

DOKTORI (Ph. D.) ÉRTEKEZÉS

APRÓ MELINDA

PANNON EGYETEM
GEORGIKON KAR

KESZTHELY

2016

Doktori (Ph. D.) értekezés

Szőlővírusok kimutatási módszereinek fejlesztése és alkalmazása a szőlőültetvények
vírusfertőzöttségének felmérésében

DOI: 10.18136/PE.2016.631

Apró Melinda

Festetics Doktori Iskola

Pannon Egyetem

Georgikon Kar

Témavezető

Dr. habil. Takács András Péter, Ph. D.

egyetemi docens

intézetigazgató

Keszthely

2016

**SZŐLŐVÍRUSOK KIMUTATÁSI MÓDSZEREINEK FEJLESZTÉSE ÉS
ALKALMAZÁSA A SZŐLŐÜLTETVÉNYEK VÍRUSFERTŐZÖTTSÉGÉNEK
FELMÉRÉSÉBEN**

Értekezés doktori (PhD) fokozat elnyerése érdekében

Írta:

Apró Melinda

Készült a Pannon Egyetem Festetics Doktori Iskola keretében

Témavezető:

Dr. Takács András Péter

Elfogadásra javaslom (igen / nem)

A jelölt a doktori szigorlaton%-ot ért el,

Az értekezést bírálóként elfogadásra javaslom:

Bíráló neve: igen /nem

.....

Bíráló neve: igen /nem

.....

A jelölt az értekezés nyilvános vitáján%-ot ért el.

Készthely,

.....

a Bíráló Bizottság elnöke

A doktori (PhD) oklevél minősítése.....

.....

Az EDHT elnöke

Tartalomjegyzék

| | |
|--|----|
| Rövidítések..... | 5 |
| Kivonat | 7 |
| Abstract | 9 |
| Zusammenfassung | 11 |
| 1. Bevezetés és célkitűzés | 13 |
| 2. Irodalmi áttekintés..... | 15 |
| 2.1. A szőlő levélsodródást okozó vírusok (<i>Grapevine leafroll-associated virus</i> , GLRaV) általános jellemzése..... | 15 |
| 2.1.1. Történeti áttekintés..... | 15 |
| 2.1.2. Szerológiai besorolás..... | 16 |
| 2.1.3. A levélsodródást előidéző vírusok legfontosabb jellemzői..... | 17 |
| 2.2. A szőlő levélsodródás vírus-3 (<i>Grapevine leafroll-associated virus 3</i> , GLRaV-3) jellemzői..... | 18 |
| 2.2.1. Morfológia, génszerveződés és replikáció | 18 |
| 2.2.2. Gazdanövény kör..... | 23 |
| 2.2.3. Előfordulás | 23 |
| 2.3. Vírusátvitel, transzlokáció..... | 24 |
| 2.4. Tünetek..... | 26 |
| 2.5. Élettani hatás | 28 |
| 2.5.1. GLRaV-3 fertőzés hatása a fotoszintézisre | 28 |
| 2.5.2. Szén-dioxid megkötés és szénhidrát anyagcsere változás..... | 29 |
| 2.5.3. Nukleinsav- és fehérjeanyagcsere változások a vírusfertőzött növényben | 30 |
| 2.5.4. Növekedésszabályzó anyagok változásai a GLRaV-3 fertőzött szőlőben | 30 |
| 2.6. Diagnosztikai lehetőségek..... | 31 |
| 2.7. A védekezés lehetőségei..... | 32 |
| 3. Anyagok és módszerek..... | 33 |
| 3.1. Növényi minta gyűjtése..... | 33 |
| 3.2. Szerológiai vizsgálatok | 34 |
| 3.3. Molekuláris virológiai vizsgálatok..... | 35 |
| 3.3.1. Vizsgálati anyag | 35 |
| 3.3.2. Vizsgálati módszer | 36 |
| 4. Eredmények..... | 42 |
| 4.1. A tünettani vizsgált eredményei | 42 |
| 4.1. Szerológiai vizsgálatok eredményei..... | 44 |
| 4.2. Molekuláris vizsgálat eredményei..... | 49 |
| 5. Következtetések, javaslatok | 56 |
| 6. Összefoglalás..... | 63 |
| 7. Új tudományos eredmények..... | 65 |
| 8. New results..... | 66 |
| 9. Irodalomjegyzék..... | 67 |
| 10. Köszönetnyilvánítás | 89 |
| 11. Publikációk, előadások..... | 90 |
| 12. Mellékletek..... | 94 |

