozók és kártevők jelennek meg eddig nem érintett területeken. Afrikában például az utóbbi 10 évben megjelent a kukorica letális nekrozis (maize lethal necrosis – MLN), valamint az őszi sereghernyó (*Spodoptera frugiperda*) inváziója, mely korábban Afrika több mint 40 országát érintette, 2018-ra már Ázsiára is áttért. Ezek a példák is jól mutatják, hogy a klímaváltozással a biotikus stresszhatások jelentősége egyre nőni fog, ami újabb kihívásokat jelent az abiotikus stresszhatások megoldása mellett (Erenstein et al., 2022).

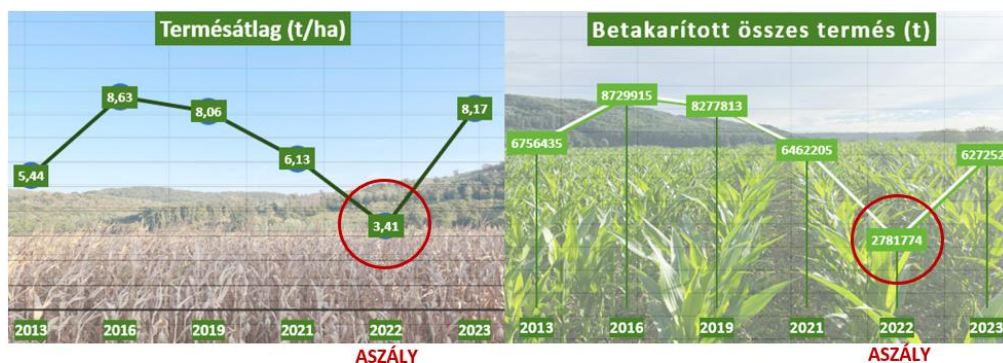
2.2. A kukorica jelentősége hazánkban

Hazánkban a kukorica az egyik legfontosabb termesztett növény a búza mellett. Felhasználását tekintve főleg takarmánycélú hasznosítjuk, hiszen 65-70%-os keményítőtartalma, 700-800 g/kg keményítőértéke és 8,5-9,5 MJ/kg szárazanyag tartalma miatt jelentős energiaszolgáltató szerepe van (Pepó & Sárvári, 2011). Hazánkban a legjelentősebb kukoricatermesztő régió a Dél-Dunántúl és az Észak-Alföld, mely területeken a termelők jóval magasabb termésátlagok produkálására képesek, mint az ország többi területén (Hingyi, 2005). Magyarországon a szántóterület nagysága 2023-ban 4.173.200 ha, a kukorica betakarított területe pedig 767.852 ha volt, ami körülbelül 18,5%-át teszi ki a szántóterületnek. A termőterület alakulása az utóbbi

10 évhez képest jelentős csökkenésen ment keresztül (**1. táblázat**), hiszen a 2010-es években a kukorica vetésterülete a szántóterület nagyjából 25%-át tette ki a körülbelül 1 millió ha-os vetésterületével (http1). A kukorica termésmennyiségét jelentősen befolyásolják a környezeti viszonyok. Hazánk környezeti és területi adottságai kiváló feltételeket biztosítanak a gabonatermesztés számára, de a klímaváltozás szélsőségei miatt erősen ingadozó terméshozamok alakulnak. Erre jó példa a 2004-es év, amikor nagyon kedvező környezeti viszonyok mellett hazánkban és Európa-szerte is rekordmennyiségű termést tudtak betakarítani. Ebben az évben hazánkban több, mint 8 millió tonna, a világon pedig 721 millió tonna kukoricát takarítottak be, ami 12%-kal több volt az azt megelőző 2003-as évhez képest (Hingyi, 2005). A másik szélsőséges példa a 2022-es év, mely során rendkívül aszályos nyár volt. Az ekkor fellépő szárazság és szélsőségesen magas hőmérséklet következményeként jelentős termés kiesés keletkezett (http1). A kukorica termesztése során a címerhányás, virágzás és megtermékenyülés időszaka miatt a legkritikusabb hónapok a július-augusztus (Pepó & Sárvári, 2011), ekkor a legfontosabb a megfelelő csapadék a növény számára, mely a 2022-es évben rendkívül kedvezőtlenül alakult. Ezt a termés kiesést a **2. ábra** is szemlélteti. Jól látható, hogy míg 2021-ben több mint 1 millió hektárt takarítottak be, amiről körülbelül 6,5 millió tonna termés származott, addig a 2022-es évben a betakarított terület mennyisége 816 ezer hektárra csökkent, a betakarított termés pedig nem érte el a 3 millió tonnát, és az előző évi 6 t/ha-os termésátlaghoz képest csak 3,5 t/ha-os termésátlagok lettek. Látható tehát, hogy hazánkban a kukoricatermesztés alakulása erősen változó a környezeti feltételek függvényében.

1. táblázat: Magyarország kukorica termelésének változása az egyes években (http1)

Az ország kukorica termelésének változása egyes években						
Év	2013	2016	2019	2021	2022	2023
Betakarított terület (ha)	1242605	1011563	1027592	1054566	816643	767852
Betakarított összes termés (t)	6756435	8729915	8277813	6462205	2781774	6272524
Termésátlag (t/ha)	5,44	8,63	8,06	6,13	3,41	8,17



2. ábra: A termésátlagok alakulása (bal) és a betakarított összes termés alakulása (jobb) 2013 és 2023 közötti években

2.3. A vírusok általános jellemzése

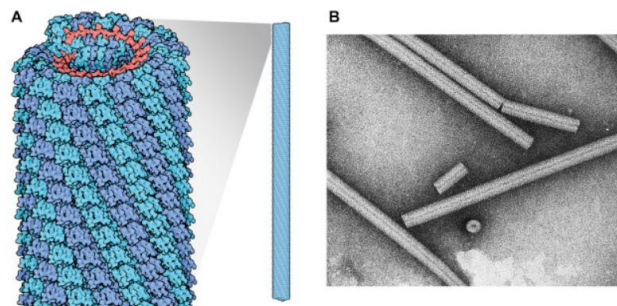
A növényeket számos kórokozó fertőzi, köztük az egyik legjelentősebb csoportot a vírusok alkotják. A vírusok tanulmányozása egészen az 1890-es évekre nyúlik vissza, a dohány mozaik vírus (tobacco mosaic virus – TMV, *Tobamovirus tabaci*) Ivanovszkij (1892) és Beijerinck (1898) általi felfedezéséig (Zaitlin & Mayer, 1998). Azóta már több, mint 2000 szárazföldi növényeket fertőző vírusfajt írtak le (Tatineni & Hein, 2023). A vírus elnevezés a latin *virus* – méreg szóból származik. A vírusok nem sejtes felépítésű sejtparaziták, csak a gazdasejtben képesek szaporodásra mivel saját anyagcserével nem rendelkeznek (Hull, 2014). Abban az esetben tekintünk gazdaságilag jelentősnek egy vírust, amikor az fertőzésével szignifikáns eltérést okoz a növény növekedésben, ezáltal a termés mennyiségben is (Hull, 2014). A vírusok által okozott tünetek széles skáláját találjuk meg (**3. ábra**), például okozhatnak elszíneződéseket, mozaikosodást, sárgulást, különböző mintázatokat (pl. gyűrű alak), nektrózt, rendellenes fejlődést, satnyulást, törpenövést, enációt, levélsodródást és floém nektrózt is (Khan & Dijkstra, 2006). A vírus növényben történő terjedését tekintve elkülöníthetünk lokális és szisztemikus fertőzést. Lokális, ha a vírus a fertőzés helyéről nem tud nagy távolságra elterjedni és csak a fertőzés helye körül láthatók elváltozások, mint például helyi nekrotikus tünetek megjelenése hiperszenzitív reakció esetén. Szisztemikus fertőzéskor a vírus a szállítószövetbe jutva az egész növényben elterjed, és az egész növényre kiterjedő tünetek észlelhetők, például törpenövés, levélméret csökkenés, klorofill tartalom csökkenése a levelekben.



3. ábra: Különböző vírustünetek: sharka vírus (Plum pox virus -PPV, *Potyvirus plumipoxi*) szilván (bal), paradicsom bronzfoltosság (Tomato spotted wilt virus -TSWV, *Orthotospovirus tomatomaculæ*) tünete paprikán (középen), bab közönséges mozaik vírus (Bean common mosaic virus -BCMV, *Potyvirus phaseovulgaris*) tünete babon (jobb) (Mónos Gréta, 2024)

A vírusok egy fehérjeburok által körülvett egy vagy több szegmensű nukleinsav molekulából épülnek fel (Hull, 2014). A nukleinsav lehet DNS (dezoxiribonukleinsav) vagy RNS (ribonukleinsav), mely lehet cirkuláris vagy lineáris, kétszálú (ds: double-stranded) vagy egyszálú (ss: single-stranded), mely utóbbi lehet pozitív, más néven sense (+) vagy negatív (-), antisense orientációjú, annak értelmében, hogy milyen polaritással kódol fehérjéket. A legtöbb

növényi vírus RNS örökítőanyaggal, ezen belül is egyszálú és sense RNS-sel (+ssRNS) rendelkezik. A növényi vírusok genom mérete változatos, például az RNS vírusok genom mérete átlagosan 2 kb-tól 32 kb-ig terjed (Lauber et al, 2013). Kis genom mérettel (9,7 kb) rendelkezik például a burgonya Y vírus (potato virus Y -PVY, *Potyvirus yituberosi*) (Scholtof et al, 2011), azonban majdnem 20 kb méretű genommal rendelkezik a citrus tristeza vírus -CTV (*Closterovirus tristeza*) (Folimonova, 2020). Elmondható, hogy az RNS vírusoknak általában kisebb a genom mérete, mint a DNS vírusoknak (Butkovic & González, 2022). A vírusok méretüket tekintve rendkívül kicsik, 20-300 nm-es tartományba esnek, ezért csak elektronmikroszkóppal láthatóak. Méretbeli eltéréseikre jó példa a TMV (4. ábra), mely 300 nm hosszúságú, míg a rozsnok mozaik vírus (brome mosaic virus -BMV, *Bromovirus BMV*) csak 25 nm átmérőjű. Alakjukat tekintve változatosak, felvehetnek helikális, pálcika, ikozaéderes és bacillus alakzatot is (http2).

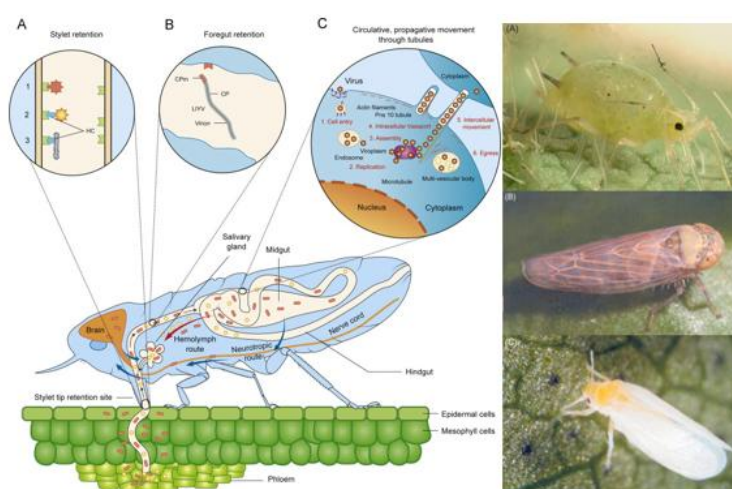


4. ábra: A helikális felépítésű TMV. (A) A Tobacco mosaic virus virion modellje az egymásba fonódó kapszid alegységekkel és a belső helikális RNS-sel. (B) A TMV negatív kontraszt elektronmikroszkópos felvétele (http3).

2.3.1. A vírusok terjedése

Annak érdekében, hogy a vírusok fennmaradjanak képesnek kell lenniük a növényről-növényre történő hatékony terjedésre. Terjedésük történhet mechanikailag (oltás, szemzés, sebzés, dugványozás, egyéb vegetatív szaporítószervekkel történő átvitel), szaporítóanyaggal (gumó, oltvány) vagy vektorszervezettel. A legtöbb növényi vírus a természetben gerinctelen vektorszervezetek által terjed, főként ízeltlábúak és fonálférgek törzsébe tartozó fajokkal, de lehetnek még vektorszervezeteik gombák és puhatestűek is. A vírusok legjelentősebb vektorai az ízeltlábúak törzsébe tartozó levéltetvek, tripszek és kabócák (Hull, 2014). Vannak vírusok melyek többféle vektorszervezettel terjedhetnek, például az uborka mozaik vírus (cucumber mosaic virus -CMV, *Cucumovirus CMV*), és vannak olyan vírusok is, melyek specifikusan csak egy vektorfajjal képesek terjedni, például az árpa sárga csíkos mozaik vírus (barley yellow striate mosaic virus -BYSMV, *Cytorhabdovirus hordei*) egyetlen kabóca vektora a *Laodelphax*

striatellus (Cao et. al, 2018). A rovar vektorok a növényi vírusokat alapvetően négy féle módon képesek terjeszteni: nem perzisztens, szemi-perzisztens, perzisztens cirkulatív és perzisztens propagatív módon (5. ábra). A nem perzisztens vírusokat a rovar a növény felszínhez közeli szövetéből az epidermiszből veszi fel, és a vírus csak a szájszerv felületére kerül, ezért stylet-borne vírusoknak is nevezik őket. A felvétel gyorsan történik és nincs inkubációs idő, vagyis azonnali vírusleadásra képes a vektor, de a fertőzőképességet egy idő után a vektor elveszti (csak addig képes a fertőzésre, amíg a szipókán megtalálhatók a vírusrészecskék). A nem perzisztens terjedésű vírusok általában mechanikailag is átvihetők. Perzisztens (cirkulatív) terjedés esetén a növény mélyebb szöveti rétegeiből (xilém, floém) kerül be a vírus a vektorszervezetbe, és a vírusok a rovaron belül az emésztőrendszerbe (előbél) és a nyálmirigyekbe kerülnek. Ebben az esetben van inkubációs idő, tehát a felvételt követően a vektor nem képes azonnal más növényt fertőzni a vírus leadásával. A fertőzőképesség a vektorban általában hosszú időn keresztül megmarad. Ezen vírusok általában mechanikailag nem terjeszthetők. Perzisztens-cirkulatív vírus esetén a vírus a hemolimfába kerül majd egy látens szakaszt követve, a nyálmirigyen keresztül jut a szájszervbe és onnan a következő táplálkozáskor jut a növényre, vagyis az új gazdaszervezetbe. Amennyiben a vírus replikálódik a vektorszervezetben és az utódba is átöröklődik úgy perzisztens-propagatív vírusról beszélünk. A szemi-perzisztens vírusok részben nem perzisztens, részben cirkulatív tulajdonságokkal rendelkeznek, mert a fertőzött növényből a vírusok felvételéhez hosszabb szívogatási időt igényelnek, azonban, ha a vektorba került a vírus, akkor már azonnal képes azt leadni (Whitfield et al., 2015).

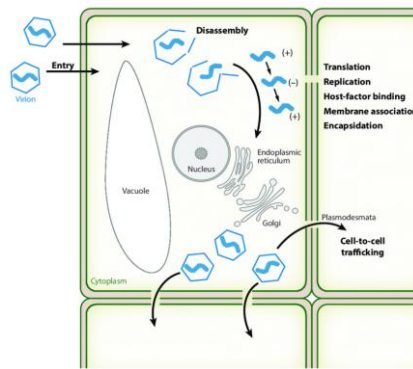


5. ábra: Bal: Vírus lokalizációs helyek rovar vektorban. A nem cirkulatív (nem perzisztens) vírusok a rovar szájszervében (A) vagy az előbélben (B) maradnak. A perzisztens, de nem propagatív vírusok általában a floémbe találhatók és a rovar közepbelébe és végbelébe kerülnek. A cirkulatív vírusok a hemolimfán keresztül jutnak a nyálmirigyekbe. A propagatív

vírusok főleg a középbél sejtjeiben replikálódnak (Whitfield & Rotenberg, 2015). Jobb: A leggyakoribb vektorszervezetek A: levéltetű (*Myzus persicae*), B: kabóca (*Circulifer tenellus*), C: liszteske (*Bemisia tabaci*) (Hull, 2014).

2.3.2. A vírusok szaporodása

A vírusok obligát sejtparaziták, hiszen a gazdasejt anyagcseréje nélkül nem képesek szaporodni, mivel nem rendelkeznek fehérjeszintetizáló és energiatermelő rendszerekkel (Taylor, 2014). Replikálódásukhoz a gazdasejtbe jutásukra van szükség. A vírusok gazdasejten kívüli, extracelluláris állapotát virionnak, a gazdasejten belüli intracelluláris replikálódó vírust vegetatív vírussnak nevezzük (Burrell et al., 2017). A vírusok növényi sejtbe jutásához a növényi sejtfal vagy kutikula sérülése szükséges, mely általában mechanikai úton sebzések miatt alakul ki. A fertőzési folyamatot 5 szakaszra (**6. ábra**) bonthatjuk, ezek az adszorpció, penetráció, dekapszidáció, eklipszis, maturáció, majd végül a kiszabadulás (Horváth, 1999). Az adszorpció során a virion általában vírusvektor segítségével eljut a sejthez. Az „életciklusuk” a virion vagy a genetikai állomány sejtbe való penetrációjával (pl. nukleinsav beinjektálás), bejutásával kezdődik. Ezt követően megtörténik a citoplazmában a vírus fehérjeburkának eltávolítása, a dekapszidáció („kicsomagolás”), ami egy speciális kapszidbontó enzimmal valósul meg. Ezzel a vírus nukleinsava hozzáférhetővé válik az enzimeknek. Ez után az eklipszis következik, ekkor a sejt közvetíti a vírusgenom expresszióját a gazdasejt transzkripció és transzláció apparátusa által, mely során a vírus nukleinsav információja alapján a sejt polimeráz enzimejei szintetizálják az új vírus elemeit. DNS vírusoknak a transzkripcióhoz a sejtmagba kell szállítódniuk, hogy hozzáférjenek a sejtfehérjékhez, melyekkel a DNS-ből mRNS-t tudnak előállítani. RNS vírusok transzlációja a citoplazmában történik, mely a vírus fehérjéinek előállítását eredményezi. A nukleinsav megsokszorozódása a pozitív szálú RNS vírusok esetén úgy zajlik, hogy a pozitív szálról egy negatív szál íródik át, majd erről nagy számban új pozitív szálak képződnek. Minden vírusnak legalább három fehérje képződését kell irányítania: ezek a replikáz, mely a nukleinsav másolásához kell, a köpenyfehérje, mely a vírus fehérjeburkát alkotja, és a mozgási fehérje, mely a vírus sejtről-sejtre terjedésében játszik szerepet. Az ötödik fázisban a maturáció („érés”) során a képződött vírus nukleinsavak és fehérjék összeállnak és létrejön a virion. A vírusok terjedhetnek a sejtek között a plazmodezmákon egyik-sejtről a másikra, valamint a szállítószövetbe bejutva az egész növényben szisztemikusan is képesek a terjedésre. Végül a létrejött vírus kiszabadul a sejtéből, és általában a sejt lízisével, pusztulásával kerül a külvilágba (D’Arcy, 2000).



6. ábra: Egy +ssRNS vírus életciklusa a növényi sejtben (http4).

2.4. A növény védekező reakciója

Az abiotikus és biotikus stressztényezőkre a növények különböző védekező mechanizmusokat fejlesztettek ki. Ez igaz a vírus okozta fertőzésekre is, melyek hatására számos molekuláris biológiai reakció indul meg a növényekben. Ilyen növényi válasz például a hiperszenzitív reakció (HR), a szisztémikus szerzett rezisztencia (SAR) és az RNS-interferencia is (Mandadi & Scholthof, 2013). A **hiperszenzitív reakcióval (HR)** a növény képes meggátolni a kórokozó terjedését azáltal, hogy megváltoztatja a sejtfa összetételét és fizikai tulajdonságait, valamint másodlagos anyagcsere termékeket szintetizál (például szalicilsav, jázmonsav). A hiperszenzitív reakció során a fertőzés helyén hirtelen nekrosis, elhalás következik be a szövetekben, ezzel a kórokozó terjedése gátolt a növényben. A **SAR szerzett rezisztencia**, mely egy korábbi indukáló fertőzés után biztosít széleskörű védeltséget a növény nem fertőzött („naiv”) részeiben. A korábbi fertőzés miatt az indukált rezisztenciával rendelkező növényi rész (pl. levél) fokozott készségi állapotban (priming) van. A később bekövetkező fertőzéskor a növény „emlékszik” az első fertőzésre (Király, 2004). Az első, indukáló fertőzésből fertőzött levelekből a fertőzés információja szignálmolekulákkal (szalicilsav -SA, jázmonsav -JA, metil-szalicilát -MeSA) a távolabbi, nem fertőzött levelekbe kerül, ami ezekben rezisztenciát vált ki (Ádám, 2016). Az **RNS-interferencián** alapuló géncsendesítés gyorsan és hatékonyan képes felismerni és lebontani a behatoló vírust. A fertőzés hatására a növény védekező rendszere indukálódik, mely során a vírus szekvenciájával megegyező kis RNS-ek keletkeznek. A vírus sejtben való sokszorozódásakor, a vírus örökítőanyagáról hosszú, kétszálú RNS-eket egy RNS bontó, daraboló enzim (DCL: Dicer-like enzim) felismeri, és kisebb darabokra bontja, így 21-25 nukleotid hosszúságú kétszálú, kis interferáló RNS-ek (siRNS: small interfering RNS) keletkeznek. Ezt követően az siRNS egyik szála beépül egy végrehajtó enzim-komplexbé (RISC: RNS-indukált csendesítő komplex) (http5). Ez a komplex aktiválódik amikor a kis RNS bekapcsolódik hozzá, és ettől kezdve felismeri az összes olyan RNS-t a sejtben, ami az enzim-

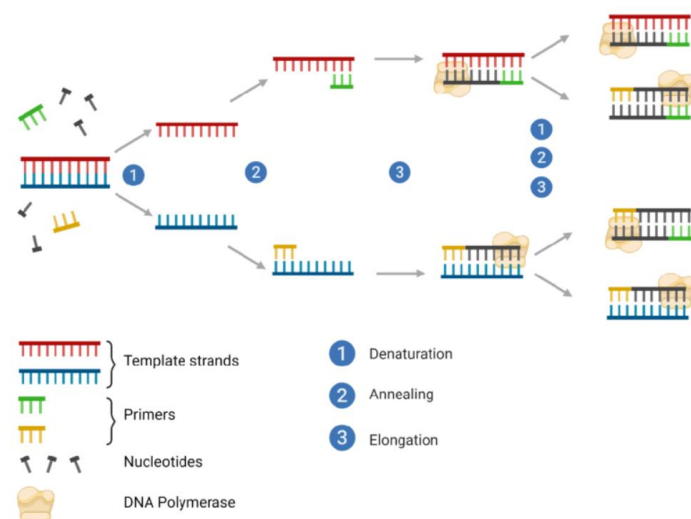
komplexbe beépült kis RNS-sel komplementer, és vagy elhasítja a vírus RNS-t, amit aztán a gazdasejt nukleázai lebontanak, vagy gátolja az RNS-ről a fehérje szintetizálását (Várallyay, 2015). A vírusok az RNS-interferencia megakadályozására számos stratégiát fejlesztettek ki, ami jól mutatja a növények és vírusok között zajló koevolúciós folyamatot. Egyes vírusok gátló fehérjék termelésével akadályozzák a daraboló vagy végrehajtó enzim működését, vagy olyan fehérjéket termelnek, melyek megkötik a kis RNS-eket, ezáltal a végrehajtó komplex nem képes megtalálni őket (Kamthan et al., 2015). Egy vírus gazdaszervezetének azokat az organizmusokat vagy sejteket tekintjük, melyekben az adott vírus replikálódni, szaporodni képes. A gazdanövény lehet nem gazda, rezisztens, toleráns vagy fogékony a kórokozó fertőzésére. Szerencsére a legtöbb növény-vírus kapcsolat nem kompatibilis, a vírusok csak egy-egy adott gazdanövény kört képesek fertőzni. A fertőzéshez mind a gazda, mind a növény oldaláról szükség van kompatibilitási faktorokra, csak ezek együttes megléte esetén lesz képes egy vírus egy adott növényt megfertőzni (Garcia-Ruiz, 2019).