Rövidítések

ABA: abszicinsav

AMV: *Alfalfa mosaic virus* – Lucerna mozaik vírus

ArMV: *Arabidopsis mosaic virus* - Arabisz mozaik vírus

Bp: basepair - bázispár

CP: coat protein - köpenyfehérje

CPm = dCP: minor coat protein. copy; divergent coat protein - a köpenyfehérje kisebb molekulatömegű. másolata

CO₂: szén-dioxid

DAS-ELISA: Double Antibody Sandwich Enzyme Linked Immunosorbent Assay - Kettős Ellenanyagszendvics - enzimhez kötött immunválasz eljárás

EDTA: Ethylenediaminetetraacetic-acid - Etilén-diamin-tetraecetsav

GBLV: *Grapevine Bulgarian latent virus* - Szőlő bolgáriai látens vírus

GCMV: *Grapevine chrome mosaic virus* - Szőlő króm-mozaik vírus

GFkV: *Grapevine fleck virus* – Szőlő foltosodás vírus

GFLV: *Grapevine fanleaf virus* - Szőlő fertőző leromlás vírus

GLRaV- 1, -2, -3, -4, -5, -6, -7, -9, -Pr, -Car: *Grapevine leafroll-associated virus* -1, -2, -3, -4, -5, -6, -7, -9, -Pr, -Car - Szőlő levélsodródás vírusok -1, -2, -3, -4, -5, -6, -7, -9, -Pr, -Car

GVA: *Grapevine virus A* - Szőlő A vírus

GVB: *Grapevine virus B* - Szőlő B vírus

HEL: helicase - helikáz enzim

HP: Homing protein - önvezérlő fehérje

HSP70h: 70 kDa heat shock homologue protein - 70 kDa hőshock fehérje homológ

MET: methyltransferase - metiltranszferáz enzim

M-MuLV: Moloney Murine Leukemia Virus reverse transcriptase - Moloney Murine Leukemia Virus reverz transzkriptáz enzim

nm: nanométer

ORF: open reading frame- nyílt leolvasási szakasz

P30: P30 like protein - p30 szerű fehérje

PEG: polyethylenglicol - polietilén-glikol

P-PRO: papain like protease - papain szerű proteolitikus fehérje

RdRp: RNA dependent RNA polimerase - RNS függő RNS polimeráz enzim

RSPaV: Rupestris stem pitting – associated virus – Szőlő faszöveti barázdáltság vírus

RT-PCR: reverze transcription polimerase chain reaction - reverz transzkripció
polimerizáción alapuló lánreakció

TBRV: *Tomato blackring virus* - Paradicsom fekete gyűrűs vírus

TEM: transmission electronmicroscopy - transzmissziós elektronmikroszkópia

TGB: triple gene block - hármas génblokk

TRIS: Tris-hydroxymethyl-aminomethane - Tris- hidroximetil- aminometán

TRIS-HCl: Tris-hydroxymethyl-aminomethane hidrogenchlorid - Tris-hidroximetil-
aminometán hidrogénklorid

VPg: virus genome linked protein - vírus genomhoz kötött fehérje

Kivonat

Szőlővírusok kimutatási módszereinek fejlesztése és alkalmazása a szőlőültetvények vírusfertőzöttségének felmérésében

A disszertáció a magyarországi borvidékek szőlőültetvényeinek vírusfertőzöttségével foglalkozik. A szerológiai tesztek nagyszámú minta vizsgálatát tették lehetővé. A pontosság identifikálásában azonban a vírusok molekuláris jellemzése elengedhetetlen. Ezért célul tűztük ki a Magyarországon a legtöbb szőlőültetvényben előforduló szőlő levélsodródást okozó vírusok közül a szőlő levélsodródás 3 vírus (*Grapevine leafroll-associated virus 3*, GLRaV-3) két hazai izolátumának változó köpenyfehérje (CPm) génszakaszának molekuláris jellemzését. Ehhez a módszerhez általunk tervezett speciális primerekre volt szükség, mely primerek a későbbiekben hozzájárulhatnak a GLRaV-3 gyors és pontos felismeréséhez.

A 2012 és 2014 között 22 borvidék 31 különböző korú és fajtaösszetételű termőültetvényének vírusfertőzöttségét vizsgáltuk. Elsősorban vírusfertőzésre utaló tüneteket mutató mintegy 325 levélminta került begyűjtésre. A vírusfertőzöttséget DAS-ELISA szerológiai módszerrel vizsgáltuk.

A DAS ELISA eredményeként 8 szőlővírus jelentését igazoltuk mintegy 77 minta esetében. A korábban jelentősnek tartott nepovírusok (fertőző leromlás vírus - *Grapevine fanleaf virus*, GFLV; arabisz mozaik vírus – *Arabis mosaic virus*, ArMV; szőlő króm-mozaik vírus – *Grapevine chrome mosaic virus*, GCMV) mintegy 10 mintában fordultak elő. A szőlőfoltosodás vírus (*Grapevine fleck virus*, GFkV) mindössze 2 mintában volt kimutatható. A szőlő levélsodródást okozó vírusok 67 mintában voltak jelen és ebből 28 mintában a szőlő A vírussal (*Grapevine virus A*, GVA) komplexen fordultak elő. A szőlő levélsodródást okozó vírusok Magyarország 7 borrégiójának 15 borvidékén voltak kimutathatóak. A negatív szerológiai eredmények esetében a vírusra utaló tünetek háttérben alacsony víruskoncentráció, anyagcserezavar, fitoplazma fertőzés és tápanyaghiány is állhatott. Továbbá olyan vírus is okozhatta a fertőzést, amelyre a szerológiai vizsgálat nem terjedt ki.

A molekuláris (RT-PCR) vizsgálatok során két hazai GLRaV-3 izolátum ORF7 régió által kódolt változó köpenyfehérje gén 1434 bp hosszúságú nukleotid szekvenciáját határoztuk meg. A munka során a kimutatására alkalmas univerzális primer pár tervezésére került sor a GenBank-ban felelhető szekvencia adatok alapján. Az eredményeket

összevetettük más izolátumok adataival. Az így kapott dendrogram alapján látható, hogy az ORF7 szekvenciák adatai alapján a GLRaV-3 vírusizolátumok 5 csoportra oszthatók. Mindezek alapján a Kőszeg1 izolátum a 2. számú csoportba, a Kőszeg2 izolátum pedig az 1. számú csoportba tartozik.

Az izolátumok szekvencia adatai LN851187 és LN851188 nyilvántartási számokkal kerültek a Genbank-ban elhelyezésre. Ezek az első magyarországi GLRaV-3 ORF7 régióját tartalmazó adatok.

Abstract

Application and development of detection methods of grape viruses in the survey of virus infection of vineyards

The task this work was to survey the occurrence of grapevine viruses in Hungarian vineyards. Serological test is a simple and highly sensitive method of analysis that allows simultaneous and rapid quantification of a large number of samples. The exact identification and molecular characterization of the viruses is necessary. Therefore aim was the characterization and sequencing the ORF7 gene of two Hungarian isolates for divergent coat protein (CPm) of *Grapevine leafroll-associated virus 3* (GLRaV-3). We needed to plan special primers for this method. These primers are expected to contribute to the fast and exact recognition of GLRaV-3 in the future.

Between 2012 and 2014 we tested virus contamination of 31 plantations with different ages and kinds of composition of 22 wine regions. In the first place some 325 leaf samples got collected that showed symptoms for virus contamination. We checked the virus contamination by DAS-ELISA serologic method.