2.5. Vírusok kimutatása, diagnosztikája

A molekuláris módszerek használata előtt a vírusok diagnosztikája főleg a tünetek megfigyelésén alapult, ami nem adott egyértelmű információt a jelenlévő kórokozóról. Az első vírus kimutatás a TMV-hez kötődik. Ivanovszkij fedezte fel 1892-ben, hogy a mozaikosodást mutató beteg növény szövetnedvével az egészséges növény is beteggé válik. Beijerinck 1898-ban rájött, hogy a bakteriális méretre tervezett filteren szűrt szövetnedv fertőzőképes marad, tehát a baktériumoknál kisebb nanométeres tartományú kórokozóról lehet szó. A TMV-t 1953-ban Stanley tisztította elsőként (Zaitlin & Mayer, 1998). A hagyományos víruskimutató módszerek azt mutatják meg, hogy jelen van-e az adott vírus az adott növényben. A legelterjedtebb ilyen vizsgálat az ellenanyaggal végzett vírus köpenyfehérjét felismerő módszer az **ELISA-teszt** (Enzyme Linked Immunosorbent Assay). Ehhez szükség van a vírus fehérjéjét felismerő megfelelő ellenanyagra. Az ELISA azt az alapvető elvet használja, hogy az antigének specifikus antitestekhez kötődnek, ez pedig lehetővé teszi nagyon kis mennyiségű antigének, például fehérjék, peptidek, hormonok, és antitestek kimutatását egy folyadékmintában. A módszer enzimmel jelölt antitesteket használ (Gan & Patel, 2013). Ennél modernebb és érzékenyebb módszer a **polimeráz láncreakció** (Polimerase Chain Reaction -**PCR**) technika (**7.ábra**), amivel bármely DNS szakasz korlátlan számban felszaporítható, sokszorozható. A módszer sejtekben is lejátszódó replikációs folyamaton alapul (Heszky & Galli, 2008). Számos PCR módszer létezik (például real time PCR vagy quantitative PCR- q-PCR, reverse transcription PCR -RT-PCR, multiplex RT-PCR, nested PCR, direct PCR, long range PCR)

azonban csak néhány módszer terjedt el rutinszerűen a laboratóriumi diagnosztikában (Boonham et al, 2013, Cassedy et al, 2021, Gambino & Gribaudo, 2007, [http6](#)). Az RT-PCR (Reverse Transcription PCR) lehetővé teszi RNS templát felszaporítását, reverz transzkriptáz enzimmel az RNS cDNS átírása után. Ezt követően az egyszálú DNS molekula a DNS-polimeráz enzim segítségével átíródik és innentől kezdve a folyamat megegyezik a korábban leírt PCR módszerrel (Freeman et al., 1999).

A PCR módszer alkalmazásához ismerni kell az adott vírus örökítőanyagának nukleotid sorrendjének egy részét az indítószekvenciák tervezéséhez, ELISA esetén pedig megfelelő ellenanyagra van szükség. Ezért az ELISA és a PCR módszerrel csak olyan kórokozót tudunk kimutatni, amit ismerünk. Ezeket a módszereket akkor érdemes alkalmazni, ha feltételezzük egy adott kórokozó jelenlétét adott növényben (Várallyay, 2015).



7. ábra: A PCR folyamatábrája ([http7](#)).

A helyszíni diagnosztikában jól alkalmazható, egyszerű és gyors megoldást kínálnak a **laterális áramlási tesztek** (Lateral flow tesztek -LFT). Ez egy egyszerű szerológiai módszer, ahol a tesztcsík felületéhez nukleinsav vagy fehérje specifikus ellenanyag van rögzítve. Ezzel a módszerrel lehetséges folyékony mintában baktériumok és vírusok kimutatása. A minta tesztcsíkon való áramoltatása során az antitest-reporter molekulák komplexet képeznek a mintában található antigénnel, az eredményt színváltozás jelzi (Ince & Sezgintürk, 2022). Azonban ez a módszer a PCR-hez képest alacsonyabb megbízhatóságú, főleg, ha a vizsgált mintában alacsony a jelenlevő vírus koncentrációja (Alhabbab, 2022).

2.5.1. A nukleinsavak nukleotid sorrendjének meghatározása (szekvenálás)

Sanger felfedezésének köszönhetően már a 70-es évektől kezdve határoztak meg vírus szekvenciákat virionból tisztított nukleinsavakat használva. Ezzel a szekvenálási technikával egyszerre csak egy molekula nukleotid sorrendje határozható meg. Az elmúlt egy-két évtized fő előre lépését a második és harmadik generációs szekvenálásokkal történő növényi vírusok szekvenciaadatainak feltárása jelentette, mellyel a mintában levő minden nukleinsav molekula szekvenciája meghatározható (Villamore et al, 2019). Ezekkel a módszerekkel az ELISA-tesztől és PCR-től eltérően nem kell előzetes információ birtokában lennünk a vírusokról, így akár eddig még le nem írt új vírusok felfedezése is lehetővé válik. Az első HTS (high-throughput sequencing) módszerek előtt megszekvenált DNS vírusgenom a karfiol mozaik vírus (cauliflower mosaic virus- CaMV, *Caulimovirus tessellobrassicae*) volt, amit a TMV RNS szekvenálása követett (Scholthof et al., 2011).

A nukleinsavak építőelemekből (nukleotidból) állnak, melyeket a heterociklikus bázisok, cukormolekula és foszforsav épít fel. A nukleotidok sorrendje határozza meg az adott élőlényt. DNS esetén A (adenin), C (citozin), G (guanin), T (timin), RNS esetén a timin helyett U (uracil) bázis vesz részt a nukleotidok felépítésében. Különbség van még a cukormolekulák felépítésében, mivel DNS esetén pentóz (dezoxiribóz), RNS esetén ribóz alkotja (Travers & Muskhelishvili, 2015). Ezen nukleotidok sorrendjének (szekvencia) meghatározása történik szekvenáláskor. A DNS nukleotid sorrendjének megállapítását 1977-ben Frederick Sanger dolgozta ki. Ez a **Sanger-féle szekvenálás** tette lehetővé az emberi genom bázissorrendjének első meghatározását. A folyamat során egyszerre egy DNS molekula bázissorrendje határozható meg (Akacin et al., 2022).

Két évtizede új technológiai módszereket (**új generációs szekvenálások**, next generation sequencing – NGS) fejlesztettek a nukleinsavak nukleotid sorrendjének meghatározására, melyek egyszerre sok millió nukleinsav molekula nukleotid sorrendjét képesek meghatározni. A szekvenálás eredményeként a minta egészében található összes nukleinsav bázissorrendjét megtudhatjuk, ezt metagenomikának nevezzük. Ezzel a módszerrel akár a növényben jelenlevő összes RNS, vagy a növény védekezése során létrejött kis RNS-ek szekvenciája is meghatározható. Utóbbi esetben csak rövid 21-25 nukleotid hosszúságú molekulák nukleotidsorrendjét kell meghatározni. A szekvenálás eredményeként milliós nagyságrendű A/C/G/T-ből álló olvasatot kapunk, amit bioinformatikai módszerekkel tudunk elemezni. A mintában megtalálható a gazdaszervezet és a kórokozók sokmillió nukleinsav molekulájának

szekvenciája. A módszer folyamatos fejlődése miatt ezt a szekvenálást ma már **nagy áteresztőképességű szekvenálásnak** (high-throughput sequencing -**HTS**) nevezzük és használatával az utóbbi tíz évben rengeteg új vírust fedeztek fel a kutatók. Ez a módszer hatékony eszköznek bizonyul a már korábban leírt vírusok és újonnan felfedezett vírusok detektálására is. A HTS DNS szekvenálás kémiai alapját is a Sanger-féle szekvenálás adta. A HTS vírusdiagnosztikai felhasználásakor különböző nukleinsav templátokat lehet használni, melyek lehetnek: siRNS, teljes RNS (total RNS), kettős szálú dsRNS, vírusszerű részecskék (VLP), vagy virionból tisztított nukleinsav (VANA) (Villamore et al., 2019, Várallyay, 2015).

2.6. Kukoricában jelentős vírusok

A vírusok a kukoricán is jelentős betegségeket okoznak világszerte. Az afrikai országok nagy részében a kukorica termésmennyisége körülbelül csak 1/3-a a világ átlagtermésének, melynek fő oka a vírusbetegségekben keresendő. A legnagyobb problémát az afrikai országokban az MLN okozza, amit elsőként 2011-ben Kenyában jelentettek. Az MLN-t a *Tombusviridae* családba tartozó maize chlorotic mottle virus -MCMV (*Machlomovirus zae*) és a *Potyviridae* családba tartozó számos vírus, például az SCMV, MDMV, Johnsongrass mosaic virus -JGMV (*Potyvirus halapensis*), és a WSMV együttes fertőzése okozza. Az együttes fertőzés gyakori növénypusztulással és súlyos, akár 100%-os termésvesztéssel végződik (Redinbaugh & Stewart, 2018) (8. ábra).



8. ábra: Az MLN tünetei kukoricán (http8)

Az MCMV a *Tombusviridae* családba tartozó, 4,4 kb genomú + sense RNS-sel rendelkező vírus. Elsőként Peruban került detektálásra. Mechanikai úton könnyen átvihető, mozaikosodást, klorózist és satnyulást okoz. Legjelentősebb vektorszervezetei a bogarak közül a kukoricabogár (*Diabrotica spp.*) és a vörösnakú árpabogár (*Oulema melanopus*) a legfontosabb, de a nyugati virágtetű (*Frankliniella occidentalis*) is terjeszti (Redinbaugh & Stewart, 2018). A *Potyviridae* család *Potyvirus* nemzetségébe tartozik a SCMV, MDMV és a JGMV, mely nemzetség tagjai levéltetvekkel (*Rhopalosiphum maidis*, *R. padi*, *Myzus persicae*, *Schizaphis*

graminum) nem perzisztensen, a szájszerv felületére kerülve (stylet-borne) terjednek. A *Potyviridae* család *Tritimovirus* nemzetségébe tartozó WSMV az *Aceria tulipae* levélatkával terjed. A potyvirusok körülbelül 10 kb nagyságú + RNS genommal rendelkeznek. Ezen vírusok egyenként okozott tünetei az MCMV-hez hasonlóak. Az együttes fertőzésnek köszönhetően azonban a betegség progressziója nagyobb és a tünetek is sokkal jelentősebbek (Redinbaugh & Stewart, 2018). Az MLN terjedése Afrikán kívül is komoly gazdasági problémákat okoz, elterjedt már Kínában, Taiwanban, Ecuadorban és Spanyolországban is (Redinbaugh & Stewart, 2018). A vírusok ellen a legjobb védekezést a toleráns vagy rezisztens hibridek jelentik, ám ezek nem minden vírussal szemben elérhetőek. Patogén eredetű rezisztenciát fejlesztettek például MDMV és MSV ellen. Magyarországon is jelentős a WSMV előfordulása, melyet az 1980-as években diagnosztizáltak (Pásztor et al, 2021). Számos kukorica fajta rezisztens ellene, azonban a rezisztencia nem minden WSMV törzs ellen hatékony. A vírus gazdanövényköre széles, előfordul kölesen, fűféléken és évelőkön, melyekben át is telelhet (Regenmortel & Mahy, 2008). Jelentős még hazánkban a negatív egyszálú RNS-sel rendelkező BYSMV, mely egy Cytorhabdovirus és kabóca (*Laodelphax striatellus*) vektorral terjed. A vírus főképp Ázsiában okoz gondot és a kukoricán kívül *Panicum miliaceum* is leírták már. A BYDV a *Luteoviridae* család *Luteovirus* nemzetségébe tartozó vírus (Miller et al., 2002) által fertőzött növények levelén vöröses, sárgás elszíneződés jelenik meg, de az is előfordulhat, hogy nem mutat tünetet a fertőzött növény. A fertőzés hatására a termés hozam 15-20%-kal csökken. A kukorica hibridek többsége toleráns a BYDV vírussal szemben (Regenmortel & Mahy, 2008). Egy nemrég hazánkban is kimutatott + RNS genommal rendelkező *Luteoviridae* családba tartozó polerovirus a barley virus G -BVG (*Polerovirus BVG*), mely számos gazdanövényrel rendelkezik. Megtalálható a *Panicum miliaceum*, *Setaria italica* gyomfajokban, valamint árpában és zabban is leírták már. Vektorszerkezete a *Rhopalosiphum maidis* és *Rhopalosiphum padi*. Egy másik nemrég hazánkban kukoricában is kimutatott vírus az aphid glycyne virus 1 (ApGIV1) egy +RNS genomú *Dicripivirus*, melyet elsőként az USA-ban találtak meg *Glycine max* és *Aphis glycines* HTS vizsgálatával (Yasmin et al., 2020). Az ApGIV1 vírust a Ljubljana dicisztrovirus 1 (LDV1) mellett nemrég Szlovéniában is megtalálták paradicsomban és számos gyomfajban (Rivarez et al, 2023). Az LDV1 +RNS genommal rendelkező *Dicistrovirus*-t azóta már hazánkban is megtalálták, és számos gyomnövényben (*Setaria viridis*, *Echinochloa crus-galli*, *Panicum miliaceum*) valamint kukoricában is kimutatták (Galbács et al., 2024, Pásztor et al., 2020).

2.7. A gyomnövény fogalma, kártételi formája

Az abiotikus környezeti tényezők (pl. időjárás, tápelem hiány) szélsőségei a kukoricán több mint 60%-os, a biotikus stresszorok (kórokozók, kártevők, gyomnövények) akár 30-40%-os terméseszkökenést is okozhatnak (Szigeti, 2018). A kukorica termesztése során a legnagyobb biotikus kihívást a gyomok elleni védekezés jelenti a növényvédelmi munkák során (Pepó & Sárvári, 2011). A gyomnövények fogalmi meghatározása nehéz és meglehetősen szubjektív feladat, mivel a növények széles skáláját értjük alatta, valamint nem csak a gazdasági kárt okozó növényeket, hanem az esztétikai problémát okozó „csúnya”, szúrós növényeket is ide soroljuk. Szinte minden növény bizonyos feltételek között (eltérő termesztett kultúrában és területen) tekinthető gyomnövénynek (Hunyadi et al., 2011). Ezt jól szemlélteti Hunyadi Károly (1974-es) meghatározása, mely a következő: „gyomnövénynek nevezünk bármely fejlődési stádiumban levő olyan növényt vagy növényi részt (rizóma, tarack, hagyma, hagymagumó), amely ott fordul elő, ahol nem kívánatos” (http9). A gyomnövények az agrotechnikai (pl. emberi tevékenység, bolygatás) és kémiai eljárásokhoz, a változó környezeti feltételekhez, valamint a versengéshez és a gyors növekedéshez kiválóan alkalmazkodtak és alkalmazkodnak. A legtöbb gyomnövényt erőteljes csíranövénykori növekedés, gyors regeneráció, nagy fotoszintézis produktivitás, hatékony túlélési stratégia (pl. egyes fajok stresszhelyzetben is hoznak magot), valamint a rezisztencia vagy tolerancia kialakításának képessége jellemzi egyes herbicidekkel szemben. Számos gyomnövény rendelkezik allelopátiával is, mely során allelokemikáliák termelésével más növények fejlődését gátolják. A gyomnövények fontos tulajdonsága a magnyugalom is, ugyanis az érett magvak csak egy része csírázik ki, a többi nyugalmi állapotban marad a talajban, ezáltal adott területen éveken keresztül fennmaradhatnak (Hunyadi et al., 2011).

Földünkön körülbelül 250.000 növényfaj található, melyből becslések szerint kevesebb, mint 250 faj tekinthető fontosnak a mezőgazdaság szempontjából. Tovább szűkítve a kört 18 növényfaj okoz komoly veszteségeket a mezőgazdasági termelésben, melyek között megtalálható a kukoricában is jelentős *Cynodon dactylon*, *Chenopodium album* és *Convolvulus arvensis* is (Holm et al., 1977, http10). A világon és hazánkban is a legfontosabb növénycsaládok a következők: Gramineae (pázsitfűfélék), Compositae (fészkesek), Cyperaceae (sásfélék), Polygonaceae (keserűfűfélék), Amaranthaceae (disznóparéjfélék), Cruciferae (keresztesvirágúak), Fabaceae (pillangósvirágúak), Convolvulaceae (szulákfélék), Euphorbiaceae (kutyatejfélék), Chenopodiaceae (libatopfélék). Ebből is kiemelve a legfontosabbak a Gramineae és a Compositae családok, melyek együttesen a fajok majdnem

40%-át foglalják magukban, és a gyomnövények mellett ide tartoznak a legfontosabb termesztett kultúrnövény fajok is, ami növeli ezen csoportok jelentőségét (Hunyadi et al., 2011).

2.7.1. Az Ujvárosi-féle életformarendszer

Az életformacsoportok tükrözik az adott faj biológiai sajátosságait, így az adott faj csírázását, növekedését, virágzását, valamint élettérbe való beilleszkedését veszik figyelembe. 1903-ban jelent meg a Raunkiaer-féle életformarendszer, mely az áttelelést kihangsúlyozva ökológiai alapon sorolta csoportokba a különböző éghajlati zónákba tartozó növényeket (pl. fás növények – Ph, rejtve telelők – K). Hazánkban is követték a gyomnövények életformarendszerbe sorolását – például Máthé-féle (1940) és Balázs-féle besorolás (1949), azonban ezeket Ujvárosi kiegészítette (1952) azzal, hogy fontossági sorrendet állított fel a szántóföldi gyomok jelentősége szerint, valamint az egyéves gyomnövényeket alcsoportokba sorolta (téli egyévesek T1-T2 és nyári egyévesek T3-T4). Ma is az Ujvárosi-féle életformarendszert használják hazánkban a gyomnövények osztályozására, amit az alábbi táblázat (2. táblázat) ismerteti röviden (Hunyadi et al., 2011).

2. táblázat: Ujvárosi-féle életforma rendszer (Hunyadi et al., 2011 alapján)

Életforma	Jellemzők	
Egyévesek (Therophyta - T)		
a kedvezőtlen időjárást mag vagy csíranövény formájában vészelik át		
T1	ősszel csírázó, kora tavaszi áttelelő egyévesek (pl. <i>Stellaria media</i>)	
T2	ősszel és tavasszal csírázó nyár eleji egyévesek (pl. <i>Galium aparine</i>)	
T3	tavasszal csírázó nyár eleji egyévesek (pl. <i>Avena fatua</i>)	
T4	tavasszal csírázó nyárutói egyévesek (pl. <i>Chenopodium album</i>)	
Kétévesek (Hemitherophyta, HT)		
- késő tavasszal vagy nyár elején kelnek - a nyáron fejlesztett nagy levélrózsával és erős raktározógyökérrel telel át - egyik telet mag, másik telet levélrózsa alakban vészeleli át - a második évben kora tavasszal virágzik és termést hoz (pl. <i>Daucus carota</i>)		
Talajban telelő évelők (Hemikryptophyta, H)		
áttelelő képleteik a talajszintben telelnek, függőlegesen állnak		
H1	bojtos gyökerzetűek (pl. <i>Ranunculus acer</i>)	
H2	indás évelők (pl. <i>Poa trivialis</i>)	
H3	szaporodásra képes gyökerűek (pl. <i>Taraxacum officinale</i>)	
H4	szaporodásra nem képes karógyökerűek (pl. <i>Ononis spinosa</i>)	
H5	ferde gyöktörzsűek (pl. <i>Plantago maior</i>)	
Talajban telelő évelők (Geophyta, G)		
- áttelelő és szaporítóképleteik a talajban találhatók - legveszélyesebb gyomnövények		
G1	tarackos, rizómás fajok - módosult hajtás (pl. <i>Elymus repens</i>)	
G2	gumósok – tarack raktározásra alakult át (pl. <i>Cyperus esculentus</i>)	
G3	szaporítógyökeres fajok – módosult gyökér (pl. <i>Asclepias syriaca</i>)	
G4	hagymások és hagymagumósok (pl. <i>Colchicum autumnale</i>)	

2.7.2. A gyomnövények kártétele

A növények versengést folytatnak a számukra szükséges erőforrásokért, vagyis a fényért, vízáért és tápanyagokért. Amíg a környezeti források elegendőek a jelenlévő egyedek számára, addig nem lép fel a kompetíciós hatás. A gyomnövények számos közvetett kárt okoznak a termesztett

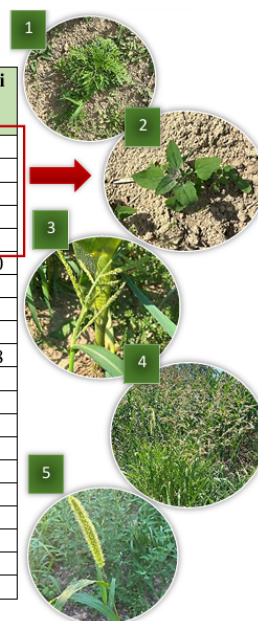
kultúrákban, például árnyékoló hatásukkal csökkentik a kultúrnövény fényellátását, gyors és nagyobb mennyiségű tápanyagfelvételükkel a talaj tápanyagtartalmát, valamint vízfelvételükkel a talaj nedvességtartalmát is csökkentik. Ezen kívül elveszik a teret a kultúrnövény elől és kórokozók, kártevők köztesgazdái is lehetnek. Előfordulnak közvetlen kártételt okozó élősök és félélősök növényfajok is, melyek a gazdanövényhez kapcsolódva elvonják a vizet és tápanyagot a kultúrnövénytől, ilyen parazita növények például a szárélősök aranka fajok (*Cuscuta spp.*), valamint a gyökérelősök szador fajok is (*Orobancha spp.*) (Hunyadi et al., 2011).

2.7.3. A kukorica gyomnövényzete

A kukoricavetésekben a T4-es életformájú gyomfajok a legjelentősebbek. A hatodik országos gyomfelvételezés (2018-2019) eredményei alapján fontossági sorrendben a leggyakoribb gyomfajok a parlagfű – *Ambrosia artemisiifolia*, fehér libatop – *Chenopodium album*, kakaslábű – *Echinochloa crus-galli*, fenyércirok – *Sorghum halepense*, fakó muhar – *Setaria pumila*, csattanó maszlag – *Datura stramonium*, szőrös disznóparéj – *Amaranthus retroflexus*, napraforgó árvakelés – *Helianthus annuus*, aprószulák – *Convolvulus arvensis* és a varjúmák – *Hibiscus trionum*. A hatodik országos gyomfelvételezés eredményeként első helyen álló parlagfű a szántóföldek egyik legfontosabb gyomfaja. Jelentőségét allergén szerepe mellett az is mutatja, hogy kompetíciós vizsgálatok során megállapították, hogy négyzetméterenként 10 db parlagfű kukoricában körülbelül 29%-os veszteséget, napraforgóban 37%-os terméseszkökenést okoz (Novák et al., 2019). A korábbi országos gyomfelvételezéseknek köszönhetően megállapítható az is, hogy számos olyan faj, melyek ellen nehéz és költséges a védekezés jelentősen növekedett a szántóföldeken, ezen fajok a selyemmályva (*Abutilon theophrasti*), parlagfű (*Ambrosia artemisiifolia*), szerbtövisfajok (*Xanthium spp.*), valamint a magról kelő egyszikűek közül a fakó muhar (*Setaria pumila*), zöld muhar (*Setaria viridis*) és a pirók ujjasmuhar (*Digitaria sanguinalis*). Az utóbbi húsz évben számos nehezen irtható és inváziós gyomfaj, mint például a selyemkóró (*Asclepias syriaca*) és a mandulapalka (*Cyperus esculentus*) is teret nyert a kukoricavetésekben. A fenyércirok (*Sorghum halepense*) tömeges térnyerése is egyre jelentősebb, ami a szulfonil-karbamidokkal szembeni rezisztens állományok felszaporodásának is köszönhető. Évelők közül a fenyércirok mellett a mezei aszat (*Cirsium arvense*) és a tarackbúza (*Elymus repens*) bír nagy jelentőséggel. Az alábbi **3. táblázat** tartalmazza a 2018-2019. évi adatokat a kukorica legjelentősebb nyárutói gyomfajairól (Novák et al., 2019).

3. táblázat: A kukoricában előforduló gyomfajok alakulása a hatodik országos gyomfelvételezésen, kiemelve az öt legfontosabb gyomfajt

Gyomnövény magyar neve	Gyomnövény latin neve	Fontossági sorrend	Borítási %
Parlagfű	<i>Ambrosia artemisiifolia</i>	1	7,5719
Fehér libatop	<i>Chenopodium album</i>	2	6,3119
Kakaslábfű	<i>Echinochloa crus-galli</i>	3	6,2527
Fenyércirok	<i>Sorghum halepense</i>	4	2,5552
Fakó muhar	<i>Setaria pumila</i>	5	2,0360
Csattanó maszlag	<i>Datura stramonium</i>	6	1,84440
Szőrös disznóparéj	<i>Amaranthus retroflexus</i>	7	1,6953
Napraforgó	<i>Helianthus annuus</i>	8	1,2011
Apró szulák	<i>Convolvulus arvensis</i>	9	1,1688
Varjúmák	<i>Hibiscus trionum</i>	10	1,08688
Mezei acat	<i>Cirsium arvense</i>	11	0,9973
Selyemmályva	<i>Abutilon theophrasti</i>	12	0,9766
Pokolvar libatop	<i>Chenopodium hybridum</i>	13	0,9411
Karcos disznóparéj	<i>Amaranthus powellii</i>	14	0,8438
Termesztett köles	<i>Panicum miliaceum</i>	15	0,7941
Pirók ujjasmuhar	<i>Digitaria sanguinalis</i>	16	0,7580
Zöld muhar	<i>Setaria viridis</i>	17	0,6954
Lapulevelű keserűfű	<i>Persicaria lapathifolia</i>	18	0,6571
Fekete csucsor	<i>Solanum nigrum</i>	19	0,6373
Kender	<i>Cannabis sativa</i>	20	0,5900



2.7.4. A kukorica gyomszabályozása

A gyomszabályozás során az integrált szemléletet követve elsősorban az a célunk, hogy a gyomnövények egyedszámát a gazdasági kártétel alatti szinten tartsuk. Legfőbb cél a védekezés során a gyomnövények szaporítóképleteinek csökkentése, a kultúrnövénnyel való azonos időben történő kelés meggátlása, valamint a kultúrnövénnyel szembeni kompetíció minimalizálása. Elmondható, hogy a gyomszabályozás során a herbicides védekezéseknek van a legnagyobb szerepe, azonban fontos, hogy ezeket okszerűen (biztonság, szelektivitás, herbicidrezisztencia kialakulásának megelőzése) használjuk. A leghatékonyabb gyomszabályozást akkor érhetjük el, ha a kémiai gyomirtást az agrotechnikai és mechanikai eljárásokkal kombináltan alkalmazzuk. Az **agrotechnikai gyomszabályozás** elemeit a megfelelő fajta- és területválasztás, vetésforgó és elővetemény gyomosodásának figyelembevétele, magágykészítés, optimális vetésidő, töltávolság és sortávolság meghatározása, tápanyag-utánpótlás, tarlóápolás és megfelelő talajmunkák (pl. évelő gyomok mély alászántása) alkotják. A **mechanikai gyomszabályozás** sorközművelő kultivátor, töltögetés és gyomfésű alkalmazását jelenti (Hunyadi et al., 2011). A gabonafélékben is alkalmazott gyomfésű kukoricában kelés előtti vakboronásra biztonságosan alkalmazható csírázó gyomnövények ellen. A kukorica kelése után a sorközök kultivátorozása, valamint később a töltögető kultivátor alkalmazása jöhet szóba, mely utóbbi segíti a kukoricát, hogy fejlődésében túlnője a gyomokat (Dorner, 2024). A gyomirtás tervezését a gyomnövények

összetételéhez, a tábla talajának tulajdonságaihoz (humusztartalom), a hibrid herbicidérzékenységéhez, a termesztési célhoz (csemegekukorica, takarmány előállítás) valamint a permetezőgépekhez és gazdasági tényezőkhöz kell igazítani. A herbicidek kiválasztásánál a hatásspektrumot, rezisztencia kialakulásának megelőzését és a legkisebb hektárköltséget kell szem előtt tartani.

A **herbicides gyomirtást** tekintve nagy számú gyomirtó szer áll rendelkezésre kukoricában (főleg az állományban történő kezeléskor), technológia tekintetében pedig presowing, preemergens, posztemergens valamint „pre-post” technológiák közül választhatunk, mely elnevezések a kijuttatás időpontjára utalnak. Preemergens kezelés esetén vetés után, kelés előtt juttatjuk ki a herbicidet, azonban a hatás kifejtéséhez körülbelül 20-30 mm bemosó csapadékra van szükség a kijuttatást követő két hétben. A preemergens technológia készítményei főként a magról kelő egy- és kétszikű gyomnövények ellen hatásosak. Ez a csapadéktól való függés napjainkban egyre jobban kérdésessé teszi ezen technológia alkalmazását. Ugyanakkor, ha van rá lehetőség érdemes alkalmazni, hiszen a korai gyomosodás a kultúrnövény kezdeti kis gyomelnyomó képessége miatt, nagyobb kárt okoz kukoricában, mint a későbbi. A preemergens kijuttatáshoz szükséges bemosó csapadék hiánya is hozzájárult a posztemergensen (kelés után állományban) történő kezelések egyre nagyobb térnyeréséhez. A poszt kezelések előnye, hogy ekkor csak a ténylegesen megjelent növények ellen védekezünk, ezáltal könnyebb és célzottabb a hatóanyag választás. Fontos viszont, hogy a gyomok megfelelő fejlettségénél történjen a kijuttatás (Pepó & Sárvári, 2011). Kukorica esetében a poszt kezelések három időpontban történhetnek a gyomok fejlettsége alapján. Lehet korai, normál és késői posztemergens kezelést alkalmazni. Korai poszt kezeléskor a kukorica 1-3 leveles, poszt kezelésnél 5-7 leveles (**9. ábra**), késői posztemergens kijuttatásnál pedig 7-9 leveles a kukorica fejlettsége (Dorner, 2024). A gyakorlatban előfordul még egy kijuttatási mód a „pre-post” technológia, mely a kukorica vetése szempontjából preemergens, a gyomnövények szempontjából posztemergens technológiának számít, hiszen ebben az esetben a vetés előtt 2-3 héttel előkészítik a magágyat, ezáltal a gyomnövények kicsíráznak, majd a kukoricát elvetik és a vetés után még a kukorica kelése előtt végzik a herbicides kezelést, a már kikelt gyomnövények ellen (Pepó & Sárvári, 2011).



9. ábra: Kukorica posztemergens gyomirtása (Mónos Gréta, 2024)

2.7.5. Vírusrezervoár gyomnövények

A kultúrnövényekkel együtt növő gyomfajok nem csak a talaj tápanyagtartalmának és nedvesség tartalmának csökkentésével vannak hatással a kultúrnövény fejlődésére, hanem elősegítik a vírusfertőzéseket is, hiszen a vírusvektor szervezeteknek bűvőhelyet és táplálékot jelentenek. A gyomnövények is fertőződhetnek vírusokkal és évelő gyomok esetében a vírussal fertőzött növények át is telelhetnek a területen, mellyel a következő termesztett kultúrára is veszélyt jelentenek (Galbács et al., 2024). A növényi vírusok vektorok segítségével a gyomnövényekről átkerülhetnek a kultúrnövényre és a kultúrnövényről is átkerülhetnek a gyomfajokra. A HTS módszereknek köszönhetően már több kutatás is igazolta, hogy a szántóföldek közelében (például táblaszegélyen) előforduló gyomfajok rengeteg vírusnak szolgálhatnak gazdaszervezetül. Erre jó példa Rivarez és munkatársai kutatása is, akik munkájuk során Szlovéniában paradicsomtermesztéssel foglalkozó gazdaságokban vizsgálták paradicsomban és az ott jelenlevő gyomokban előforduló vírusokat. Eredményül 125 vírust detektáltak, melyből 79 új vírusfaj, 65 vírust pedig kizárólag gyomfajokban találtak meg (Rivarez et al, 2023). Magyarországon is születtek kutatások, melyek számos vírust tártak fel gyomnövényekből. Galbács és munkatársai kutatásának mintagyűjtési helyszíne a Balaton (Keszthely) környékén volt, mely igen közel található jelen dolgozat mintavételi helyszínéhez, Nagycsepelyhez is. Kutatásuk során 2019-ben *Panicum miliaceum* gyomnövényből mutattak ki vírusokat, majd ezt követően 2021-ben további egyszikű gyomnövényeket (*Echinochloa crus-galli*, *Setaria viridis*, *Sorghum halepense*, *Cynodon dactylon*) gyűjtöttek és kis RNS HTS-sel határozták meg ezen növények viromját. Eredményül kimutatták a WSMV, BYSMV, BVG, ApGIV1, LDV1 vírusokat. Ezen kutatás írta le először hazánkban a BVG, LDV1 és ApGIV1 vírus előfordulását és új vírusrezervoár gyomnövényeket is meghatározott. Új gazdanövényként írta le a *Cynodon dactylon*-t a BYSM és LDV1 vírusoknak, az *Echinochloa crus-galli*-t a BVG, ApGIV1 és LDV1 vírusnak, a *Sorghum halepense*-t meghatározta, mint új gazdanövényt az ApGIV1-nek, valamint a *Panicum miliaceum*-ot mint új gazdaszervezetet az

LDV1 vírus számára. Ugyanakkor a kukoricát is új gazdanövényként határozták meg az ApGIV1 és LDV1 vírusaként (Galbács et al., 2024). Jelentős vírusrezervoár egyszikű növény a kukorica egyik fontos gyomnövénye a *Panicum miliaceum*, melyből kis RNS szekvenálással (HTS) kimutatták a WSMV, BYSMV és a BVG vírust, mely utóbbi kettőt ekkor írták le Magyarországon először (Galbács et al., 2024). A kutatás során a következő vírus-gyomnövény kapcsolatokat határozták meg: *Echinochloa crus-galli*-ből kimutatták a WSMV, BVG, LDV1 és ApGIV1 vírusokat, *Cynodon dactylon*-ból a WSMV, BYSMV, LDV1 vírusokat, valamint detektálták *Setaria viridis*-ből WSMV-t (Galbács et al., 2014). A felsoroltakon kívül ezen gyomnövényekből számos más vírust is kimutattak már, melyekről részletesen tájékozódhatunk az NCBI génbankjában (Agyemang et al., 2024). Ezen kutatások is rávilágítanak arra, hogy a gyomnövények számos gazdasági kárhoz vezető vírus fertőzésének lehetnek gazdanövényei (10. ábra).



10. ábra: Az öt legfontosabb vírusrezervoár gyomnövény kukoricatáblán és táblaszegélyen:
1. *Panicum miliaceum*, 2. *Sorghum halepense*, 3. *Cynodon dactylon*, 4. *Echinochloa crus-galli*
és *Setaria viridis* (Mónos Gréta, 2024)

3. Anyag és módszer

3.1. Szántóföldi vizsgálatok – gyomfelvételezések

A kutatás során szántóföldi vizsgálatokra és laboratóriumi vizsgálatokra került sor. A szántóföldi vizsgálatok során a potenciális vírusrezervoár gyomnövények felvételezése zajlott, ami már áprilisban megkezdődött Somogy vármegyében, Nagycsepelyen a családi gazdaságunk egyik 10 ha-os tábláján, ahol kukorica került vetésre. A vetést megelőzően a tarlón is sor került gyomviszonyok szemrevételezésére, mellyel a kultúrában várható gyomfajok felmérése volt a célom. A további gyomfelvételezések a nyár folyamán a kukorica különböző fenológiai állapotában történtek. A felvételezések a kukorica vetése után májustól kezdve havonta egy alkalommal zajlottak augusztus végéig, így összesen 4 gyomfelvételezésre került sor az állományban (**4. táblázat**). A gyomfelvételezések során a területen található gyomfajok összetétele és a potenciális vírusrezervoár gyomok jelenléte mellett, mind a gyomfajok mind a kukorica állomány rendellenességeit (szívogatott, klorózist, csíkoltságot, antociánosodást mutató levelek) is figyeltem, mivel a mintagyűjtést a laboratóriumi feldolgozáshoz ilyen egyedekből végeztem. Valamint a kártevőket is figyelemmel kísértem, hiszen a vírusvektor szerepük miatt nem elhanyagolhatóak. A felvételezést követően laboratóriumi vizsgálatokkal a begyűjtött növényi minták feldolgozása történt, mely során a vírusok jelenlétét vizsgáltam a mintákban.

4. táblázat: A szántóföldi felvételezések időpontjai

Esemény	Kukorica fenológiája	Időpont
Tarló felmérése	-	2024.04.14.
Kukorica vetése	-	2024.04.15.
1.Gyomfelvételezés	3 leveles	2024.05.10.
Herbicides kezelés	5-7 leveles	2024.05.22.
2.Gyomfelvételezés	8 levelesnél fejlettebb	2024.06.13.
3.Gyomfelvételezés	címerhányás	2024.07.05.
Mintagyűjtés	címerhányás	2024.07.18.
4.Gyomfelvételezés	érett, elszáradt állomány	2024.09.01.
Betakarítás	elszáradt állomány	2024.10.06.

A gyomfelvételezést a Németh-Sárfalvi (1998) módszer szerint hajtottam végre, mely során egy 1 méter x 1 méteres, azaz 1 m² területű gyomfelvételezési keretet (**11. ábra**) helyeztem a felvételezni kívánt mintaterületre. A keret által lefedett területet 100%-nak vettem, és az ezen belül előforduló gyomok borítási %-át határoztam meg. A mintavételezés a következőképpen történt: a 10 hektáros táblán az 1m²-es kvadrátot véletlenszerűen a tábla teljes területét lefedve 10 mintavételi pontban helyeztem el, figyelembe véve, hogy a tábla szélétől legalább 2 m-t

elhagyjak, és a szélsőségesebb gyomborítású foltokat ne fedjem le a felvételezések során, annak érdekében, hogy reprezentatív felmérést tudjak készíteni a tábla gyomborítottságáról.



11. ábra: Az 1mx1m-es gyomfelvételezési keret (Mónos Gréta, 2024)

3.1.1. Posztemergens herbicides kezelés

A kukorica vetése előtt kombinátorral történt a magágykészítés, majd vetés után kelés előtt Figaro glifozát hatóanyagú totális gyomirtó hatású készítmény került kijuttatásra, „pre-poszt” kezelésként. Ebben az esetben a kultúrnövény már elvetették, de még nem kelt ki, azonban a gyomnövények már kikeltek (Radics 2012). Ez a herbicides kezelés nem a teljes tábla egészén történt, hanem csak a tábla nyugati felén, mert a tábla ezen része élőlő gyomokkal (főképp *Cirsium arvense*) gazdagon borított volt, de ezen a táblarészen nagy számban fordult elő *Ambrosia artemisiifolia* és *Datura stramonium* is. A vetés 2024.04.15-én történt KWS Advisio vetőmaggal, mely egy közép kései fajta, FAO száma 450-500.

Az első gyomfelvételezést követően történt meg a kukorica posztemergens kezelése 5-7 leveles állapotban (**12. ábra**). A kijuttatott herbicid a Principal Plus Phyton készítmény volt, amit a gyomirtó hatás fokozása érdekében Vivolt nedvesítőszerrel egészítettünk ki, melynek hatóanyag összetétele a következő: 92 g/kg nikoszulfuron + 23 g/kg rimszulfuron + 550 g/kg dikamba + 267 g/l meotrion + 16,7 g/l floraszulám. A nikoszulfuron és rimszulfuron az acetolaktát-szintetáz enzim gátlásán keresztül fejt ki a hatását, melynek hatására leáll a transpiráció. A dikamba hormon hatású készítmény, elsődlegesen a leveleken fejt ki a hatását, de gyökereken keresztül is felszívódhat, a meotrion karotinoid-szintézis gátló triketon. A floraszulám pedig ALS gátló hatással bíró hatóanyag. Ez a herbicid számos élőlő és magról kelő egy- és kétszikű gyomnövény ellen hatékony, többek között a *Datura stramonium*, *Amaranthus* fajok, *Chenopodium* fajok, *Ambrosia artemisiifolia*, *Cirsium arvense* ellen is. A kezelés hatására a gyomnövények fejlődése megáll, jellemző tünetek pedig az elszíneződés (antociánosodás és sárgulás) és az elhalás, nekrozis. A gyomnövények teljes pusztulása 2-4 hét

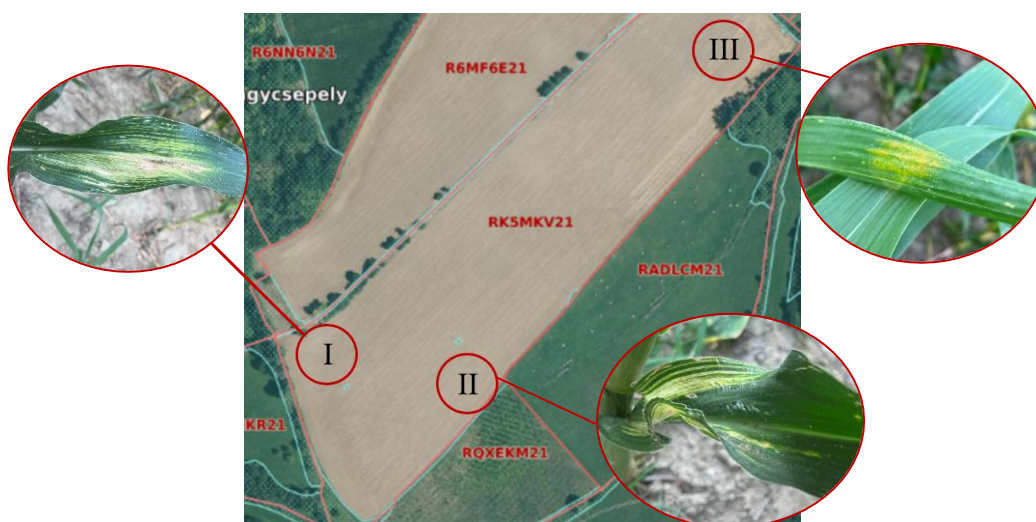
alatt történik meg. A készítmény kijuttatása a kukorica 3-7 leveles fenológiájában javasolt, amikor a magról kelő egyszikűek 1-3 leveles, a magról kelő kétszikűek 2-4 leveles állapotban vannak, valamint az élő gyomnövények átlagos magassága 15-25 cm (http12).



12. ábra: A Principal Plus Phyton kijuttatása (2024.05.22.) (Mónos Gréta, 2024)

3.2. Szántóföldi mintagyűjtés a laborvizsgálatokhoz

A gyomfelvételezések az állományban előforduló gyomnövények és azok arányának felmérése volt a célom, mivel a felmért gyomfajok alapján kerültek kiválasztásra a mintagyűjtésre szánt fajok, melyek a következők voltak: *Setaria viridis*, *Echinochloa crus-galli*, *Convolvulus arvensis*, *Chenopodium hybridum*, *Chenopodium album*, *Datura stramonium*, *Sorghum halepense*. A mintagyűjtés 2024.07.18-án a következőképpen zajlott: a táblán 3 pontban (I, II, III) **(13. ábra)** gyűjtöttünk mintát a tüneteket (csíkoltság, szívogatás, klorózis, antociánosodás, gyűrődés, ráncoltság, fodrosodás) mutató kukoricából és az ahhoz közel elhelyezkedő tünetes gyomokból. Mindegyik mintagyűjtési pontnál 5 db tünetes kukorica növényről gyűjtöttünk 3 db levelet egyedenként, valamint a kiválasztott egyszikű gyomokból (*Setaria viridis*, *Echinochloa crus-galli*) is 5 db egyedről 3db levelet gyűjtöttünk egyedenként – ezt a két gyomfajt, mind a 3 mintagyűjtési pontnál gyűjtöttük, valamint adott pontban tetszőlegesen két további kiválasztott faj 3 egyedéről is 3 db levelet gyűjtöttünk egyedenként. Az egyedekről gyűjtött 3 levelet egyedenként összekeverve csomagoltuk el a reprezentatív mintavételezés miatt. A begyűjtött egyedek mindegyikéről fotó készült, valamint az összesen 63 elcsomagolt minta a későbbi laboratóriumi feldolgozás miatt -70 °C-ra fagyasztóba került tárolásra.



13. ábra: A három mintagyűjtési pont elhelyezkedése a táblán

3.3. Laboratóriumi feldolgozás

3.3.1. Totál nukleinsav tisztítás (fenolos kivonás)

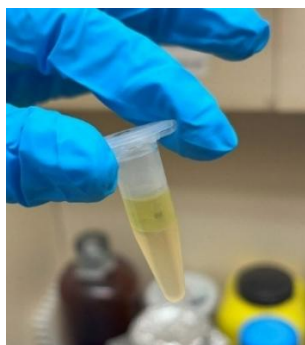
A begyűjtött mintákból a vírus jelenlétének kimutatásához első lépésben totál nukleinsavat kell tisztítanunk, mely az RNS és DNS vírusok mellett a növényi gazdaszervezetben megtalálható összes RNS-t és DNS-t is magában foglalja. A fagyasztóból kivett mintákat folyékony nitrogénben tároltam, és a kivonás során is végig jégen dolgoztam, annak érdekében, hogy az RNS-eket megóvjam az RNázok aktivitásától. A mintákat 12-esével dolgoztam fel. A nukleinsav tisztításhoz a fenolos kivonást alkalmaztam (White & Kaper, 1989), mely alkalmas az RNS, DNS és fehérje elkülönítésére és tisztítására az által, hogy a folyamat során folyadék-folyadék fázisú elválasztással több fázist hozunk létre, amiben megoszlik a DNS, RNS és a fehérje.