As a result of the DAS ELISA method we could confirm presence of 8 grapevine viruses in some 77 samples. The nepoviruses that were previously considered as significant (*Grapevine fanleaf virus*, GFLV; *Arabis mosaic virus*, ArMV; *Grapevine chrome mosaic virus*, GCMV) were found in 10 samples. The *Grapevine fleck virus* (GFkV) could be detected in 2 samples in total. The *Grapevine leafroll-associated viruses* were present in 67 samples and out of these they were shown in 28 samples complex with an *Grapevine virus A*, (GVA). The *Grapevine leafroll-associated virus* could be detected in 15 wine-growing areas of 7 wine regions in Hungary. For the negative serological results low virus concentration, metabolic disorder, phytoplasma contamination and nutrient deficiencies also could stand in the background of the symptoms referring to virus. The contamination could have been caused, however, also by a virus that was not checked by the serological testing.

During the molecular (RT-PCR) testing we could define 1375 bp long nucleotide sequence of changing coat protein gene that was coded through ORF7 region of two interior GLRaV-3 isolates. While carrying out the job it came to planning of nested primer that is capable for detection based on the sequence data in the GeneBank. We compared the given

results with other isolators' data. Based on the obtained dendrogram it is visible that on the ORF7 sequence data the GLRaV-3 virus isolate can be divided into 5 categories. Based on this categorization the Kőszeg1 isolate belongs to the group number 2, and the Kőszeg2 isolate to the group number 1.

The sequence data of the isolates got placed in to the GeneBank with the registration numbers LN851187 and LN851188. These are the first data containing the Hungarian GLRaV-3 ORF7 region.

Zusammenfassung

Entwicklung und Anwendung von Ausweismethoden der Rebviren in der Erhebung von Viruskrankheiten in Weingebieten

Während unserer Arbeit haben wir uns zum Ziel gesetzt, die Viruskrankheiten von Rebstöcken der Weinregionen in Ungarn zu untersuchen und Mantelprotein-(CPm)-Gensequenz von zwei heimischen Blattrollvirus 3 (*Grapevine leafroll-associated virus 3*, GLRaV-3) Isolaten molekular zu charakterisieren.

Es wurden zwischen 2012 und 2014 31 Rebstöcke unterschiedlichen Alters und diverser Sorten der 22 Weingebiete auf Viruskrankheiten getestet. In erster Linie wurden etwa 325 Symptome einer Viruskrankheit aufweisende Blattproben eingesammelt. Die Viruskrankheiten wurden mittels serologischen DAS-ELISA Verfahrens untersucht.

Durch DAS ELISA wurden die Präsenz von 8 Rebviren in etwa 77 Proben bestätigt. Die früher für bedeutend gehaltenen Nepoviren (die Reisigkrankheit - *Grapevine fanleaf virus*, GFLV; das Arabis Mosaik Virus – *Arabis mosaic virus*, ArMV; Weinrebe Chrom Mosaik Virus – *Grapevine chrome mosaic virus*, GCMV) sind etwa bei 10 Proben festgestellt. Das Fleckvirus (*Grapevine fleck virus*, GFkV) wurde in insgesamt 2 Proben ausgewiesen. Die Rebviren wurden in 67 Proben gefunden und davon in 28 Proben mit Virus A (*Grapevine virus A*, GVA) komplex erschienen. Die Rebviren konnten in 15 Weingebieten von 7 ungarischen Weinregionen ausgewiesen werden. Bei den negativen serologischen Ergebnissen könnten im Hintergrund der Virussympptome niedrige Viruskonzentration, Stoffwechselstörung, Phytoplasmainfektion und ein Defizit an Nährstoffen zusammen stehen. Weiterkin konnte die Infektion ein Virus verursachen, welches serologisch nicht getestet wurde.