A fenolos kivonás menete a következő: elsőként elkészítettem a kivonó extrakciós puffert, ami 12 mintához 7 ml steril vízből, 1 ml 10x EB pufferből és 2 ml 10%-os SDS-ből áll, majd 12 eppendorf csőbe kimértem 600 µl fenolt. A fenollal való kivonás miatt végig elszívó fülke alatt dolgoztam. A fagyasztóból kivett mintákat folyékony nitrogénbe helyeztem, majd ezt követően a jégen lehűtött dörzsmozsarakba egyesével eldörzsöltem a mintákat, és még a dörzsmozsárban hozzáadtam az elkészített kivonó pufferből 650 µl-t és ezzel homogenizáltam tovább a mintákat (14. ábra).



14. ábra: A minták homogenizálása dörzsmozsárban a kivonó pufferrel és a fenolhoz adott minta (Mónos Gréta, 2024)

Az eldörzsölt mintát a fenolt tartalmazó eppendorf csőbe öntöttem, majd vortexeltem és jégre helyeztem a mintákat. Ezt követően a mintákat centrifugáltam szobahőmérsékleten (20 °C) 5 percig 15.000 rpm fordulatszámmon. Eközben 12 eppendorf csőbe kimértem 600 µl fenol-kloroformot. A centrifugálás után kivett minták két fázisra váltak (**15. ábra**), így a felső fázist (felülúszót) óvatosan pipettával leszívtam, ügyelve arra, hogy a két fázis határán található fehérjéket ne szívjam fel, és a felülúszót a fenol-kloroformra mértem.



15. ábra: A kétfázisú minta centrifugálás után (Mónos Gréta, 2024)

Ezt követően újra vortexeltem és 5 percig centrifugáltam a mintákat. A centrifugálás közben 12 eppendorf csőbe kimértem 600 µl kloroform-izoamilalkoholt, majd ismét a centrifugából kivett két fázisú mintából, a felső fázist rápipettáztam a kloroform-izoamilalkoholra, vortexeltem és újból centrifugáltam 5 percig. 12 új eppendorf csőbe kimértem 20 µl 4M nátrium-acetát-ot és 1 ml tömény (hideg) etanolt, majd erre rámértem pipettával a felülúszót, és most vortexelés helyett csak összeforgattam a mintákat, amiket ez után 5 percre jégre helyeztem, hogy a nukleinsavak kicsapódjanak. Ezt követően -70 °C-ra 20 percre hűtőbe helyeztem a mintákat. 20 perc után a fagyasztóból kivett mintákat centrifugába helyeztem 25 percre (4 °C-on, 15.000 rpm-en). A centrifugálás után a mintákról (melyekben alul csapadék keletkezett) (**16. ábra**) óvatosan leöntöttem az alkoholt. Ezt a minták mosása követte, ekkor 1 ml 70%-os etanolt pipettáztam rá a mintákra majd centrifugáltam 5 percig szobahőmérsékleten, majd ezt újból megismételtem, tehát kétszer mostam a mintákat 70%-os etanollal.



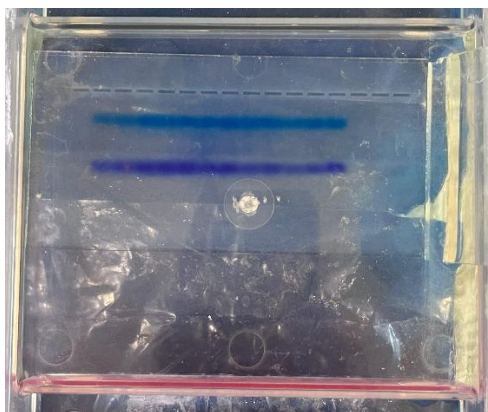
16. ábra: Centrifugálás után a mintákban keletkezett csapadék pirossal jelölve (Mónos Gréta, 2024)

A második mosás után a centrifugából kivett mintákról ismét leöntöttem az alkoholt, az eppendorf csöveket pedig egy papírtörőre helyezve fejjel lefelé lecsepegtettem, hogy lehetőség szerint minél kevesebb alkohol maradjon a csövekben, majd beszárítottam a mintákat. A beszárítás speedvac készülékben történik 2-3 percre, melybe az eppendorf csöveket nyitott tetővel helyeztem be, hogy a csövekben maradt alkohol el tudjon párologni, és végül csak a mintából keletkezett tiszta csapadékot kapjam. A tisztított csapadékot a szárítást követően 30 μ l steril vízben oldottam vissza, majd vortexeltem a csapadék visszaoldásának segítése miatt. A visszaoldott mintákat jégen tároltam. A tisztított nukleinsavak minőségét agaróz gélelektroforézissel ellenőriztem, Etídium-bromidot tartalmazó 1,2%-os agaróz gélen TBE pufferben történő elválasztással futtattam a mintákat. A futtatás előtt a mintákból kivettem 3 μ l -t és megfestettem 5 μ l FDE (formamid-EDTA festék) + 2 μ l steril víz hozzáadásával (**17. ábra**).



17. ábra: A minták megfestése (Mónos Gréta, 2024)

Az eredeti mintákat -70 °C-ra visszahelyeztem a fagyasztóba. A megfestett mintákat 65 °C-on 5 percre denaturáltam, ezt követően jégre helyeztem. Közben üveglapra öntöttem az 1,2%-os folyékony agarózt, és dermedés után behelyeztem a 1xTBE pufferrel feltöltött kádba, és az agaróz gélen található zsebekbe pipettáztam a megfestett mintákat, majd 30 percre 115 V-tal futtattam (**18. ábra**). A futtatás végén az RNS kivonás sikerességét UV fény alatt, gélképen ellenőriztem, amennyiben nem elmosódott mintájú képet látunk, a kivonás sikeres volt.



18. ábra: Minták futtatása agaróz gélen (Mónos Gréta, 2024)

3.3.2. RNS koncentráció mérés

A 63 minta totál nukleinsav fenolos kivonását követően a következő lépés az RNS koncentrációk és tisztaságuk meghatározása Nanodrop spektrofotométer mérőműszerrel. Ennek során a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ -ről kivett mintákat jégen kiolvastottam, majd pipettával $2\text{ }\mu\text{l}$ -t kimértem a mintából és ezt a cseppet mértem meg a Nanodrop-al, ami megmutatja a cseppben található nukleinsav koncentrációját $\text{ng}/\mu\text{l}$ -ben (**19. ábra**).



19. ábra: Nanodrop műszer (bal oldal), műszerbe mért csepp (középen), és a mért koncentráció görbéje (jobb oldal) (Mónos Gréta, 2024)

3.3.3. Egyed pool-ok és hely pool-ok meghatározása

A mintákból a 3 mintagyűjtési hely szerint (3 hely pool-t vagyis keveréket készítve) terveztünk HTS alapú szekvenálást. Ehhez először egyed pool-okat készítettem, mert ezekből kerülnek majd összemérésre a mintagyűjtési helyet reprezentáló pool-ok (**5. táblázat**). Az egyed pool-okból először faj pool-ok készültek, majd ezekből került összemérésre a mintagyűjtési hely szerinti pool. Annak, hogy az RNS minták nem egyszerre kerülnek összemérésre egy pool-ba a visszaigazolások miatt van jelentősége, mert így a HTS-t követően a bioinformatikai módszerrel azonosított vírusok független visszaigazolása faj szinten is elvégezhető lesz. Az egyed pool készítéshez $5\text{ }\mu\text{g}$ nukleinsavat mértem össze az adott egyedhez (növényhez) tartozó

RNS kivonatokból, nukleinsav koncentráció alapján. Ez alapján minden helyszínhez 5 db egyed pool készült, a helyszínenként vett 5 növényfaj szerint. Az összemért 3x5 egyed pool RNS koncentrációját is meghatároztam. A hely szerinti pool-ok elkészítéséhez 7 µg nukleinsavat mértem ki az adott helyhez tartozó egyed pool-okból. A pool-ok készítéséhez a fagyasztóból kivett mintákat jégen kiolvastottam, majd vortexeltem és rövid ideig centrifugáltam, ezt követően mértem össze a pool-okat, amit összemérés után újból vortexeltem és rövid ideig centrifugáltam, majd a kész pool nukleinsav koncentrációját mértem meg. A 3 mintagyűjtési helyszínhez (I, II, II), helyszínenként 3x5 db egyed pool és 3x1 db hely pool tartozik, mely utóbbi 3 hely szerinti pool kerül szekvenálásra.

5. táblázat: Az I. mintagyűjtési hely pool készítésének adatai

Minta	RNS minta jelölése	Egyed	RNS mennyisége (ng/µl)	Egyed pool µl (5 µg, 10 µg)	Faj pool helyszínenként µl	Faj pool neve	RNS mennyisége (ng/µl)	Faj pool µl (7 µg)	Hely pool µl	Hely pool neve	RNS mennyisége (ng/µl)	DNáz kezelt minta neve	RNS mennyisége (ng/µl)	260/280	260/230
I/1	MG3/1	Kukorica	2178	2,30	16,05	MG12/1	1691,5	4,14	29,62	MG12/16 (Hely pool I.)	1147,5	MG13/1	526,3	2,13	1,41
I/2	MG3/2		1469,6	3,40											
I/3	MG3/3		1108	4,51											
I/4	MG3/4		1820,2	2,75											
I/5	MG3/5		1617,2	3,09											
I/6	MG3/6	Echinocloa crus-galli	1948,9	2,57	16,76	MG12/2	1245,6	5,62							
I/7	MG3/7		956,7	5,23											
I/8	MG3/8		1251,5	4,00											
I/9	MG3/9		3486,4	1,43											
I/10	MG3/10		1411,5	3,54											
I/11	MG3/11	Setaria viridis	672,6	7,43	27,73	MG12/3	838,30	8,35							
I/12	MG3/12		1515,7	3,30											
I/13	MG4/1		639,3	7,82											
I/14	MG4/2		1079,6	4,63											
I/15	MG4/3		1100,7	4,54											
I/16	MG4/4	Chenopodium hybridum	1377,3	7,26	19,52	MG12/4	1291,90	5,42							
I/17	MG4/5		1402,9	7,13											
I/18	MG4/6		1948,2	5,13											
I/19	MG4/7	Chenopodium album	1731,1	5,78	24,52	MG12/5	1149,50	6,09							
I/20	MG4/8		910,4	10,98											
I/21	MG4/9		1288,2	7,76											

3.3.4. Minták DNáz kezelése

Szekvenálásra küldés előtt a kész hely pool-okat DNáz kezelni kell, hogy a mintákban csak RNS-ek maradjanak. Ehhez a fagyasztóban tárolt mintákat kivettem a fagyasztóból és jégen kiolvastottam és vortexeltem. A DNáz kezeléshez a (a 3 hely pool-ból) 15 µg nukleinsavra van szükségünk, aminek a µl mennyiségét a már lement RNS koncentrációból (nanodrop mérés) határoztam meg. A 3 mintából kivettem a 15 µg nukleinsavat és ehhez hozzáadtam 5 µl NEB 10x DNáz puffert, majd 15 µl NEB DNáz enzimet, utána 1 µl Ribolock-ot, végül a reakció térfogatát steril vízzel 50 µl -re egészítettem ki. A kapott mintát vortexeltem, majd 37 °C-ra 30 percre vízfürdőbe tettem. A vízfürdőből kivett mintákhoz hozzáadtam 150 µl steril vizet, majd 200 µl Fenol-kloroformot fülke alatt, és vortexeltem a mintákat, ezt követően pedig centrifugába helyeztem őket 5 percre 15.000 rpm-en. A centrifugálás után a felülúszót új eppendorf csövekbe mértem, amihez 22 µl 4 M Nátrium-acetátot és 500 µl hideg, tömény etanolt adtam, ezt követően csak forgatva kevertem a mintákat, majd -20 °C-ra fagyasztóba tettem egy éjszakára. Másnap a fagyasztóból kivett mintákat centrifugába tettem 30 percre (4

°C-on 15.000 rpm). A centrifugálás után a mintákról (melyekben alul csapadék keletkezett) leöntöttem a folyadékot és 1 ml 70%-os etanollal mostam, majd 5 percig 15.000 rpm-en centrifugáltam, és ezt követően leöntöttem a tetejéről az etanolt. A csöveket fejjel lefelé papírtörőre állítva szárítottam, a csőben maradt alkoholt lecsepegtettem és 8 percig nyitott tetővel szobahőmérsékleten hagytam száradni. Ezt követően a csapadék visszaoldás és futtatás már megegyezik az RNS tisztítás során leírtakkal, azt kivéve, hogy a denaturálás futtatás előtt 65 °C-on 10 percig tart. A futtatásra itt is az RNS lebomlásának ellenőrzése miatt van szükség. Végül Nanodrop-pal megmértem a minták koncentrációját. A három DNáz kezelt hely pool-ból 10 µl lett elküldve RNS szekvenálásra.

3.3.5. A hely pool-ok szekvenálása

A három hely pool a DNáz kezelést követően a Novogen Illumina platformján került szekvenálásra, a Novogen cég által. Az elküldött mintákat először minőségellenőrzésnek (quality control – QC) vetik alá, ezzel ellenőrzik, hogy az elküldött minta megfelel-e az RNS szekvenálás követelményeinek. A szekvenálásra küldött minták a teljes (total) RNS-t, tehát mind a növényi szervezet, mind a virális kórokozók RNS-ét tartalmazzák, ezért a szekvenálás előtt eltávolítják a minták növényi riboszómális RNS (rRNS) tartalmát. Szekvenálás előtt előkészítik az RNS könyvtárat. Az RNS mintákról cDNS-t írnak át, majd fragmentációval kisebb részekre darabolják a cDNS-t, hogy minél több helyen tudjon elindulni a szekvenálási reakció. Ezt követően a ligálás következik, vagyis 150 nukleotid hosszúságú adaptereket kötnek minden fragment 5' és 3' végéhez. Ezekre a lépésekre azért van szükség, hogy a minta megfelelő legyen az Illumina platform szekvenálásához, majd ezt követően újabb minőségellenőrzés történik, és ez után következik a szekvenálás. A szekvenálás után az eredményeket először ellenőrzik (Data QC), és csak ez után következik a bioinformatikai elemzés. Az eredmények FAST Q fájlban olvashatók.

3.3.6. A HTS bioinformatikai elemzése

A kapott szekvenciákat a CLC Genomic Workbench (Qiagen) programmal elemeztem. Elsőként a CLC Genomic Workbench programba importáltam a 3 hely pool szekvenálás FASTQ fájljait. Ezt követően a szekvenciák trimmelése következett, mely során levágtam a 150 nukleotid hosszúságú adaptereket a szekvenciákról (olvasat, más néven read). A trimmelt olvasatok átfedő szakaszai alapján, kontigokat vagyis hosszabb szekvenciákat hoztam létre. Ezeket a kontigokat illesztettem az NCBI referenciagenom adatbázisához BLAST algoritmus segítségével, mely hasonlóságok keresésére alkalmazható. Eredményül egy listát kaptam a

mintákban potenciálisan előforduló vírusokról, melyek valószínűségét az E-value mutatja. Az E-value alapján a legvalószínűbb (0 E-value) értékkel rendelkező vírusokkal dolgoztam tovább. A bioinformatikai elemzéssel kimutatott vírusokat RT-PCR-rel igazoltam vissza.

3.3.7. cDNS szintézis

A vizsgált RNS vírusok PCR-rel történő kimutatásához komplementer, vagyis cDNS-t kell szintetizálni reverz transzkriptáz enzimmal, mivel a PCR során használt DNS polimeráz enzim csak DNS templátot tud átírni. A cDNS átírásához a Thermo Scientific Maxima H Minus Reverse Transcriptase és a Thermo Scientific Revert Aid Reverse Transcriptase kiteket használtam. A két kit között az a különbség, hogy a Maxima H Minus reverz transzkriptáz hosszabb szakaszokat (kb. 20 kb-ig) is képes megbízhatóan átírni, míg a Revert Aid reverz transzkriptáz csak rövidebb szakaszok (kb. 13 kb) cDNS szintézisére alkalmas. Az RNS megóvása miatt végig jégen dolgoztam.

3.3.7.1. cDNS szintézis a Thermo Scientific Maxima H Minus Reverse Transcriptase kit-tel

Az RNS mintákat jégen kiolvastottam, majd mintánként egy 0,5 ml-es PCR eppendorf csőbe kimértem 3 µl RNS templátot, ehhez hozzáadtam 1 µl random primert és 9,5 µl MQ vizet. Az összemért mintákat vortexeltem, centrifugáltam, majd 65 °C-on 5 percig inkubáltam, és ezt követően jégre tettem. A gyártó által előírt protokoll szerint minden mintához hozzáadtam 1 µl dNTP-t, 4 µl 5x puffert, 0,5 µl Ribolock RNase Inhibitort, 1 µl Maxima H Minus Reverse Transcriptase (200 U/ µl) enzimet. Az összemért mintákat vortexeltem és röviden centrifugáltam. A reakció optimális hőmérsékletei az alábbiak szerint zajlott:

25 °C	50 °C	65 °C	85 °C
10 perc	30 perc	10 perc	5 perc

3.3.7.2. cDNS szintézis a Thermo Scientific Revert Aid Reverse Transcriptase kit-tel

Ebben az esetben is első lépésként jégen kiolvastottam az RNS mintákat, majd mintánként egy 0,5 ml-es PCR csőbe kimértem 500 ng-nak megfelelő RNS templátot, 0,25 µl random primert, és annyi MQ vizet, hogy az összemért minta végtérfogata 3 µl legyen. Az összemért mintákat ebben az esetben is vortexeltem, centrifugáltam, majd 65 °C-on 5 percig inkubáltam és ezt követően jégre tettem. A Revert Aid kit által előírt protokoll szerint minden mintához hozzáadtam 0,5 µl dNTP-t, 1 µl RT puffert, 0,25 µl RiboLock RNase Inhibitort-t és 0,25 µl

Revert Aid Reverse Transcriptase (200 U/) enzimet. Az összemért mintákat vortexeltem és röviden centrifugáltam. A reakció optimális hőmérsékletei az alábbiak szerint történt.

25 °C	42 °C	45 °C	70 °C
10 perc	60 perc	10 perc	10 perc

3.3.7.3. A cDNS minőségének ellenőrzése (aktin gén teszt)

A cDNS szintézis során amplifikált cDNS minőségének ellenőrzéséhez aktin tesztet alkalmaztam. Az aktin egy olyan konzervatív gén, ami szinte minden élőlényben megtalálható. A protokoll szerint a cDNS mintákból kimértem 0,5 µl-t cDNS templátot egy-egy eppendorf csőbe. A kimért templátok mindegyikéhez hozzáadtam 9,5 MQ vizet, 3 µl 5xPhire puffert, 0,75 µl Vvactin600 forward primert, 0,75 µl VVactin1200 reverz primert, 0,3 µl dNTP-t és 0,2 µl Phire Hot Start Polymerase enzimet. Az összemért mintákat vortexeltem és röviden centrifugáltam. A PCR után az ellenőrzéshez a mintákból 6 µl-t 1,2%-os agaróz gélen futtattam. A PCR reakció hőmérséklet beállításai az alábbiak szerint történt.

98 °C	98 °C	55 °C	72 °C	72 °C
30s	10s	10s	20s	1min
40x				

3.3.8. Vírus specifikus RT-PCR tesztek

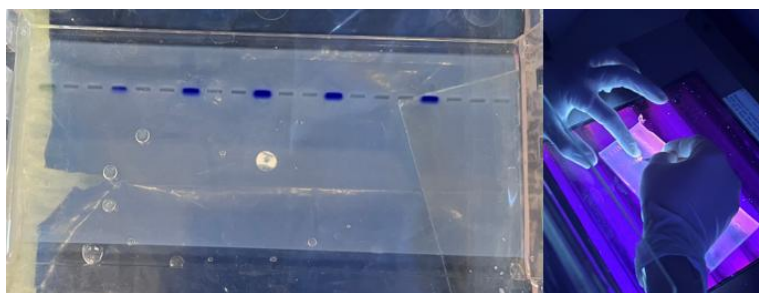
3.3.8.1. PCR Q5 enzimmel

A szekvenálás eredményeként kapott vírusok közül a WSMV-t PCR-rel igazoltam vissza a mintákból. A WSMV visszaigazolásához a WSMV-8499F forward primer: 5'-ATGTGCAAGATCAGACACCAGGC-3', és a WSMV-9253R reverz primer: 5'-TAGTTTCTACTGTGCTCACGCAAG-3' 10x-es hígítását használtam. A visszaigazolásokhoz a hely pool-ok, faj pool-ok és egyed pool-ok cDNS átirata szolgált templátként. A 0,5 µl cDNS templáthoz mintánként 9 µl MQ-t, 3 µl 5x Q5 puffert, 1 µl WSMV-8499F primert, 1 µl WSMV – 9253R primert, 0,3 µl 10mM dNTP-t és 0,2 µl Q5 polimeráz enzimet mértem hozzá. A mintákat vortexeltem és röviden centrifugáltam. A beállított PCR program hőmérsékletei az alábbiak szerint történt. A PCR reakció eredményének értékeléséhez a PCR termékeket 1,2%-os agaróz gélen futtattam. A gélelektroforézishez a mintákat DNS festékkel festettem meg.

98 °C	98 °C	64,5 °C	72 °C	72 °C
30 sec	30 sec	30 sec	1min	2min
40x				

3.3.9. PCR termék tisztítása

A WSMV-re elvégzett PCR során pozitív eredményt mutató minták 1,2%-os agaróz gélből való tisztítását a NucleoSpin Gel and PCR Clean-up Kit (Macherey-Nagel, 2022) segítségével végeztem el, a gyártó utasításait követve. A kapott PCR termékeket steril szikével UV fény alatt vágtam ki az agaróz gélből (**20. ábra**), ezt követően a mintákhoz 200 µl Buffer NTI-t adtam, majd 50 °C-on inkubáltam 10 percig. Az inkubálás közben kétszer vortexeltem a mintákat, hogy könnyebben feloldódjanak a géldarabok. Ezt követően a kit-hez tartozó filteres csőbe pipettáztam át a mintákat és 30 másodpercig 13.000 rpm-en centrifugáltam, mely során a DNS a filterhez kötődött. A filteren átfolyt folyadékot eltávolítottam. A filterre 700 µl Buffer NT3-at pipettáztam és 30 másodpercig centrifugáltam 13.000 rpm-en, a filteren átfolyt folyadékot eltávolítottam, és ezt a lépést megismételtem. A centrifugálás után újra eltávolítottam az átfolyt folyadékot és ezt követően 2 percig üresen centrifugáltam 13.000 rpm-en a mintát tartalmazó csöveket. Végül a mintákhoz 25 µl előzőleg 60 °C-on inkubált elúciós puffert adtam, és 1 percig 13.000 rpm-en centrifugáltam. A mintákból 3 µl -t megfestettem 5 µl DNS festékkel, majd a sikeres tisztítást 1,2%-os agaróz gélen futtatással ellenőriztem.