Im Zuge der molekularen (RT-PCR) Analysen es war durch ORF7 Region kodierte Mantelproteingen 1434 bp lange Nukleotidsequenzen von zwei heimischen GLRaV-3 Isolaten bestimmt. Während der Arbeit wurde aufgrund der GenBank-Sequenzdaten zu deren Ausweisen geeignete Primer geplant. Die Ergebnisse es war mit Daten von anderen Isolaten vergleichen. Aufgrund dieses Dendrogramms ist ersichtlich, dass laut ORF7 Sequenzen die GLRaV-3 Virusisolate in 5 Gruppen aufzuteilen sind. So gehört Isolat Kőszeg1 zur Gruppe 2, während Isolat Kőszeg2 zur Gruppe1.

Die Sequenzdaten der Isolate wurden mit den Registernummern LN851187 und LN851188 in der GenBank angeführt. Diese sind die ersten ungarische GLRaV-3 ORF7 Region beinhaltenden Daten.

1. Bevezetés és célkitűzés

A szőlő már évezredek óta az ember egyik legfontosabb táplálékát és italát adja. Az elmúlt évek során nem csak a termesztésre szánt szőlő fajták mennyisége, hanem a rajtuk és a bennük élősködő kórokozók száma és az általuk okozott kártétel mértéke is megnövekedett. Az évek óta jelenlévő kórokozók biológiájának ismerete és a mai modern termesztési és növényvédelmi technológiák, továbbá a különböző növényvédő szerek használata lehetővé teszi számunkra, hogy a gombás és a baktériumos megbetegedések ellen a megfelelő módon és időben tudjunk védekezni. Sikeres védelem fitoplazmák és a vírusok okozta megbetegedésekkel szemben csak a kórokozó fertőzésének megelőzésével lehetséges. Napjainkig több mint 60 vírusfajt írtak le a szőlőről. Magyarországon eddig 17, a szőlőt fertőző növényi vírus jelenlétét azonosították.

Magyarországon a szőlő virológiai kutatások az 1960-as évek végén kezdődtek el, melyek Lehoczky János és munkatársai nevéhez köthetőek. Ezek a kutatások leginkább a kórokozók azonosítására, és azok életmódjának a megismerésére irányultak 1972-ben, ezeknek a kutatásoknak köszönhetően Magyarországon kötelezővé váltak a szőlővirológiai ellenőrzések a szőlő szaporítóanyag előállításánál (Lehoczky, 1965; Lehoczky és mtsai, 1984). Az ellenőrzések a 87/2006.(XII.28.) FVM rendeletben szereplő előírásoknak megfelelően történnek és a következő vírusokra vonatkoznak: szőlő fertőző leromlás vírus (*Grapevine fanleaf virus*, GFLV), arabisz mozaik vírus (*Arabidopsis mosaic virus*, ArMV), szőlő foltosodás vírus (*Grapevine fleck virus*, GFkV), szőlő levélsodródás vírus -1 (*Grapevine leafroll-associated virus -1*, GLRaV-1), szőlő levélsodródás vírus -2 (*Grapevine leafroll-associated virus -2*, GLRaV-2), szőlő levélsodródás vírus -3 (*Grapevine leafroll-associated virus -3*, GLRaV-3), szőlő A vírus (*Grapevine virus A*, GVA); szőlő B vírus (*Grapevine virus B*, GVB), szőlő D vírus (*Grapevine virus D*, GVD). Mindemellett az általunk gyűjtött mintákra a következő vírusokra nézve is teszteltük: szőlő króm-mozaik vírus (*Grapevine chrome mosaic virus*, GCMV), paradicsom fekete gyűrűs vírus (*Tomato black ring virus*, TBRV) és a lucerna mozaik vírus (*Alfalfa mosaic virus*, AMV). A vizsgált vírusok közül világviszonylatban a legelterjedtebb és a legnagyobb gazdasági károkat a levélsodródás tünetcsoportba tartozó vírusok, azon belül is a GLRaV-3 okozza. Ez a vírus kizárólag csak a *Vitis vinifera* fajokban replikálódik, más gazdanövénye nem ismert. Terjedésében a vándorpajzstetvek játszanak szerepet, továbbá a fertőzött szaporítóanyag használata. A

fertőzést követően a szőlőtőke gyors leromlása tapasztalható, ami függ az alany/nemes kombinációjától, a növény kondíciójától, valamint a termesztési és környezeti feltételektől.