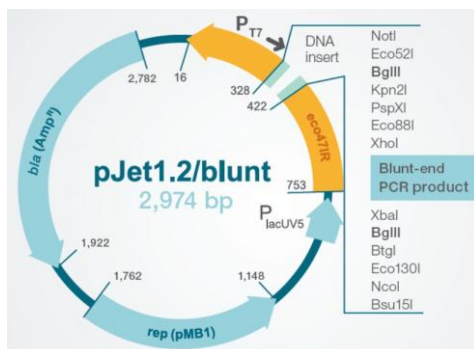


20. ábra: A PCR termék futtatása (bal) és kivágása a gélből UV alatt (jobb) (Mónos Gréta, 2025)

3.3.10. Ligálás, klónozás, transzformálás

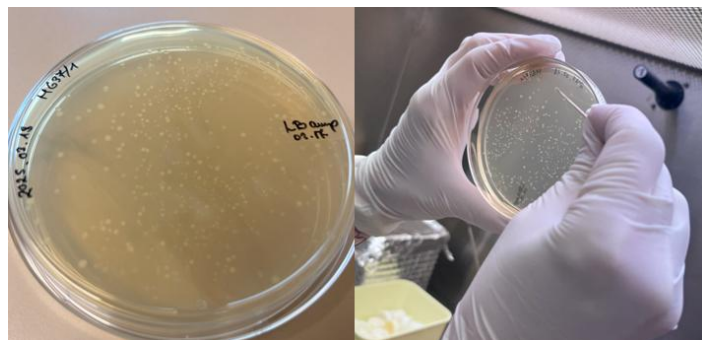
A gélből tisztított PCR termékeket (inzert DNS) baktérium plazmidba építettem, mert a plazmid szekvenálásakor a plazmidra tervezett indítószekvenciákat használva a teljes klónozott DNS szakasz szekvenciája meghatározható. Ehhez a CloneJet PCR Cloning Kit (Thermo Scientific) CloneJet (PJet 1.2/blunt) (**21. ábra**) vektorát használtam, melybe a tisztított PCR terméket beépítettem, ligáltam. A DNS szakasz vektorba való ligálásához az alábbi elegyet mértem

össze: 5 µl 2x reakció puffer, 0,5 µl pJet 1.2/blunt vektor, 1 µl MQ, 0,5 µl ligáz enzim 3 µl tisztított PCR termék. A ligáz enzim lehetővé teszi az inzert DNS vektorba való beépülését. Az összemért 10 µl végtérfogatú elegyet szobahőmérsékleten 15 percig inkubáltam annak érdekében, hogy a PCR termék a vektorba integrálódjon.



21. ábra: pJET 1.2/blunt vektor ([http11](http://11))

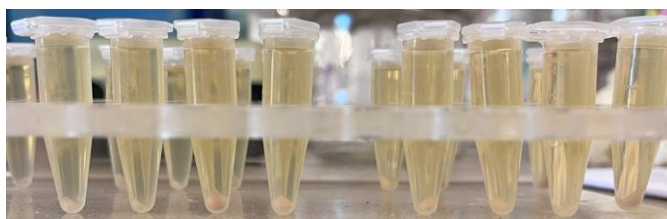
Következő lépésként a ligátumot baktériumba transzformáltam, mert így a plazmidot tartalmazó baktériumokat felszaporítva, nagyobb mennyiségű, egy ligálási folyamatból származó plazmidot (klónt) tudunk tisztítani. A transzformáláshoz DH5α kompetens baktérium sejteket használtam, melyek sejthártyája könnyebben átjárható. A transzformálás során 5 µl ligátumot adtam 100 µl kompetens sejthez és ezt 20 percig hagytam jégen. Ezt követően 30 másodpercig 42 °C-os vízfürdőben hősokkoltam, majd újra jégre helyeztem. A hősokk után fülke alatt a szuszpenzióhoz adtam 500 µl SOC táptalajt és 37 °C-ra rázó termosztátba helyeztem 40 percre a mintákat. A rázógépből kikerült baktérium szuszpenzióból 200 µl-t szilárd, szobahőmérsékletű ampicillin antibiotikumot tartalmazó LB táptalajra szélesztettem, majd ezt 37 °C-ra termosztátba helyeztem egy éjszakára, hogy a baktérium telepek fel tudjanak nőni (**22.ábra**). A táptalajon csak azok a baktériumok képesek felnőni, melyek tartalmazzák az inzerttel ligálódott vektort. A táptalajon felnőtt telepekből négyet-négyet folyékony ampicillin tartalmú LB tápoldatba oltottam, majd 37 °C-ra rázó termosztátba helyeztem egy éjszakára.



22. ábra: A táptalajon felnőtt baktériumok (Mónos Gréta, 2025)

3.3.11. Plazmid tisztítás baktériumtenyészetből

A baktériumok által felszaporított plazmidot NucleoSpin Plasmid DNA purification Kit (Macherey-Nagel) segítségével tisztítottam ki, a gyártó utasításait követve. A tápoldatban felnevelt baktérium tenyészetet egy eppendorf csőben 3 percig 8.000 rpm-en centrifugáltam. Centrifugálás után a felülúszót leöntöttem és a cső alján található a baktériumsejteket pufferekkel kezeltem tovább a gyártó utasításai szerint (**23.ábra**). Elsőként 250 µl A1 RNÁzt tartalmazó reszuszpendáló puffert adtam hozzá. Ezt követően 250 µl A2 lízis puffert adtam hozzá, ami a sejtek lízisét eredményezi. Utána az A3 puffert hozzáadva a sejtekből kiszabadult denaturált DNS-t centrifugáltam 5 percig 13.000 rpm-en, ennek eredményeként a felülúszóban megtalálható a plazmid DNS. A felülúszót egy szűrővel ellátott oszlopos csőre mértem rá és centrifugáltam 1 percig 13.000 rpm-en. A gyűjtőcső aljáról leöntöttem a folyadékot, és az oszlopra 500 µl AW puffert mértem és centrifugáltam 1 percig 13.000 rpm-en. A cső alján összegyűlt folyadékot ismét leöntöttem és az oszlopra 600 µl A4 puffert pippettáztam, ezt követően centrifugáltam 3 percig 13.000 rpm-en, majd az alul összegyűlt folyadékot leöntve ismét centrifugáltam 3 percig. Végül a szűrőre 50 µl elúciós puffert mértem és 1 percig centrifugáltam. A cső alján összegyűlt folyadékban megtalálható a megtisztított plazmid.



23. ábra: Centrifugálás után a cső alján látható baktériumsejtek (Mónos Gréta, 2025)

3.3.12. Tisztított plazmidok restrikciós emésztése

A plazmidok restrikciós emésztésével a ligálás sikerességét ellenőriztem. Ennek során a plazmidot az XhoI XbaI enzimekkel emésztettem. Az emésztéshez az alábbi elegyet mértem össze mintánként: 2 µl 10x Tango Puffer, 0,4 µl XbaI enzim, 0,2 µl XhoI enzim, 5,4 µl MQ, amihez 2 µl-t adtam a plazmidot tartalmazó mintából és vortexelés után 37 °C-os vízfürdőben 1 óráig inkubáltam a mintákat. A minták megfestése után az emésztés sikerességét 1,2%-os agaróz gélelektroforézissel ellenőriztem. Az emésztési reakció elegyet az emésztetlen plazmid minta mellett futtattam az agaróz gélen, így láthatóvá vált a klónozó helyre beépült DNS szakasz.

3.3.13. Sanger szekvenálás és szekvenciák elemzése

A minták szekvenálása a BIOMI Kft. által Sanger szekvenálással történt a plazmid klónozó régióján kívül illeszkedő primerek felhasználásával forward és reverz irányból. A kapott szekvenciákat a Chromas 2.6.6 programban dolgoztam fel, a forward és reverz szekvenciák összeillesztését pedig az NCBI adatbázisában BLAST algoritmussal végeztem. Az összeillesztett szekvenciákat az NCBI adatbázisában található referencia szekvenciával (NC_001886) hasonlítottam össze. A szekvenciák filogenetikai elemzését a Geneious Prime programban végeztem. A filogenetikai fa elkészítéséhez a szekvenciák illesztéséhez a Geneious Align algoritmust, a filogenetikai fa elkészítéséhez a Geneious Tree builder algoritmust alkalmaztam, 1000x bootstrap ismétléssel, mely a Jukes-Cantor modelt használja Neighbour-Joining analízishez.

4. Eredmények és értékelésük

4.1. A gyomfelvételezések eredményei

A tarló felmérését 2024.04.14-én végeztem el. Az elővetemény (búza) betakarítása után, nem történt sem mechanikai sem kémiai gyomszabályozás a táblán, ezért a tarló gyomborítottsága jelentős volt (**24. ábra**), számos fejlett T1-es, T4-es és G3-as növény borította a táblát (**6. táblázat**). Legnagyobb borításban a *Stellaria media*, *Lamium amplexicaule*, *Lamium purpureum*, *Chenopodium album* és a *Convolvulus arvensis* fordult elő, valamint jelentős volt még a *Chenopodium hybridum*, *Ambrosia artemisiifolia*, *Fallopia convolvulus*, az egyszikűek közül pedig az *Echinochloa crus-galli* és *Setaria viridis* volt jelentős mértékben a táblán. Összesen 35 gyomfaj került felvételezésre.

6. táblázat: A tarlón előforduló gyomfajok életforma csoportok szerint

Életforma csoportok	Előforduló fajok
T1	<i>Stellaria media</i> , <i>Lamium amplexicaule</i> , <i>Lamium purpureum</i> , <i>Veronica persica</i> , <i>Veronica hederifolia</i> , <i>Capsella bursa pastoris</i> , <i>Senecio vulgaris</i>
T2	<i>Papaver rhoeas</i> , <i>Viola arvensis</i> , <i>Adonis aestivalis</i> , <i>Anthemis austriaca</i>
T3	<i>Descurainia sophia</i> ,
T4	<i>Chenopodium album</i> , <i>Chenopodium hybridum</i> , <i>Abutilon theophrasti</i> , <i>Ambrosia artemisiifolia</i> , <i>Datura stramonium</i> , <i>Helianthus annuus</i> árvakelés, <i>Euphorbia helioscopia</i> , <i>Anagallis arvensis</i> , <i>Echinochloa crus-galli</i> , <i>Fallopia convolvulus</i> , <i>Setaria viridis</i> , <i>Digitaria sanguinalis</i> , <i>Amaranthus retroflexus</i> , <i>Lactuca serriola</i> , <i>Panicum miliaceum</i>
G1	<i>Calystegia sepium</i> , <i>Cynodon dactylon</i> , <i>Calystegia sepium</i>
G2	<i>Mentha arvensis</i>
G3	<i>Cirsium arvense</i> , <i>Convolvulus arvensis</i>
H5	<i>Plantago maior</i>
HT	<i>Carduus nutans</i>



24. ábra: A tarló állapota áprilisban, gyomnövények alulról felfelé: *Chenopodium hybridum*, *Helianthus annuus* árvakelés, *Cirsium arvense*, *Lamium purpureum* (Mónos Gréta, 2024)

Az állományban összesen 4 gyomfelvételezés történt, ezek összefoglaló eredményeit a **7. táblázat** tartalmazza.

7. táblázat: A gyomnövények átlagos borítási értéke (%) a gyomfelvételezések során

Gyomnövény tudományos neve	Gyomfelvételezések időpontjai			
	2024.05.10.	2024.06.13.	2024.07.05.	2024.09.01.
<i>Convolvulus arvensis</i>	7,5	6,2	1,45	7,05
<i>Chenopodium album</i>	2,2	-	0,5	-
<i>Ambrosia artemisiifolia</i>	1,65	1,2	2,25	0,7
<i>Amaranthus retroflexus</i>	0,5	12,05	4,7	-
<i>Setaria pumila</i>	0,55	12,35	-	-
<i>Setaria viridis</i>	8,3	2,9	11,2	8,45
<i>Helianthus annuus</i>	1,4	1,2	-	-
<i>Echinochloa crus-galli</i>	1,05	0,25	1,8	-
<i>Fallopia convolvulus</i>	1,45	-	-	-
<i>Veronica hederifolia</i>	0,2	-	-	-
<i>Stellaria media</i>	0,6	-	-	-
<i>Cirsium arvense</i>	4,9	-	-	-
<i>Abutilon theophrasti</i>	1,1	-	-	-
<i>Viola arvensis</i>	0,1	-	-	-
<i>Capsella-bursa pastoris</i>	0,05	-	-	-
<i>Veronica persica</i>	-	0,41	0,2	-
<i>Digitaria sanguinalis</i>	0,65	0,35	0,9	1,4
<i>Portulaca oleracea</i>	-	0,05	0,5	-
<i>Chenopodium hybridum</i>	0,1	-	0,4	-
<i>Mentha piperita</i>	-	-	1,3	-
<i>Plantago maior</i>	-	-	0,2	-
<i>Taraxacum officinale</i>	-	-	0,1	-
Összes gyomfaj (db)	17	10	13	4
Összes gyomborítás %	32,3	36,96	25,5	17,6

4.1.1. Első gyomfelvételezés eredményei

Az első gyomfelvételezést a kukorica 3 leveles állapotában május 10-én végeztem, mely során a legnagyobb borításban a T4-esek voltak, így a *Chenopodium album*, *Ambrosia artemisiifolia*, *Helianthus annuus* árvakelés, valamint egyszikűek közül az *Echinochloa crus-galli*, de nagy borításban volt még a G3-as életformájú *Convolvulus arvensis* és a *Cirsium arvense* is. A teljes táblán a gyomborítottság körülbelül 32%-os volt, összesen 17 gyomfajt vételeztem fel a 10 mintavételi pontban. A tarló állapotához képest csökkent a gyomok száma, de az évelők így is meghatározóak maradtak a herbicides kezelés ellenére.

4.1.2. Második gyomfelvételezés

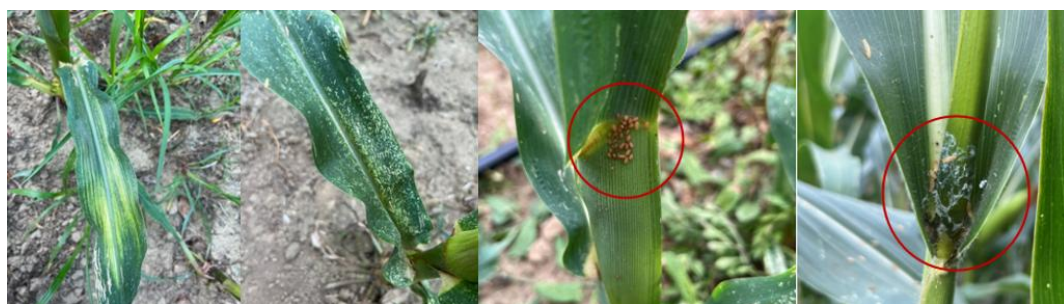
A gyomirtást után a második gyomfelvételezésre június 13-án került sor, eddigre már körülbelül 3 hét telt el a gyomirtást követően és már 8 levelesnél fejlettebb volt a kukorica. Legnagyobb számban *Setaria viridis* és az *Amaranthus retroflexus* fordult elő. A tábla teljes gyomborítottsága körülbelül 37%-os volt, és összesen 10 faj került felvételezésre. Megfigyelhető volt a herbicid hatásra a *Chenopodium album*, *Ambrosia artemisiifolia*, *Helianthus annuus* és a *Cirsium arvense* száradása, valamint az egyszikűek antociánosodása is (25. ábra).



25. ábra: A gyomirtó szeres (Principal Plus Phyton) kezelés hatása a gyomnövényeken (bal oldal) és erős antociánosodást mutató *Echinochloa crus-galli* (jobb oldal) (Mónos Gréta, 2024)

4.1.3. Harmadik gyomfelvételezés

A harmadik gyomfelvételezést július 5-én végeztem el, ekkor már a kukorica a címerhányás állapotában volt. A gyomborítottság összesen 25,5% volt, legnagyobb arányban a *Setaria viridis* fordult elő, de továbbra is jelentős volt az *Ambrosia artemisiifolia* és az *Echinochloa crus-galli* is. Ennél a gyomfelvételezésnél már megfigyelhető volt mind a kukorica állomány, mind a gyomnövények szívogatottsága, számos kukorica egyeden csíkoltság volt látható (**26. ábra**). A tüneteket a leveleken a szántóföldi megfigyeléseim alapján a következő kártevők okozták: levéltetvek (*Rhopalosiphum padi*, *Rhopalosiphum maidis*), nagy számban volt a táblán *Oulema melanopus* (rágásnyomok a levelen) valamint kabócák (*Metcalfa pruinosa*) és poloskák (*Nezara viridula*, *Lygus pratensis*) is jelentős mértékben megfigyelhetőek voltak (**26. ábra**)



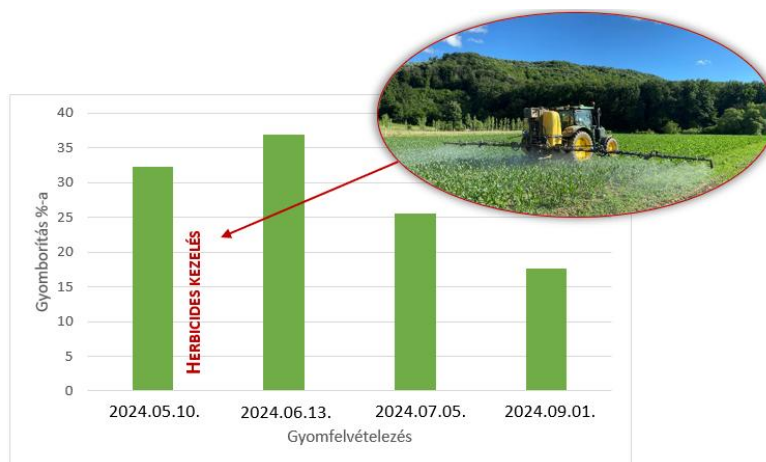
26. ábra: Csíkoltságot mutató és szívogatott kukorica levél (bal). Levéltetvek (középen) és amerikai lepkekabóca viaszpelyhe (jobb oldal) (Mónos Gréta, 2024)

4.1.4. Negyedik gyomfelvételezés

A negyedik egyben az utolsó gyomfelvételezés szeptember elsején készült. Az előző gyomfelvételezésekhez képest jelentősen lecsökkent a fajok száma, a gyomborítottság összesen

17,6 % volt, és már csak 4 gyomfaj fordult elő a felvételezett parcellákban. Legjelentősebb a *Setaria viridis* és a *Convolvulus arvensis* volt, de továbbra is megtalálható volt az *Ambrosia artemisiifolia* és a *Digitaria sanguinalis*.

A gyomfelvételezések alapján a táblán a legjelentősebb gyomok a T4-es életformacsoportú *Setaria viridis*, *Echinochloa crus-galli*, *Chenopodium* és *Amaranthus* fajok, valamint a G3-as életformájú *Convolvulus arvensis* voltak. A gyomborítottság alakulását a 4 gyomfelvételezés során az alábbi diagram mutatja (27. ábra). Látható, hogy a posztemergens herbicides kezelés hatásaként a 2. gyomfelvételezés után lecsökkent a gyomborítottság a táblán.



27. ábra: A gyomborítottság alakulása a gyomfelvételezések során

4.2. A szántóföldi mintagyűjtés eredménye

A július 18-án történt mintagyűjtéskor tapasztaltak szerint, a gyomfelvételezéseket megerősítve is látható volt, hogy a táblán nagy gyakorisággal fordultak elő a *Setaria viridis*, *Echinochloa crus-galli*, *Convolvulus arvensis*, valamint a *Chenopodium* és *Amaranthus* fajok. A mintagyűjtéshez táblán felmért kukorica állomány nagy részén szívogatott, rágásnyomokat mutató és csíktolt levelek is vannak, valamint a gyomok nagy része is szívogatott, és elszíneződést, antociánosodást mutat. Ezen tüneteket mutató egyedeket preferáltuk kiválasztani a mintagyűjtés során. A táblán kiválasztott három mintavételi pont mindegyikén a kukorica mellett négy gyomfaj került mintázásra, melyből két gyomfajt (*Echinochloa crus-galli*, *Setaria viridis*) mindegyik pontról mintáztunk. Minden mintagyűjtési pontról 21 egyed és egyedenként 3 levél került begyűjtésre. Az alábbi táblázatokban (9. táblázat, 10. táblázat, 11. táblázat) részletesen látható a mintavételezési pontok szerint gyűjtött kiválasztott gyomfajok száma a rajtuk látható tünettel. A tünetekhez pedig az alábbi táblázat (8. táblázat) és 28. ábra tartalmaz bővebb magyarázatot.

8. táblázat: A tünetek magyarázata

Tünet	Magyarázata
csíkoltság	erekkel párhuzamosan világosabb (halvány zöldes-sárgás) csíkok a levélen
gyűrött, ráncos, behúzott	a levélnek sodrott, behajlott, gyűrű, hullámosodó, ráncos, fodrozott, összehúzott hatása van
gombás tünet	lilás-sötétbarnás apró kör alakú foltok a levéllemezen (Ramuláriára emlékeztető)
szívogatás	a levéllemezen sok apró kivilágosodó folt található (poloska, levéltetű)
rágásnyomok	átrágott, hámozgatott levéllemez, hosszabb-rövidebb csíkokkal (<i>Oulema melanopus</i>)
antociánosodás	lilás, vöröses színárnyalatok megjelenése



28. ábra: Tünetek gyomnövényeken és kukoricán: A: szívogatás, B-C: gombás tünetek, D: csíkoltság és ráncosodás, E: antociánosodás, F: klorózis, G: rágásnyomok (Mónos Gréta, 2024)

Az 1.mintavételezési ponton a kukorica mellett begyűjtött gyomok az *Echinochloa crus-galli*, *Setaria viridis*, *Chenopodium hybridum* és *Chenopodium album* voltak (**9. táblázat**).

9. táblázat: Az 1. mintavételezési pont mintagyűjtése

Minta	Egyed	Hány db	Tünet
I/1	Kukorica	3 db	csíkoltság
I/2		3 db	gyűrött hatású, törpült egyed
I/3		3 db	csíkoltság, viaszos bevonat (<i>Metcalfa pruinosa</i>)
I/4		3 db	<i>Metcalfa pruinosa</i> -viasz bevonat, csíkoltság, levelek, rágásnyomok (<i>Oulema</i> , <i>Diabrotica</i>)
I/5	<i>Echinochloa crus-galli</i>	3 db	csíkoltság
I/6		3 db	gyűrött, szívogatott
I/7		3 db	rágásnyomok, szívogatott
I/8		3 db	fodrozott szél, rágások, csíkoltság
I/9		3 db	csíkoltság, gyűrött hatás, gomba szerű tünetek (Ramulária)
I/10	<i>Setaria viridis</i>	3 db	gomba szerű tünetek (Ramulária), gyűrött hatás, csíkoltság
I/11		3 db	gyűrött hatás, lilás elszíneződés
I/12		3 db	gombás tünetek (Ramulária), gyűrött hatás
I/13		3 db	gombás tünetek (Ramulária), gyűrött hatás
I/14		3 db	gombás tünetek (Ramulária)
I/15	<i>Chenopodium hybridum</i>	3 db	gyűrött hatás, gombás tünetek (Ramulária)
I/16		3 db	szívogatott levél (poloskák)
I/17		3 db	szívogatott levél
I/18	<i>Chenopodium album</i>	3 db	szívogatott levél
I/19		3 db	szívogatott levél
I/20		3 db	szívogatott levél
I/21		3 db	szívogatott levél

A 2.mintavételezési ponton a kukorica mellett begyűjtött gyomok az *Echinochloa crus-galli*, *Setaria viridis*, *Datura stramonium* és *Chenopodium album* voltak (**10. táblázat**).

10. táblázat: A 2. mintavételezési pont mintagyűjtése

Minta	Egyed	Hány db	Tünet
II/1	Kukorica	3 db	klorotikus foltok, szívogatás, gyűrött hatású levelek
II/2		3 db	törpült egyed, szívogatott, klorotikus foltok, csíkoltság
II/3		3 db	törpült egyed, szívogatott foltok, gyűrött hatás
II/4		3 db	gyűrött hatás, szívogatott, rágásnyomok
II/5		3 db	gyűrött hatás, szívogatott, rágásnyomok
II/6	<i>Echinochloa crus-galli</i>	3 db	gyűrött hatás, szívogatott, rágásnyomok, gombás tünetek (Ramulária)
II/7		3 db	szívogatott, gyűrött hatás
II/8		3 db	szívogatott, gyűrött hatás
II/9		3 db	szívogatott, gyűrött hatás
II/10		3 db	gyűrött hatás, lilás elszíneződés, csíkoltság
II/11	<i>Setaria viridis</i>	3 db	gyűrött hatás
II/12		3 db	gyűrött hatás, behúzott levél, gombás tünetek (Ramulária)
II/13		3 db	gombás (Ramulária) tünet, behúzott, törpe egyed, gyűrött hatás
II/14		3 db	gyűrött hatás
II/15		3 db	gombás (Ramulária), gyűrött hatás
II/16	<i>Datura stramonium</i>	3 db	klorotikus foltok, szívogatás
II/17		3 db	klorotikus foltok, szívogatás
II/18		3 db	klorotikus foltok szívogatás
II/19	<i>Chenopodium album</i>	3 db	szívogatott levél
II/20		3 db	szívogatott levél, törpült egyed
II/21		3 db	antociános elszíneződés, szívogatott

A 3.mintavételezési ponton a kukorica mellett begyűjtött gyomok az *Echinochloa crus-galli*, *Setaria viridis*, *Convolvulus arvensis* és *Sorghum halepense* voltak (**11. táblázat**).

11. táblázat: A 3. mintavételezési pont mintagyűjtése

Minta	Egyed	Hány db	Tünet
III/1	Kukorica	3 db	szívogatott, gyűrött hatás, csíkoltság
III/2		3 db	csavarodott, szívogatott
III/3		3 db	szívogatott, gyűrött hatás
III/4		3 db	klorotikus elszíneződés, szívogatott
III/5		3 db	rágás, szívogatott, klorotikus
III/6	<i>Echinochloa crus-galli</i>	3 db	szívogatott, ráncos hatás
III/7		3 db	kissé szívogatott
III/8		3 db	ráncos hatás
III/9		3 db	gombás (Ramulária) tünet, ráncos hatás, húzott levél
III/10		3 db	ráncos hatás
III/11	<i>Setaria viridis</i>	3 db	antociános, gombás (Ramulária) tünet
III/12		3 db	antociános, gombás (Ramulária) tünet
III/13		3 db	antociános, hullámos szél levélen
III/14		3 db	ráncos hatás, lila erek
III/15		3 db	lilás ereket, gombás (Ramulária) tünet
III/16	<i>Convolvulus arvensis</i>	3 db	szívogatott levél
III/17		3 db	szívogatott levél
III/18		3 db	szívogatott levél
III/19	<i>Sorghum halepense</i>	3 db	gombás tünet (lilás foltok), csíkoltság, antociános
III/20		3 db	antociános foltok
III/21		3 db	antociános foltok, gombás tünet

A begyűjtött egyedek mindegyikéről fotó készült (29. *ábra*), valamint a laboratóriumi feldolgozásig -70 °C-ra fagyasztóba kerültek az elcsomagolt minták. Összesen 63 minta került begyűjtésre.

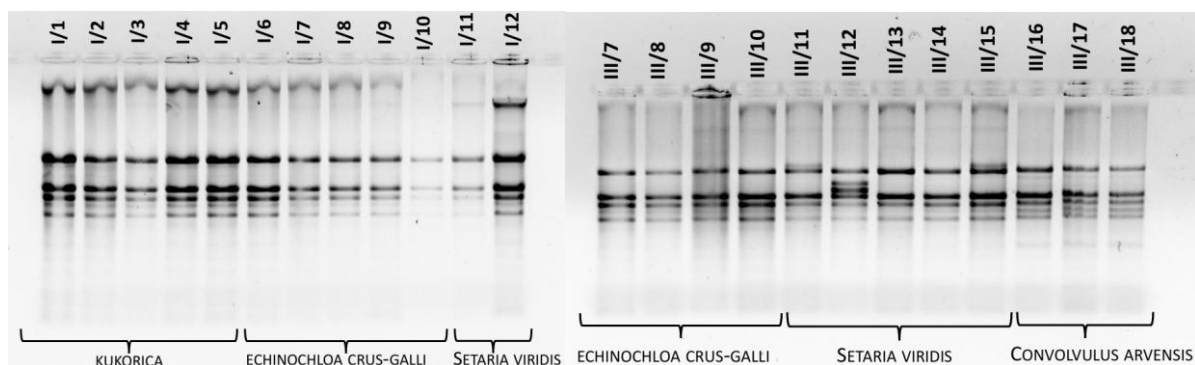


29. *ábra*: Begyűjtött növényekről készült fotók egy része (Mónos Gréta, 2024)

4.3. A laborvizsgálatok eredményei

4.3.1. Totál nukleinsav tisztítás eredményei

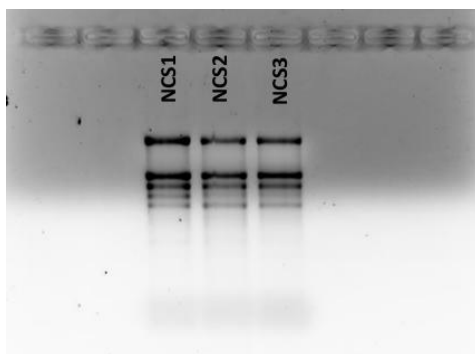
A szántóföldi mintagyűjtés utáni első lépés a totál nukleinsav tisztítás volt. A sikeres tisztítás ellenőrzése érdekében a mintákat 1,2%-os agaróz gélen futtattam, a gélképek alapján pedig megbizonyosodtam a megfelelő minőségű nukleinsavak izolálásáról. A gélelektroforézis alapján (30. *ábra*) mind a 63 minta esetében sikeres volt a nukleinsav tisztítás.



30. *ábra*: Az 1. mintavételezési pont (bal) és a 3. mintavételezési pont egyes egyedeinek gélképe.

A minták koncentrációját NanoDrop spektrofotométerrel megmértem, ez alapján kiszámoltam a hely pool-ok összeméréséhez szükséges RNS mennyiségeket. A három mintavételi pontot

reprezentáló hely pool-t (NCS1, NCS2, NCS3) DNáz-al kezeltem az Illumina platformon történő szekvenálásra való előkészítés érdekében. Ennek sikerességét 1,2%-os agaróz gélen futtatással ellenőriztem, mely sikeresnek bizonyult mind a három hely pool esetében (**31. ábra**).



31. ábra: A DNáz kezelt három hely pool (NCS1, NCS2, NCS3) gélképe

4.3.2. A bioinformatikai elemzés eredménye

A HTS eredményeként megkaptam a hely pool-ok szekvencia olvasatainak eredményeit. Az első hely pool-ban (NCS1) 23367582 olvasatot kaptam, amiből trimmelés után 22747550 maradt, a kontigok száma 98496. A második hely pool-ban (NCS2) 26780238 olvasatot kaptam, ami trimmelés után 26087513-ra csökkent, ebben az esetben a kontigok száma 112223. Végül a harmadik hely pool-ban (NCS3) 24856890 olvasat volt, ez trimmelés után 24168701 lett, a kontigok száma 108537 (**12. táblázat**).

12. táblázat: A hely pool-ok HTS eredményeként kapott szekvencia olvasatai

Hely pool	Szekvenált olvasat	Trimmelt olvasat	Kontigok száma
NCS1	23367582	620032	98496
NCS2	26780238	692725	112223
NCS3	24856890	688189	108537

A kontigokat BLAST algoritmus segítségével az NCBI adatbázisában található növényi vírus referenciagenomokhoz illesztettem, ezzel egy vírustalálati listát generáltam. Az alábbi **13. táblázat** tartalmazza a szekvenálás eredményeként kapott 0 E-value értékkel, vagyis a legnagyobb valószínűséggel előforduló vírusokat a három mintavételi ponton. Az első és harmadik mintavételi ponton a 0 E-value érték alapján 10-10 vírus, míg a második mintavételi ponton 6 vírus található meg. Az első és második mintavételi ponton is megtalálhatók a BYDV és WSMV, valamint a Koper picorna-like vírus. Csak a harmadik mintavételi ponton fordult elő a BVG és a búza törpülés vírus (wheat dwarf virus -WDV, Mastrevirus hordei). Az első mintavételi ponton a BYDV és WSMV és a Koper picorna-like vírusokon kívül a beet cryptic vírus -BCV (Deltapartitivirus duobetae) és a Plant associated deltapartivirus 1 található meg a

bioinformatikai elemzés szerint. A második mintavételi ponton a BYDV, WSMV és a Koper picorna-like vírusok mellett az Erysiphe necator ourmia-like virus (EnaOLV21) fordult elő. A harmadik mintavételi ponton a BVG és WDV mellett előfordult még az Apple ourmia-like virus 2, a Grapevine associated cogu-like virus 2, Pepper-associated picorna-like virus, Plant associated tobamo-like virus 1, valamint egy viroid is, a Citrus exocortis Yucatan viroid (**13.táblázat**).

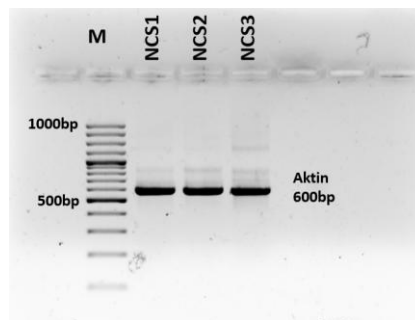
13. táblázat: A szekvenálás eredményeként kapott 0 E-value értékkel rendelkező vírusok a 3 mintavételi ponton

Mintagyűjtés helye	Vírusok (E-value=0)	NCBI kód
NCS1 (I.mintagyűjtési pont)	Barley yellow dwarf virus - PAV, complete genome	NC_004750
	Barley yellow dwarf virus-PAS isolate La3a, complete genome	OR771728.1
	Barley yellow dwarf virus-PAS, complete genome	NC_002160
	Barley yellow dwarf virus-PAV isolate GER-50, complete genome	PP236874.1
	Beet cryptic virus 2 segment dsRNA1, complete sequence	NC_038846
	Koper picorna-like virus 1 isolate KOR19SW, complete genome.	OL472294
	Plant associated deltapartitivirus 1 isolate BER19SW1 segment RNA1, complete sequence.	OL472010
	Plant associated deltapartitivirus 1 isolate BER19SW1 segment RNA2a, complete sequence.	OL472011
	Plant associated deltapartitivirus 1 isolate BER19SW1 segment RNA2b, complete sequence.	OL472012
	Wheat streak mosaic virus, complete genome	NC_001886
NCS2 (II.mintagyűjtési pont)	Barley yellow dwarf virus-PAS isolate La3a, complete genome	OR771728.1
	Barley yellow dwarf virus-PAS, complete genome	NC_002160
	Erysiphe necator ourmia-like virus 82 isolate KOP20AT, complete genome	OL472300.1
	Erysiphe necator ourmia-like virus 82 isolate KOP20AT, complete genome.	OL472300
	Koper picorna-like virus 1 isolate KOR19SW, complete genome.	OL472294
	Wheat streak mosaic virus, complete genome	NC_001886
NCS3 (III.mintagyűjtési pont)	Apple ourmia-like virus 2 isolate WA1 RNA-dependent RNA polymerase (QKR06_gp1) gene, complete cds	NC_076731
	Barley virus G isolate Gimje, complete genome	NC_029906
	Barley virus G isolate POR19SW, complete sequence.	OL472215
	Citrus exocortis Yucatan viroid, complete genome	FJ662762
	Grapevine associated cogu-like virus 2 isolate DMG 86 segment RNA2 P2 (QK698_sRNA2gp1) gene, complete cds	NC_078435
	Grapevine associated cogu-like virus 2 isolate DMG 86 segment RNA3 P3 (QK698_sRNA3gp1) gene, complete cds	NC_078436
	Pepper-associated picorna-like virus isolate Micheon_Jinju, complete genome	PP728252.1
	Plant associated tobamo-like virus 1 isolate KOP19SW 207 kDa replicase polyprotein and 29 kDa putative coat protein genes, complete cds;	OL472105
	Wheat dwarf virus H07 complete genome, barley strain	FM210034
	Wheat dwarf virus, complete genome	NC_003326

4.4. Vírusok visszaigazolása

4.4.1. cDNS szintézis a hely pool-okból

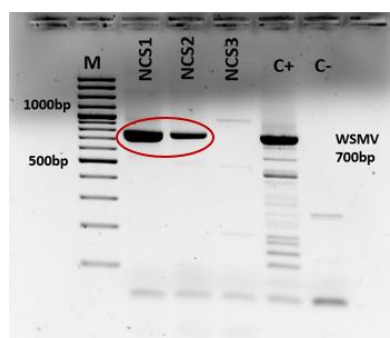
A HTS eredmények visszaigazolásához elsőként a három hely pool-ról Thermo Scientific Maxima H Minus Reverse Transcriptase kit-tel cDNS-t írtam át a további PCR-rel történő víruskimutatás érdekében. Az amplifikált cDNS minőségének ellenőrzéséhez aktin tesztet alkalmaztam. Az 1,2%-os agaróz gélen futtatással ellenőriztem a sikerességet, mely sikeresnek bizonyult (**32. ábra**).



32. ábra: A három hely pool-ról készült cDNS aktin tesztjének gélképe. Jelmagyarázat: M: 100 bp + marker, NCS1: 1. mintavételezési pont, NCS2: 2. mintavételezési pont, NCS3: 3. mintavételezési pont

4.4.2. WSMV visszaigazolása PCR-rel a három hely pool-ból

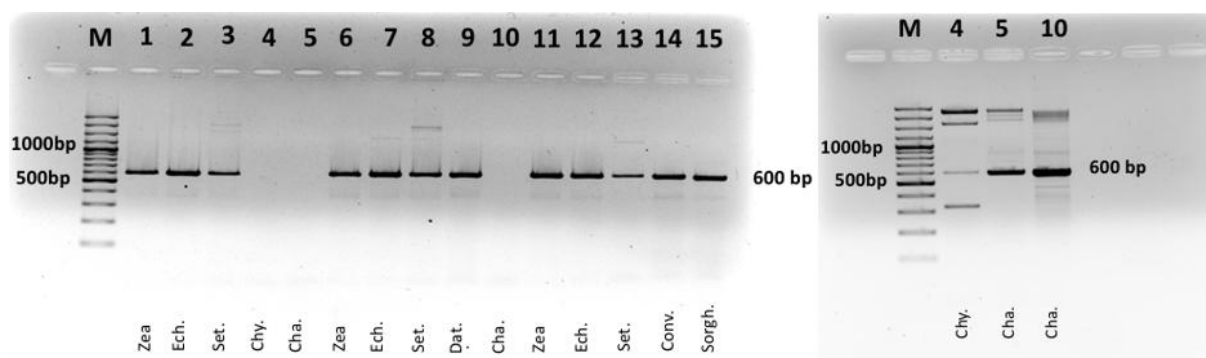
A WSMV visszaigazolását PCR reakcióval végeztem, melyhez a WSMV-8499F forward primer és a WSMV-9253R reverz primer 10x-es hígítását használtam. A templát a három hely pool cDNS mintája volt. A reakció a 3.3.8.1. fejezetben leírtak szerint Q5 enzimmal történt. A mintákat vortexeltem és röviden centrifugáltam. Az ellenőrzéshez 1,2%-os agaróz gélen futtattam a megfestett mintákat. A WSMV előfordulása az 1.mintavételezési ponton és a 2.mintavételezési ponton is detektálható volt (**33. ábra**).



33. ábra: A WSMV kimutatása a három hely pool-ban. Jelmagyarázat: M: 100 bp + marker, NCS1: 1. mintavételezési pont, NCS2: 2. mintavételezési pont, NCS3: 3. mintavételezési pont, C+: pozitív kontroll, C-: negatív kontroll

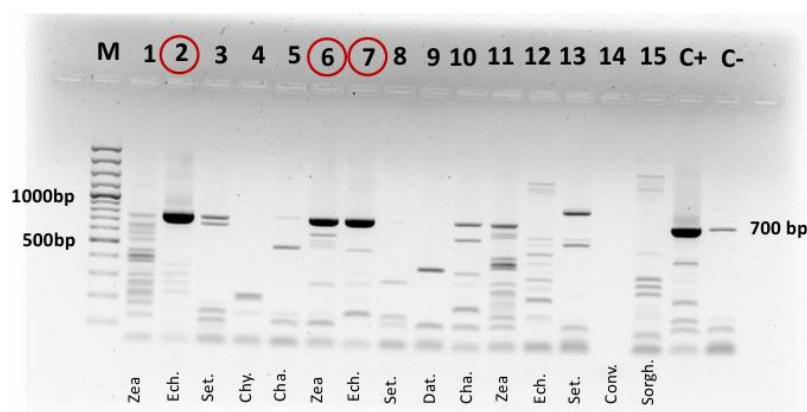
4.4.3. WSMV visszaigazolása PCR-rel a 15 faj pool-ban

A WSMV hely pool-okban való PCR-rel történő visszaigazolása során az első és második hely pool-ban, vagyis első és második mintavételezési ponton is kimutatható volt a WSMV. Annak érdekében, hogy megtudjam mely mintázott fajokban fordult elő a vírus, kibontottam a hely pool-okat és a faj pool-okra is elvégeztem a WSMV specifikus PCR reakciót. A visszaigazolás módszere és a PCR beállítása megegyezik a hely pool-ok WSMV visszaigazolásával, a különbség, hogy ebben az esetben a templát a 15 faj pool cDNS mintája volt. A cDNS minőség ellenőrzése során kiderült, hogy valószínűleg technikai okokból a 4-es, 5-ös és 10-es *Chenopodium* faj pool-okban nem sikerült a cDNS átírása, ezért ennek a három faj pool-nak a cDNS átírását megismételtam (34. ábra).



34. ábra: A 15 faj pool cDNS minőségének ellenőrzése aktin tesztel (bal oldal) és a három sikertelen minta ismétlése (jobb oldal). Jelmagyarázat: M: 100 bp + marker, 1-15: faj pool-ok, Zea: *Zea mays*, Ech.: *Echinochloa crus-galli*, Set.: *Setaria viridis*, Chy: *Chenopodium hybridum*, Cha.: *Chenopodium album*, Dat: *Datura stramonium*, Conv: *Convolvulus arvensis*, Sorgh: *Sorghum halepense*

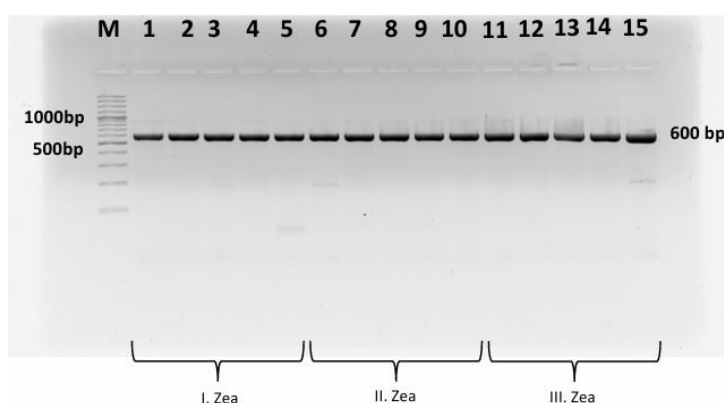
A 15 faj pool cDNS templátot használva PCR-rel igazoltam vissza a WSMV jelenlétét, melyhez a WSMV-8499F forward primer és a WSMV-9253R reverz primer 10x-es hígítását használtam. A módszer megegyezik a hely pool-nál leírt WSMV PCR-rel. Az eredményét az alábbi gélkép (35. ábra) mutatja. A PCR alapján az első mintavételezési pont kakaslábfű faj pool-jában (gélképen 2-es minta), a második mintavételezési pont kukorica (gélképen 6-os minta) és kakaslábfű (gélképen 7-es minta) faj pool-jában biztosan előfordul a WSMV. A gélképek alapján fennáll a lehetősége annak, hogy az első és a harmadik mintavételezési pont kukorica faj pool-ja, valamint az első mintavételezési pont zöldmuhar faj pool-ja és a harmadik mintavételezési pont fehér libatop faj pool-ja is tartalmaz WSMV-t, ezért ezen fajok egyedeivel is folytattam a visszaigazolásokat (35. ábra).



35. ábra: A WSMV kimutatása a 15 faj pool-ban. Jelmagyarázat: M: 100 bp + marker, 1-15: faj pool-ok, C+: pozitív kontroll, C-: negatív kontroll, Zea: *Zea mays*, Ech.: *Echinochloa crus-galli*, Set.: *Setaria viridis*, Chy: *Chenopodium hybridum*, Cha.: *Chenopodium album*, Dat: *Datura stramonium*, Conv: *Convolvulus arvensis*, Sorgh: *Sorghum halepense*

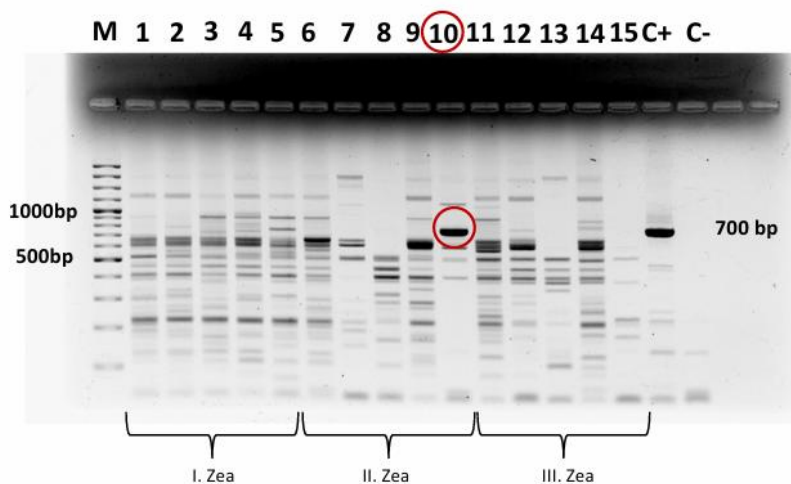
4.4.4. WSMV visszaigazolása PCR-rel az egyedi mintákban

Ahhoz, hogy részletes információt kapjak arról, hogy a begyűjtött fajok mely egyedei tartalmazták a WSMV vírust egyed szinten is elvégeztem PCR-rel a WSMV visszaigazolását. Az előző fejezetben bemutatott 15 faj pool-on elvégzett WSMV PCR eredményei alapján mind a három mintavételezési pontról gyűjtött kukorica egyedekre (15 egyed) és az első mintavételi ponton gyűjtött kakaslábfü (5 egyed) és zöldmuhar (5 egyed), valamint a második mintavételi ponton gyűjtött kakaslábfü (5 egyed) és fehér libatop (3 egyed) egyedekre végeztem el a WSMV PCR-rel való visszaigazolását. Ehhez elsőként a három mintavételezési pontról begyűjtött 15 kukorica egyedről készítettem cDNS-t a már korábban leírt Thermo Scientific Revert Aid Reverse Transcriptase kit-tel. Az amplifikált cDNS minőségének ellenőrzéséhez aktin tesztet alkalmaztam, ennek eredményét 1,2%-os agaróz gélen futtattam (**36. ábra**). A gélkép alapján a cDNS átírás sikeresnek bizonyult minden egyed esetében.