A dolgozat célja a Pannon Egyetem Növényvédelmi Intézet (Keszthely) által korábban már megkezdett szőlővirológiai vizsgálatok folytatása és Magyarország borvidékeinek különböző szőlőültvényeiben előforduló szőlővírusok elterjedésének megállapítása. Az értekezés célja volt a világviszonylatban elterjedt levélsodródást okozó vírusok közül a GLRaV-3 magyarországi izolátumának molekuláris vizsgálata, az izolátumok eredetének és rokonsági viszonyainak a megállapítása is.

2. Irodalmi áttekintés

2.1. A szőlő levélsodródást okozó vírusok (*Grapevine leafroll-associated virus, GLRaV*) általános jellemzése

A szőlőültetvényekben jelenlévő számos vírus közül a legelterjedtebbek és egyben a legnagyobb gazdasági károkat a levélsodródás vírusok okozzák (Bovey és mtsai, 1980; Martelli, 2009; Atallah és mtsai, 2012; Sandayaka és mtsai, 2012; Thompson és mtsai, 2012). A szőlő levélsodródást okozó vírusok által előidézett termésveszteség 20-40% közé tehető (Routh és mtsai, 1998), kedvezőtlen esetben akár 68 %-ot is elérheti (Walter, 1997). A fertőzés nemcsak a növény egészségi állapotára, hanem a fertőzött bogyóból készült must erjedésére is hatással van. A szőlőbogyóban a cukor/sav arány a sav javára tolódik el, így a fertőzött bogyóból készült bor minőségi paraméterei is alul maradnak a kívánt követelményeknek (Naidu és mtsai, 2008).

2.1.1. Történeti áttekintés

A rendellenes levélmorfológiájú szőlőtőkéről szóló feljegyzések már a szőlő-filoxéra (*Viteus vitifoliae*) megjelenése előtti időszakra tehetőek. Ezek a leírások részletesen kitérnek a levélsodródás okozta tünetekre is (Gale, 2002). Kezdetben, az 1800 évek előtt úgy gondolták, hogy ezek az elváltozások fiziológiai eredetűek (Martelli és Boudon-Padieu, 2006). Scheu (1935) kimutatta, hogy a betegség oltással átvihető, így kórokozó állhat a háttérben (Charles és mtsai, 2006). Az évek során több tanulmány született, amelyekben a világ összes szőlő termesztő régiójában leírták a kórokozók előfordulását, beleértve Európát, Dél- és Észak-Amerikát, Közel-Keletet, Afrikát és Óceániát (Mafoudhi és mtsai, 2008; Fiore és mtsai, 2008; Charles és mtsai, 2009). A levélsodródás okozta vírusok elnevezése eltérő a különböző földrajzi területeken: „White Emperor disease” (Anglia), „Rollkrankheit” és „Blattrollkrankheit” (Németország), „enroulement” (Franciaország), „accartocciamento fogliare” (Olaszország), „enrollamiento de la hoja” és „enrollado” (Spanyolország), „Enrolamento de la folha” (Portugália) (Martelli és Boudon-Padieu, 2006).

2.1.2. Szerológiai besorolás

A szőlő levélsodródás tüneteit több, egymáshoz hasonló tulajdonságú vírus külön-külön, vagy együttesen is előidézhetheti. A szakirodalomban eddig 9 szerológiaiailag különböző csoportot írtak le, amelyek összefüggésben állhatnak a betegséggel (Meng és mtsai, 2005). Az elmúlt időszakban újabb vírusokat azonosítottak, ezek: a GLRaV-Pr, GLRaV-De és GLRaV-car (Abou és mtsai, 2010). Többségük az *Ampelovirus* nemzetség tagja, kivéve a GLRaV-2, amely a *Closterovirus* és a GLRaV-7, amely a *Valerivirus* nemzetségbe tartozik (Al Rwahnih és mtsai, 2011). A jelenlegi kutatások szerint a GLRaV-8 szekvenciája alapján mégsem tekinthető vírus-eredetűnek, ezért a legújabb szerológiai besorolásban nem szerepel (Bertsch és mtsai, 2009; Martelli és mtsai, 2012) (1. táblázat).