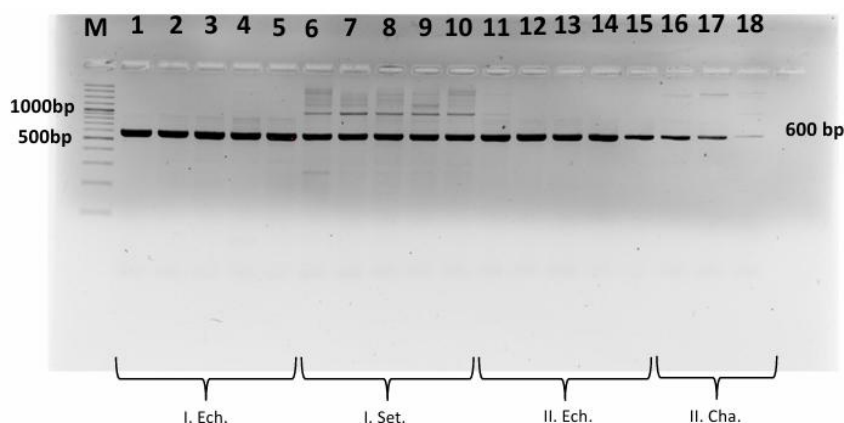
36. ábra: A három mintavételezési pontról gyűjtött 15 kukorica egyed pool-ok cDNS ellenőrzése aktin tesztel. Jelmagyarázat: M: 100 bp + marker, 1-15: egyed pool-ok, I-III.: mintagyűjtési helyek száma, Zea: *Zea mays*

A 15 kukorica egyed pool-ból ebben az esetben is a korábban leírt módon a WSMV-8499F forward primer és a WSMV-9253R reverz primer 10x-es hígítását használva igazoltam vissza a WSMV-t. A PCR eredménye szerint (37. ábra) a második mintavételezési pont 10-es számú kukorica egyedében detektálható a WSMV.



37. ábra: A WSMV kimutatása a 15 kukorica egyed pool-ban. Jelmagyarázat: M: 100 bp + marker, 1-15: kukorica egyed pool-ok, C+: pozitív kontroll, C-: negatív kontroll, Zea: Zea mays, I-III.: mintagyűjtési helyek száma

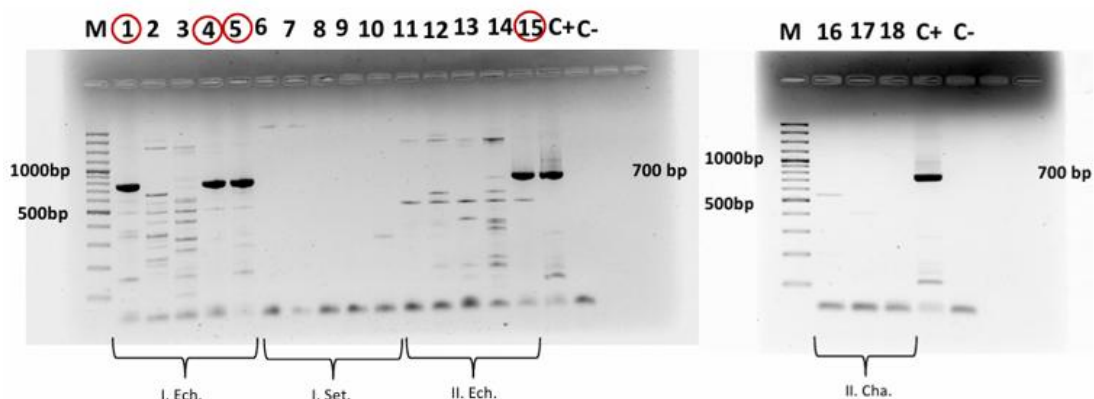
A 18 kiválasztott gyom egyed esetében is elvégeztem a cDNS átírást és minőségének ellenőrzését (38. ábra). Az 1,2%-os agaróz gélen futtatás eredménye szerint minden egyed esetében sikeres volt a cDNS átírás.



38. ábra: Az első két mintavételezési pontról gyűjtött 18 gyom egyed pool-ok cDNS ellenőrzése aktin teszttel. Jelmagyarázat: M: 100 bp + marker, 1-18: egyed pool-ok, I-II.: mintagyűjtési helyek száma, Ech.: *Echinochloa crus-galli*, Set.: *Setaria viridis*, Cha.: *Chenopodium album*.

A 18 gyom egyed pool cDNS templátra a WSMV-8499F forward primer és a WSMV-9253R reverz primer 10x-es hígítását használva történt a WSMV visszaigazolása PCR-rel. A PCR

eredménye szerint (39. *ábra*) az első mintavételezési pont 1-es, 4-es és 5-ös, valamint a második mintavételezési pont 15-ös számú *Echinochloa crus-galli* egyedében detektálható a WSMV.



39. ábra: A WSMV kimutatása a 18 gyom egyed pool-ban. Jelmagyarázat: M: 100 bp + marker, 1-18: gyom egyed pool-ok, C+: pozitív kontroll, C-: negatív kontroll, Ech.: *Echinochloa crus-galli*, Set.: *Setaria viridis*, Cha.: *Chenopodium album*, I-III.: mintagyűjtési helyek száma

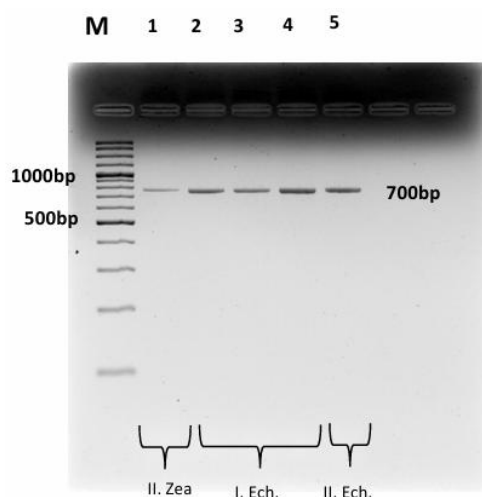
4.4.5. PCR termék tisztítása

A WSMV-re elvégzett PCR során pozitív eredményt mutató minták gélből való tisztítását a NucleoSpin Gel and PCR Clean-up Kit (Macherey-Nagel, 2022) segítségével végeztem el, a gyártó utasításait követve. A PCR során pozitív eredményt mutató kukorica és kakaslábfiú mintákat 1,2%-os agaróz gélen futtattam. A kapott PCR termékeket steril szikével UV fény alatt vágtam ki (40. *ábra*), ezt követően a minták visszaoldását 25 µl elúciós pufferben oldottam vissza a protokollt követve.



40. ábra: Az agaróz gélen megfuttatott WSMV-re pozitív PCR termékek UV fény alatt a kivágás előtt (bal) és a gélből kivágott PCR termékek (jobb) (Mónos Gréta, 2025).

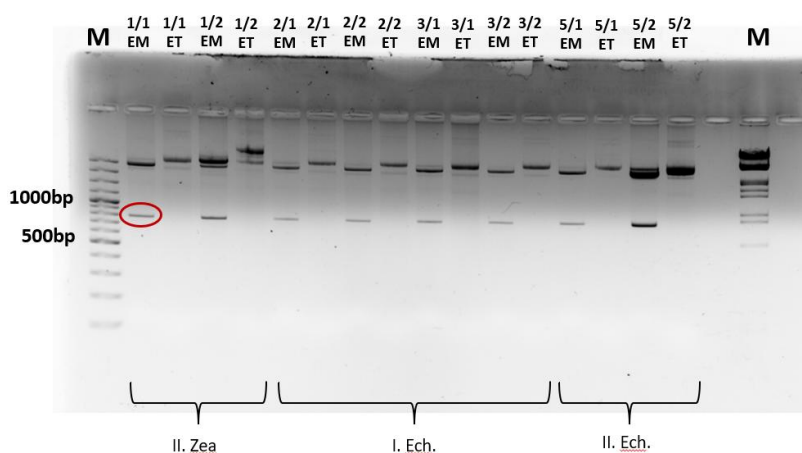
A gélből való tisztítás sikerességét a minták 1,2%-os agaróz gélen futtatásával ellenőriztem. A kapott mintákból 3 µl-t megfestettem 2,5 µl DNS festékkel, majd 130 Volt-on futtattam. A gélkép eredménye alapján mind az 5 minta PCR termékének tisztítása sikeresnek bizonyult (41. *ábra*).



41. ábra: A WSMV PCR termékek futtatása tisztítás után. Jelmagyarázat: M: 100 bp + marker, 1-5: WSMV PCR termékek, Zea: *Zea mays*, Ech.: *Echinochloa crus-galli*, I-II.: mintagyűjtési helyek száma

4.4.6. Klónozás és restrikciós emésztés

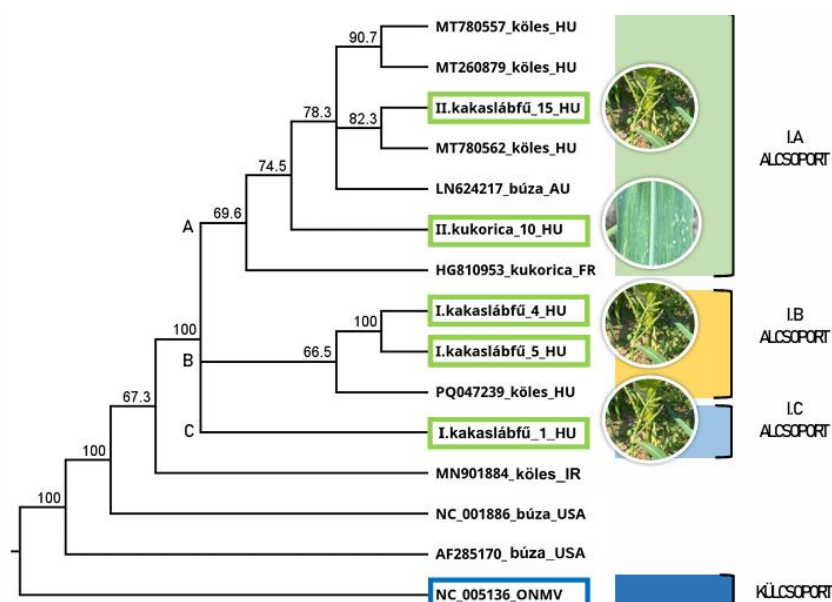
A gélből tisztított PCR termékeket ligáltam, klónoztam és DH5α baktériumba transzformáltam a 3.3.9-3.3.12 fejezetekben leírtak szerint. A ligálás sikerességét a plazmidok restrikciós emésztésével ellenőriztem az XbaI és XhoI enzimeket használva. Az emésztés sikerességét 1,2%-os agaróz gélen futtatással ellenőriztem (**42. ábra**). Az emésztett (EM) és az emésztetlen (ET) termékeket egymás mellett futtattam az agaróz gélen, így láthatóvá vált a klónozó helyre beépült DNS szakasz. A gélképek alapján sikeres volt a ligálás, így a minták alkalmasak voltak a Sanger szekvenálásra, amit a Biomi Kft. végzett el.



42. ábra: Az emésztett és emésztetlen plazmid gélelektroforézis elválasztása. A beépült, vektorból kihasított plazmidot a piros karika jelzi. Jelmagyarázat: M: marker, EM: emésztett, ET: emésztetlen plazmid, Zea: *Zea mays*, Ech.: *Echinochloa crus-galli*, I-II.: mintagyűjtési helyek száma.

4.4.7. Filogenetikai elem

A WSMV szekvenciák filogenetikai elemzését a Geneious Prime programban végeztem. Az összehasonlításhoz az NCBI adatbázisában elérhető, különböző földrajzi régiókból és gazdanövényekből származó WSMV szekvenciákat használtam. A szekvenciák illesztését követően a szekvenciák közötti különbségek és hasonlóságok alapján kaptam képet a minták filogenetikai távolságáról és rokonsági kapcsolatairól. Kulcsoportnak a WSMV-vel közeli rokonságban álló szintén a *Potyviridae* családba és *Tritimovirus* nemzetségbe tartozó zab nekrotikus tarkulás vírust (Oat necrotic mottle virus -ONMV, *Tritimovirus avenae*) használtam. A kapott filogenetikai fa (43. ábra) eredménye alapján látható, hogy az 1. és 2. mintavételi ponton megtalálható WSMV szekvenciák külön alcsoportokba tartoznak. A 2. mintavételi pont kukoricából és kakaslábfből származó izolátuma az I.A alcsoportba tartozik, és bár különböző gazdanövényből történt az izoláció mégis genetikailag közeli rokonságot mutatnak. Az 1. mintavételi pont kakaslábfből származó izolátumai közeli rokonságban állnak és az I.B és I.C alcsoportba sorolhatóak. A filogenetikai elemzés is rámutat arra, hogy a 2. mintavételi ponton valószínűsíthető kakaslábfbű és kukorica WSMV fertőzöttsége között kapcsolat van és nagy valószínűséggel keresztfertőzés történt. Látható az is, hogy a genetikailag változatos, azonban közeli rokonságban álló WSMV törzsek többféle gazdanövény faj fertőzésére képesek, és valószínűleg a gazdanövényhez adaptálódva változnak genetikailag, ami a fajok közötti fertőződés lehetőségét valószínűsíti, kiemelve a gyomfajok és kultúrnövény közötti fertőződést.



43. ábra: A WSMV szekvenciák leszármazását és rokonsági kapcsolatát ábrázoló filogenetikai fa. A különböző törzsek jelölésénél az NCBI azonosító, gazdanövény, valamint az ország jelölése látható. Jelmagyarázat: HU- Magyarország, FR- Franciaország, IR- Irán, AU-Ausztria, USA – Amerikai Egyesült Államok, ONMV: Oat necrotic mottle virus

5. Következtetések és javaslatok

A szántóföldi gyomnövény és kukorica mintagyűjtések laboratóriumi feldolgozásával is bebizonyosodott, hogy a gyomnövények számos vírussal fertőződhetnek és ezzel hatással lehetnek a közvetlen környezetükben előforduló kultúrnövényre, hiszen róluk a vírus vektorszervezetekkel átkerülhet a kukoricára. A mintagyűjtés során a kiválasztott kukoricatáblán három pontban gyűjtöttem mintákat, és összesen hét gyomfajt (*Echinochloa crus-galli*, *Setaria viridis*, *Chenopodium hybridum*, *Chenopodium album*, *Datura stramonium*, *Convolvulus arvensis*, *Sorghum halepense*) vizsgáltam a begyűjtött kukorica növények mellett. Összesen 63 mintát dolgoztam fel. A minták nagy áteresztőképességű szekvenálással kapott szekvenciáinak NCBI növényi vírus referencia genomhoz hasonlított eredményeként, a kapott vírustalálati lista szerint az 1. mintavételezési ponton 10 vírus, a 2. mintavételezési ponton 6 vírus, a 3. mintavételezési ponton szintén 10 vírus fordult elő potenciálisan a mintáimban. A vírusfajok számát tekintve pedig a három mintagyűjtési ponton összesen 12 vírusfaj és egy viroid feltételezhető. Ezen eredmény is felhívja a figyelmet a vírusok és vírusrezervoár gyomnövények jelentőségére, hiszen egy 10 hektáros táblán csupán három ponton begyűjtött mintákról van szó. A vírustalálati listából a WSMV visszaigazolására esett a választásom, hiszen ez egy gazdaságilag is jelentős vírus a gabonaféléken, ezért ezt független RT-PCR módszerrel igazoltam vissza a mintákból. A nagy áteresztőképességű szekvenálás szerint az 1. és 2. mintavételi ponton megtalálható WSMV-t a PCR-rel is ezekben a hely pool-okban igazoltam vissza, majd faj és egyed pool-okra visszabontva végül a 2. mintavételezési pont utolsó kukorica egyedében és az 1. mintavételezési pont három kakaslábfű, valamint 2. mintavételezési pont utolsó kakaslábfű egyedében volt megtalálható a WSMV. Ezen eredménnyel igazoltam a kakaslábfűről, hogy a WSMV gazdanövénye, valamint, hogy róla potenciálisan fertőződhet a kukorica a vírussal, hiszen a 2. mintavételezési pont kakaslábfű és kukorica egyede egymás mellett volt megtalálható. Ezt a feltételezést a filogenetikai elemzés is megerősítette. Érdekes kérdést vetett volna még fel a vírusvektorok vizsgálata is, hiszen a gyomfelvételezések során megfigyeltem *Rhopalosiphum padi*, *Rhopalosiphum maidis* levéltetű, *Metcalfa pruinosa* kabóca, valamint *Oulema melanopus* kártevők előfordulását és kártételét a begyűjtött növény egyedeken is, azonban ezekből nem sikerült laboratóriumi vizsgálatra egyedeket befogni. A kutatás folytatását képezi a bioinformatikai elemzéssel kapott vírusok további visszaigazolása PCR-rel, melyek segítségével a mintázáskor begyűjtött további gyomfajok rezervoár szerepe is igazolható lenne. Az eredményeim alapján elmondható, hogy a kukoricában egyik leggyakoribb gyom a kakaslábfű visszaszorítása, a vírusfertőzések

megelőzése miatt is fontos feladatnak bizonyul, ezért ezen ok miatt is követni kell az integrált növényvédelmi alapelveket és a helyes gyomszabályozás kivitelezését.

6. Összefoglalás

A vírusok a melegedő klímának köszönhetően hazánkban is a mezőgazdaság egyik fő veszélyforrásává válhatnak. A növényeket fertőző vírusok a kultúrnövények közvetlen fertőzése mellett gyomnövények széles skáláját is képesek fertőzni. A gyomnövények tehát a közvetlen kártételük, vagyis a talaj nedvesség- és tápanyagtartalmának csökkentése mellett, vírusrezervoároként közvetetten is veszélyt jelentenek a termesztett kultúrákra, hiszen növelhetik a vírusfertőzések valószínűségét. Az élő vírussal fertőzött gyomnövények pedig átteleve a következő évi kultúra is veszélyt jelenthetnek. Ma már a HTS-nek köszönhetően számos kutatás is igazolta, hogy a szántóföldeken és azok közelében (táblaszegélyen) előforduló gyomfajok rengeteg vírusnak szolgálhatnak gazdanövényül. A kutatásom során a gyomnövények és a vírusok kapcsolatát vizsgáltam egy Nagycsepely térségében található kukoricatáblában, mely során a célom az volt, hogy átfogó képet kapjak a kukoricában előforduló gyomnövények vírusrezervoár szerepéről. Ennek megvalósításához felmértem a gyomok jelenlétét az általam kiválasztott táblán, ezt követően mintát gyűjtöttem a vírusos megbetegedésre utaló tüneteket (például klorózist, szívogatásnyomokat) mutató gyom és kukorica egyedekből, majd totál nukleinsav tisztítást követően meghatároztam a mintázott növények viromját nagy áteresztőképességű szekvenálással (HTS). A bioinformatikai elemzés során a kapott szekvenciákat az NCBI növényi vírus referencia genomhoz illesztve egy vírustalálati listát kaptam, mely a mintákban potenciálisan előforduló vírusokat mutatta meg. A vírustalálati listán megtalálható, gabonaféléken súlyos károkat okozó WSMV-t független RT-PCR módszerrel is visszaigazoltam a mintákból, mely megtalálható volt egyes kakaslábfü és kukorica egyedekben is. A pozitív eredményt mutató PCR termékek tisztítást és klónozást követően Sanger-szekvenálásra kerültek, mellyel a mintákban található WSMV pontos szekvenciája is meghatározásra került. A WSMV szekvenciák filogenetikai elemzésével a mintákban előforduló WSMV variabilitását és rokonsági kapcsolatát is megismertem. A visszaigazolás során a bioinformatikai elemzések és az RT-PCR eredményei korrelációban voltak. A kutatás eredményei is mutatják, hogy a gyomnövények vírusrezervoár szerepe fontos kutatási terület, mellyel érdemes továbbra is foglalkozni. A vírusfertőzések elleni védekezés rendkívül nehéz feladat, hiszen kémiai védekezésre nincs ellenük lehetőség, és a fertőzött növények utólag már nem gyógyíthatók. A védekezés egyik alappillére a fertőzések megelőzése, mely a rezisztens és toleráns fajták alkalmazása mellett, a vektorszervezetek és alternatív gazdaszervezetek hatékony kezelését jelenti. Többek között ezért is fontos a

gazdálkodás során történő megfelelő gyomszabályozási módszerek megválasztása, mert ezzel a vírusfertőzések kockázatát is csökkenthetjük.

7. Irodalomjegyzék

1. Adám, A. L. (2016). A szisztémikus szerzett rezisztencia jelátvittele: eredmények és kihívások. <https://www.researchgate.net/publication/309242312>
2. Agymang, E. D., Ofosu, R., Desiderio, F., Galbacs, Z. N., Takács, A. P., & Várallyay, É. (2025). The Occurrence and Diversity of Viruses Identified in Monocotyledonous Weeds. In *Agronomy* (Vol. 15, Issue 1). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/agronomy15010074>
3. Akaçin, İ., Ersoy, Ş., Doluca, O., & Güngörmüşler, M. (2022). Comparing the significance of the utilization of next generation and third generation sequencing technologies in microbial metagenomics. In *Microbiological Research* (Vol. 264). Elsevier GmbH. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127154>
4. Alhabbab, R. Y. (2022). Lateral Flow Immunoassays for Detecting Viral Infectious Antigens and Antibodies. In *Micromachines* (Vol. 13, Issue 11). MDPI. <https://doi.org/10.3390/mi13111901>
5. Boonham, N., Kreuze, J., Winter, S., van der Vlugt, R., Bergervoet, J., Tomlinson, J., & Mumford, R. (2014). Methods in virus diagnostics: From ELISA to next generation sequencing. *Virus Research*, 186, 20–31. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2013.12.007>
6. Burrell, C. J., Howard, C. R., & Murphy, F. A. (2017). Virion Structure and Composition. In *Fenner and White's Medical Virology* (pp. 27–37). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-375156-0.00003-5>
7. Butković, A., & González, R. (2022). A brief view of factors that affect plant virus evolution. In *Frontiers in Virology* (Vol. 2). Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fviro.2022.994057>
8. Cao, Q., Xu, W. Y., Gao, Q., Jiang, Z. H., Liu, S. Y., Fang, X. D., Gao, D. M., Wang, Y., & Wang, X. B. (2018). Transmission characteristics of Barley yellow striate mosaic virus in its planthopper vector *Laodelphax striatellus*. *Frontiers in Microbiology*, 9(JUN). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01419>
9. Cassedy, A., Parle-McDermott, A., & O'Kennedy, R. (2021). Virus Detection: A Review of the Current and Emerging Molecular and Immunological Methods. In *Frontiers in Molecular Biosciences* (Vol. 8). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.637559>

10. Clementi, M., Menzo, S., Bagnarelli, P., Manzin, A., Valenza, A., & Varaldo, P. E. (1993). Quantitative PCR and RT-PCR in virology. *Genome Research*, 2(3), 191–196. <https://doi.org/10.1101/gr.2.3.191>
11. D'Arcy, C.J. and L.L. Domier. 2000. Barley yellow dwarf. *The Plant Health Instructor*. DOI: 10.1094/PHI-I-2000-1103-01
12. Dorner Z. (2024): A kukorica integrált gyomszabályozása. Oktatási segédanyag
13. Erenstein, O., Jaleta, M., Sonder, K., Mottaleb, K., & Prasanna, B. M. (2022). Global maize production, consumption and trade: trends and R&D implications. *Food Security*, 0123456789. <https://doi.org/10.1007/s12571-022-01288-7>
14. Folimonova, S. Y. (2020). Citrus tristeza virus: A large RNA virus with complex biology turned into a valuable tool for crop protection. *PLoS Pathogens*, 16(4). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008416>
15. Freeman, W. M., Walker, S. J., & Vrana, K. E. (1999). Quantitative RT-PCR: Pitfalls and potential. In *BioTechniques* (Vol. 26, Issue 1, pp. 112–125). Eaton Publishing Company. <https://doi.org/10.2144/99261rv01>
16. Galbács, Z. N., Agyemang, E. D., Pásztor, G., Takács, A. P., & Várallyay, É. (2024). Viromes of Monocotyledonous Weeds Growing in Crop Fields Reveal Infection by Several Viruses Suggesting Their Virus Reservoir Role. *Plants*, 13(18). <https://doi.org/10.3390/plants13182664>
17. Gambino, G., & Gribaudo, I. (2006). Simultaneous detection of nine grapevine viruses by multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction with coamplification of a plant RNA as internal control. *Phytopathology*, 96(11), 1223–1229. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-96-1223>
18. Gan, S. D., & Patel, K. R. (2013). Enzyme immunoassay and enzyme-linked immunosorbent assay. *Journal of Investigative Dermatology*, 133(9), 1–3. <https://doi.org/10.1038/jid.2013.287>
19. Garcia-Ruiz, H. (2019). Host factors against plant viruses. In *Molecular Plant Pathology* (Vol. 20, Issue 11, pp. 1588–1601). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/mpp.12851>
20. Heszky L. & Galli Zs. (2008): A genetika alapjai, Szent István Egyetem, egyetemi jegyzet
21. Hingyi, H. (2005). A MAGYARORSZÁGI RÉGIÓK BÚZA- ÉS KUKORICATERMELÉSÉNEK FŐBB JELLEMZŐI. *Gazdálkodás XLIX. Évfolyam* 5. Szám. <https://ageconsearch.umn.edu/record/54334/>

22. Holm, L. G., Plucknett, D. L., Pancho, J. V., Herberger, J. P. (1977.): World's worst weeds. Distribution and biology. Honolulu University
23. Horváth, József - dr. Gáborjányi Richard. Növényvírusok és virológiai vizsgálati módszerek. Mezőgazda Kiadó, 1999., 9789639239371
24. Hullé, M., Coeur d'Acier, A., Bankhead-Dronnet, S., & Harrington, R. (2010). Aphids in the face of global changes. *Comptes Rendus - Biologies*, 333(6–7), 497–503. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2010.03.005>
25. Hull R. (2017): Plant Virology, 5th Edition
26. Hunyadi K. (1988): Szántóföldi növények és gyombiológiájuk. Mezőgazdasági Kiadó. Budapest. 13-21 p.
27. Hunyadi K. – Béres I. – Kazinczi G. (2011): Gyomnövények, gyombiológia, gyomirtás. Mezőgazda Kiadó. Budapest. 517-526 p.
28. Ince, B., & Sezgin Türk, M. K. (2022). Lateral flow assays for viruses diagnosis: Up-to-date technology and future prospects. In *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* (Vol. 157). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2022.116725>
29. Jacqueline d'A. Hughes, Babajide O. Odu 2001: Plant Virology in Sub-Saharan Africa:
30. https://books.google.hu/books?hl=hu&lr=&id=NbLlvMhVxxsC&oi=fnd&pg=PA158&dq=cereal+viruses+maize&ots=xqLNwZ-08r&sig=0TNUFqoPoLsYM95wMUxoKrH6Hjo&redir_esc=y#v=onepage&q=cereal%20viruses%20maize&f=false
31. Kamthan, A., Chaudhuri, A., Kamthan, M., & Datta, A. (2015). Small RNAs in plants: Recent development and application for crop improvement. *Frontiers in Plant Science*, 6(APR). <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00208>
32. Kemény, G., Bene, E., Keményné Horváth, Z., Vári, E., Zubor-Nemes, A., Lőrincz, K., Domán, C., & Vigh Enikő, Z. (2019). A klímaváltozás hatásának modellezése a főbb hazai gabonafélék esetében (G. Kemény, A. Molnár, & J. Fogarasi, Eds.). Agrárgazdasági Kutató Intézet. <https://doi.org/http://doi.org/10.7896/ak1901>
33. Khan J., Dijkstra J., (2006): Handbook of Plant Virology , Chapter 3, Symptomatology
34. Király Z. (2004): Védekezési mechanizmusok az élővilágban, Magyar Tudomány, 2004/10 1090. o., <https://www.epa.hu/00600/00691/00010/006.html>
35. Lauber, C., Goeman, J. J., de Parquet, M. C., Thi Nga, P., Snijder, E. J., Morita, K., & Gorbalenya, A. E. (2013). The Footprint of Genome Architecture in the Largest Genome Expansion in RNA Viruses. *PLoS Pathogens*, 9(7). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003500>

36. Mandadi, K. K., & Scholthof, K. B. G. (2013). Plant immune responses against viruses: How does a virus cause disease? In *Plant Cell* (Vol. 25, Issue 5, pp. 1489–1505). American Society of Plant Biologists. <https://doi.org/10.1105/tpc.113.111658>
37. Marc H.V. van Regenmortel, Brian W.J. (2008): Desk Encyclopedia of Plant and Fungal Virology: https://books.google.hu/books?hl=hu&lr=&id=8Mnnr-_mtIwC&oi=fnd&pg=PA383&dq=maize+viruses+in+the+world&ots=eHy8_qtkLC&sig=RU-EW_oobKBgxv8jINNhtyaIwpU&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false
38. Miller, W. A., Liu, S., & Beckett, R. (2002). Barley yellow dwarf virus: Luteoviridae or Tombusviridae? In *Molecular Plant Pathology* (Vol. 3, Issue 4, pp. 177–183). <https://doi.org/10.1046/j.1364-3703.2002.00112.x>
39. Novák, R.; Magyar, M.; Simon, G.; Kadaravek, B.; Kadaravekné Guttyán, A.; Blazsek, K.; Erdélyi, K.; Farkas, G.; Gyulai, B.; Hornyák, A.; et al. A Hatodik Országos Szántóföldi Gyomfelvételezés előzetes eredményei. *Magy. Gyomkutatás És Technológia* 2019, 20, 55–58.
40. Pasztor, G., Zsuzsanna, G. N., Kossuth, T., Demian, E., Nadasy, E., Takacs, A. P., & Varallyay, E. (2020). Millet could be both a weed and serve as a virus reservoir in crop fields. *Plants*, 9(8), 1–11. <https://doi.org/10.3390/plants9080954>
41. Pepó, P., & Sárvári, M. (2011). Gabonanövények termesztése. 40-.
42. Rao, G. P., & Reddy, M. G. (2020). Overview of yield losses due to plant viruses. In *Applied Plant Virology: Advances, Detection, and Antiviral Strategies* (pp. 531–562). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818654-1.00038-4>
43. Redinbaugh, M. G., & Stewart, L. R. (2018). Downloaded from www.annualreviews.org Access provided by. *Annu. Rev. Virol*, 5, 301–322. <https://doi.org/10.1146/annurev-virology>
44. Rivarez, M. P. S., Pecman, A., Bačnik, K., Maksimović, O., Vučurović, A., Seljak, G., Mehle, N., Gutiérrez-Aguirre, I., Ravnikar, M., & Kutnjak, D. (2023). In-depth study of tomato and weed viromes reveals undiscovered plant virus diversity in an agroecosystem. *Microbiome*, 11(1). <https://doi.org/10.1186/s40168-023-01500-6>
45. Scholthof, K. B. G., Adkins, S., Czosnek, H., Palukaitis, P., Jacquot, E., Hohn, T., Hohn, B., Saunders, K., Candresse, T., Ahlquist, P., Hemenway, C., & Foster, G. D. (2011). Top 10 plant viruses in molecular plant pathology. In *Molecular Plant Pathology* (Vol. 12, Issue 9, pp. 938–954). <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2011.00752.x>

46. Sharma, K., & Misra, R. S. (2011). Molecular approaches towards analyzing the viruses infecting maize (*Zea mays* L.). *Journal of General and Molecular Virology*, 3(1), 1–17. <http://www.academicjournals.org/JGMV>
47. Shiferaw, B., Prasanna, B. M., Hellin, J., & Bänziger, M. (2011). Crops that feed the world 6. Past successes and future challenges to the role played by maize in global food security. In *Food Security* (Vol. 3, Issue 3, pp. 307–327). <https://doi.org/10.1007/s12571-011-0140-5>
48. Singh, B. K., Delgado-Baquerizo, M., Egidi, E., Guirado, E., Leach, J. E., Liu, H., & Trivedi, P. (2023). Climate change impacts on plant pathogens, food security and paths forward. In *Nature Reviews Microbiology* (Vol. 21, Issue 10, pp. 640–656). Nature Research. <https://doi.org/10.1038/s41579-023-00900-7>
49. Szigeti, Z. (2018). Changes in the explanation of plant stress concept. *Botanikai Közlemények*, 105(2), 165–178. <https://doi.org/10.17716/BotKozlem.2018.105.2.165>
50. Tatineni, S., & Hein, G. L. (2023). Plant Viruses of Agricultural Importance: Current and Future Perspectives of Virus Disease Management Strategies. In *Phytopathology* (Vol. 113, Issue 2, pp. 117–141). American Phytopathological Society. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-05-22-0167-RVW>
51. Taylor, M. W. (2014). What Is a Virus? In *Viruses and Man: A History of Interactions* (pp. 23–40). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-07758-1_2
52. Travers, A., & Muskhelishvili, G. (2015). DNA structure and function. In *FEBS Journal* (Vol. 282, Issue 12, pp. 2279–2295). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/febs.13307>
53. Várallyay É. (2015): Élet és tudomány: Fásszárúak vírusvallatója
54. Villamor, D. E. V., Ho, T., Al Rwahnih, M., Martin, R. R., & Tzanetakis, I. E. (2019). High throughput sequencing for plant virus detection and discovery. In *Phytopathology* (Vol. 109, Issue 5, pp. 716–725). American Phytopathological Society. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-07-18-0257-RVW>
55. White, J. L., & Kaper, J. (1989). A simple method for detection of viral satellite RNAs in small plant tissue samples. *Journal of virological methods*, 23(2), 83-93.
56. Whitfield, A. E., Falk, B. W., & Rotenberg, D. (2015). Insect vector-mediated transmission of plant viruses. In *Virology* (Vols. 479–480, pp. 278–289). Academic Press Inc. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2015.03.026>

57. Yasmin, T.; Thekke-Veetil, T.; Hobbs, H.A.; Nelson, B.D.; McCoppin, N.K.; Lagos-Kutz, D.; Hartman, G.L.; Lambert, K.N.; Walker, D.R.; Domier, L.L. Aphis glycines virus 1, a new bicistronic virus with two functional internal ribosome entry sites, is related to a group of unclassified viruses in the Picornavirales. *J. Gen. Virol.* 2020, 101, 105–111.
58. Zaitlin, M., & Mayer, A. (1998). The Discovery of the Causal Agent of the Tobacco Mosaic Disease. *New York*, 23(4), 105–110. Retrieved from <http://www.apsnet.org/publications/apsnetfeatures/Documents/1998/ZaitlinDiscoveryCausalAgentTobaccoMosaicVirus.pdf>

Internetes források:

1. http1: https://www.ksh.hu/stadat_files/mez/hu/mez0072.html
2. http2: <https://www.apsnet.org/edcenter/Pages/PlantViruses.aspx>
3. http3: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7173522/>
4. http4: https://www.researchgate.net/figure/An-illustration-of-the-various-events-associated-with-replication-of-positive-sense-ssRNA_fig1_262927343
5. http5: <https://gatescientific.com/technique-geeks-blog/f/an-rnai-glossary>
6. http6: <http://www.bio-nica.info/biblioteca/BartlettMolecularBiology.pdf>
7. http7: https://www.researchgate.net/figure/Polymerase-Chain-Reaction-A-PCR-reaction-consists-of-three-phases-1-denaturation_fig4_362991666
8. http8: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.1079/cabicompendium.119663>
9. http9: <https://www.syngenta.hu/press-release/hir/egysziku-gyomok-jelentosege-es-az-ataluk-okozott-kartetel-kalaszosban>
10. http10: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/19770359792>
11. http11: <https://www.thermofisher.com/hu/en/home/brands/thermo-scientific/molecular-biology/thermo-scientific-molecular-cloning/clonejet-pcr-cloning-kit.html>
12. http12: <https://www.corteva.hu/termek-es-megoldasok/novenyvedelem/principal-plus-python.html>

8. Ábrák és táblázatok jegyzéke

1. ábra: A kukorica termesztési területének megoszlása (bal) és a termesztés megoszlása (jobb) a világon kontinensenként (Erenstein et al., 2022 alapján).....	5
2. ábra: A termésátlagok alakulása (bal) és a betakarított összes termés alakulása (jobb) 2013 és 2023 közötti években.....	7
3. ábra: Különböző vírustünetek: sharka vírus (Plum pox virus -PPV, Potyvirus plumpoxi) szilván (bal), paradicsom bronzfoltosság (Tomato spotted wilt virus -TSWV, Orthotospovirus tomatomaculae) tünetei paprikán (középen), bab közönséges mozaik vírus (Bean common mosaic virus -BCMV, Potyvirus phaseovulgaris) tünetei babon (jobb) (Mónos Gréta, 2024).....	8
4. ábra: A helikális felépítésű TMV. (A) A Tobacco mosaic virus virion modellje az egymásba fonódó kapszid alegységekkel és a belső helikális RNS-sel. (B) A TMV negatív kontraszt elektronmikroszkópos felvétele (http3).	9
5. ábra: Bal: Vírus lokalizációs helyek rovar vektorban. A nem cirkulatív (nem perzisztens) vírusok a rovar szájszervében (A) vagy az előbélben (B) maradnak. A perzisztens, de nem propagatív vírusok általában a floémában találhatók és a rovar középbelébe és végbelébe kerülnek. A cirkulatív vírusok a hemolimfán keresztül jutnak a nyálmirigyekbe. A propagatív vírusok főleg a középbél sejtjeiben replikálódnak (Whitfield & Rotenberg, 2015). Jobb: A leggyakoribb vektorszervezetek A: levéltetű (Myzus persicae), B: kabóca (Circulifer tenellus), C: liszteske (Bemisia tabaci) (Hull, 2014).	10
6. ábra: Egy +ssRNS vírus élelciklusa a növényi sejtben (http4).....	12
7. ábra: A PCR folyamatábrája (http7).	14
8. ábra: Az MLN tünetei kukoricán (http8).....	16
9. ábra: Kukorica posztemergens gyomirtása (Mónos Gréta, 2024).....	23
10. ábra: Az öt legfontosabb vírusrezervoár gyomnövény kukoricatáblán és táblaszegélyen: 1. Panicum miliaceum, 2.Sorghum halepense, 3.Cynodon dactylon, 4. Echinochloa crus-galli és Setaria viridis (Mónos Gréta, 2024)	24
11. ábra: Az 1mx1m-es gyomfelvételezési keret (Mónos Gréta, 2024).....	26
12. ábra: A Principal Plus Phytion kijuttatása (2024.05.22.) (Mónos Gréta, 2024).....	27
13. ábra: A három mintagyűjtési pont elhelyezkedése a táblán	28
14. ábra: A minták homogenizálása dörzsmozsárban a kivonó pufferrel és a fenolhoz adott minta (Mónos Gréta, 2024)	29
15. ábra: A kétfázisú minta centrifugálás után (Mónos Gréta, 2024)	29
16. ábra: Centrifugálás után a mintákban keletkezett csapadék pirossal jelölve (Mónos Gréta, 2024)30	
17. ábra: A minták megfestése (Mónos Gréta, 2024)	30
18. ábra: Minták futtatása agaróz gélen (Mónos Gréta, 2024).....	31
19. ábra: Nanodrop műszer (bal oldal), műszerbe mért csepp (középen), és a mért koncentráció görbéje (jobb oldal) (Mónos Gréta, 2024).....	31
20. ábra: A PCR termék futtatása (bal) és kivágása a gélből UV alatt (jobb) (Mónos Gréta, 2025) ...	36
21. ábra: pJET 1.2/blunt vektor (http11).....	37
22. ábra: A táptalajon felnőtt baktériumok (Mónos Gréta, 2025).....	37
23. ábra: Centrifugálás után a cső alján látható baktériumsejtek (Mónos Gréta, 2025).....	38
24. ábra: A tarló állapota áprilisban, gyomnövények alulról felfelé: Chenopodium hybridum, Helianthus annuus árvaakelés, Cirsium arvense, Lamium purpureum (Mónos Gréta, 2024).....	40
25. ábra: A gyomirtó szeres (Principal Plus Phytion) kezelés hatása a gyomnövényeken (bal oldal) és erős antociánosodást mutató Echinochloa crus-galli (jobb oldal) (Mónos Gréta, 2024)	42
26. ábra: Csíkoltságot mutató és szívogatott kukorica levél (bal). Levéltetvek (középen) és amerikai lepkekabóca viaszpelyhe (jobb oldal) (Mónos Gréta, 2024).....	42
27. ábra: A gyomborítotttság alakulása a gyomfelvételezések során.....	43
28. ábra: Tünetek gyomnövényeken és kukoricán: A: szívogatás, B-C: gombás tünetek, D: csíkoltság és ráncosodás, E: antociánosodás, F: klorózis, G: rágásnyomok (Mónos Gréta, 2024).....	44

29. ábra: Begyűjtött növényekről készült fotók egy része (Mónos Gréta, 2024).....	46
30. ábra: Az 1. mintavételezési pont (bal) és a 3. mintavételezési pont egyes egyedeinek gélképe. ...	46
31. ábra: A DNáz kezelt három hely pool (NCS1, NCS2, NCS3) gélképe.....	47
32. ábra: A három hely pool-ról készült cDNS aktin tesztjének gélképe. Jelmagyarázat: M: 100 bp + marker, NCS1: 1. mintavételezési pont, NCS2: 2. mintavételezési pont, NCS3: 3. mintavételezési pont	50
33. ábra: A WSMV kimutatása a három hely pool-ban. Jelmagyarázat: M: 100 bp + marker, NCS1: 1. mintavételezési pont, NCS2: 2. mintavételezési pont, NCS3: 3. mintavételezési pont, C+: pozitív kontroll, C-: negatív kontroll.....	50
34. ábra: A 15 faj pool cDNS minőségének ellenőrzése aktin tesztel (bal oldal) és a három sikertelen minta ismétlése (jobb oldal). Jelmagyarázat: M: 100 bp + marker, 1-15: faj pool-ok, Zea: Zea mays, Ech.: Echinochloa crus-galli, Set.: Setaria viridis, Chy: Chenopodium hybridum, Cha.: Chenopodium album, Dat: Datura stramonium, Conv: Convolvulus arvensis, Sorgh: Sorghum halepense	51
35. ábra: A WSMV kimutatása a 15 faj pool-ban. Jelmagyarázat: M: 100 bp + marker, 1-15: faj pool-ok, C+: pozitív kontroll, C-: negatív kontroll, Zea: Zea mays, Ech.: Echinochloa crus-galli, Set.: Setaria viridis, Chy: Chenopodium hybridum, Cha.: Chenopodium album, Dat: Datura stramonium, Conv: Convolvulus arvensis, Sorgh: Sorghum halepense	52
36. ábra: A három mintavételezési pontról gyűjtött 15 kukorica egyed pool-ok cDNS ellenőrzése aktin tesztel. Jelmagyarázat: M: 100 bp + marker, 1-15: egyed pool-ok, I-III.: mintagyűjtési helyek száma, Zea: Zea mays	52
37. ábra: A WSMV kimutatása a 15 kukorica egyed pool-ban. Jelmagyarázat: M: 100 bp + marker, 1-15: kukorica egyed pool-ok, C+: pozitív kontroll, C-: negatív kontroll, Zea: Zea mays, I-III.: mintagyűjtési helyek száma.....	53
38. ábra: Az első két mintavételezési pontról gyűjtött 18 gyom egyed pool-ok cDNS ellenőrzése aktin tesztel. Jelmagyarázat: M: 100 bp + marker, 1-18: egyed pool-ok, I-II.: mintagyűjtési helyek száma, Ech.: Echinochloa crus-galli, Set.: Setaria viridis, Cha.: Chenopodium album.	53
39. ábra: A WSMV kimutatása a 18 gyom egyed pool-ban. Jelmagyarázat: M: 100 bp + marker, 1-18: gyom egyed pool-ok, C+: pozitív kontroll, C-: negatív kontroll, Ech.: Echinochloa crus-galli, Set.: Setaria viridis, Cha.: Chenopodium album, I-III.: mintagyűjtési helyek száma.....	54
40. ábra: Az agaróz gélen megfuttatott WSMV-re pozitív PCR termékek UV fény alatt a kivágás előtt (bal) és a gélből kivágott PCR termékek (jobb) (Mónos Gréta, 2025).....	54
41. ábra: A WSMV PCR termékek futtatása tisztítás után. Jelmagyarázat: M: 100 bp + marker, 1-5: WSMV PCR termékek, Zea: Zea mays, Ech.: Echinochloa crus-galli, I-II.: mintagyűjtési helyek száma	55
42. ábra: Az emésztett és emésztetlen plazmid gélelektroforézis elválasztása. A beépült, vektorból kihalászott plazmidot a piros karika jelzi. Jelmagyarázat: M: marker, EM: emésztett, ET: emésztetlen plazmid, Zea: Zea mays, Ech.: Echinochloa crus-galli, I-II.: mintagyűjtési helyek száma.....	55
43. ábra: A WSMV szekvenciák leszármazását és rokonsági kapcsolatát ábrázoló filogenetikai fa. A különböző törzsek jelölésénél az NCBI azonosító, gazdanövény, valamint az ország jelölése látható. Jelmagyarázat: HU- Magyarország, FR- Franciaország, IR- Irán, AU-Ausztria, USA – Amerikai Egyesült Államok, ONMV: Oat necrotic mottle virus	56
1. táblázat: Magyarország kukorica termelésének változása az egyes években (http1).....	7
2. táblázat: Ujvárosi-féle életforma rendszer (Hunyadi et al., 2011 alapján).....	19
3. táblázat: A kukoricában előforduló gyomfajok alakulása a hatodik országos gyomfelvételezésen, kiemelve az öt legfontosabb gyomfajt.....	21
4. táblázat: A szántóföldi felvételezések időpontjai.....	25
5. táblázat: Az I. mintagyűjtési hely pool készítésének adatai.....	32
6. táblázat: A tarlón előforduló gyomfajok életforma csoportok szerint	40
7. táblázat: A gyomnövények átlagos borítási értéke (%) a gyomfelvételezések során	41

8. táblázat: A tünetek magyarázata	44
9. táblázat: Az 1. mintavételezési pont mintagyűjtése	44
10. táblázat: A 2. mintavételezési pont mintagyűjtése	45
11. táblázat: A 3. mintavételezési pont mintagyűjtése	45
12. táblázat: A hely pool-ok HTS eredményeként kapott szekvencia olvasatai	47
13. táblázat: A szekvenálás eredményeként kapott 0 E-value értékkel rendelkező vírusok a 3 mintavételi ponton	49

9. Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretnék köszönetet mondani témavezetőimnek Dr. Várallyay Évának, Dr. Jaksa-Czotter Nikolettának és Dr. Dorner Zitának a kutatás során nyújtott segítségért, szakmai tanácsokért és ötletadó gondolatokért, melyekkel segítették munkámat és hozzájárultak a diplomadolgozatom létrejöttéhez, ezek nélkül nem valósult volna meg ez a dolgozat. Köszönöm továbbá a családomnak a tanulmányaim során nyújtott támogatást.