1. táblázat. A levélsodródást okozó vírusok jelenlegi osztályozása (Boscia és mtsai, 1995; Martelli és mtsai, 2012)

| Vírus | Nemzetség | CP mérete (kDa) | Genom mérete (nt) | GenBank azonosító | ORF-ek | Vektorok | Első feljegyzés |
|------------------------|----------------------|-----------------|--------------------|-------------------|--------|--|---|
| GLRaV-1 | <i>Ampelovirus</i> | 34 | 18659 | JQ023131 | 9 | vándor pajzstetvek és viaszos pajzstetvek | Gugerli és mtsai, 1984 |
| GLRaV-2 | <i>Closterovirus</i> | 22 | 16494 | AY88162 | 8 | ismeretlen | Zimmermann és mtsai, 1990 |
| GLRaV-3 | <i>Ampelovirus</i> | 35 | 18498 | EU259806 | 12 | vándor pajzstetvek, viaszos pajzstetvek és pajzstetvek | Zee és mtsai, 1987 |
| GLRaV-4 | <i>Ampelovirus</i> | 35 | 13830 | FJ467503 | 6 | vándor pajzstetvek | Hu és mtsai, 1990 |
| GLRaV-5 ^a | <i>Ampelovirus</i> | 35 | 13384 ^b | FR822696 | 6 | vándor pajzstetvek | Walter és Zimmermann, 1991; Zimmermann és mtsai, 1990 |
| GLRaV-6 ^a | <i>Ampelovirus</i> | 35 | 13807 | FJ467504 | 6 | vándor pajzstetvek | Gugerli és Ramel, 1993; Gugerli és mtsai, 1997 |
| GLRaV-7 | <i>Valerivirus</i> | 37 | 16496 | HE588185 | 10 | ismeretlen | Choueiri és mtsai, 1996 |
| GLRaV-9 ^a | <i>Ampelovirus</i> | 35 | 12588 ^b | AY29781 | 6 | vándor pajzstetvek | Alkowni és mtsai, 2004 |
| GLRaV-Pr ^a | <i>Ampelovirus</i> | 30 | 13696 | AM182328 | 6 | vándor pajzstetvek | Maliogka és mtsai, 2009 |
| GLRaV-Car ^a | <i>Ampelovirus</i> | 29 | 13626 | FJ907331 | 6 | ismeretlen | Abou Ghanem-Sabanadzovic és mtsai, 2010 |

Megjegyzés: ^a: A GLRaV-4 törzseiként kerülhetnek a jövőben besorolásra, ^b: megközelítőleg teljes szekvencia

A *Closteroviridae* család legutóbbi taxonómiai felülvizsgálata során 5 genetikailag különböző, a szállítószövetekben előforduló és fonalas szerkezetű levélsodródás vírust fogadtak el (Martelli és mtsai, 2012).

A filogenetikai elemzések az ampelovírusokat két különböző alcsoportba osztották. Az I. alcsoport magába foglalja a GLRaV-4,-5,-6,-9,-Pr és -De törzseket, a II. alcsoport a GLRaV-1-et és a GLRaV-3-at (Maliogka és mtsai, 2008). Az *Ampelovirus* nemzetség legjelentősebb kórokozójának a GLRaV-3 tekinthető (Sharma és mtsai, 2011; Maree és mtsai, 2013)

2.1.3. A levélsodródást előidéző vírusok legfontosabb jellemzői

A GLRaV tünetei a fajták érzékenységtől függően eltérők. Ismertek toleráns fajták, amelyeken a tünetek szabad szemmel nem figyelhetők meg, ezek többségében az alanyok közül kerülnek ki (Krake és mtsai, 1999). A tünetek intenzitása függ a termőhely klimatikus viszonyaitól és a talaj tápanyagtartalmától. A GLRaV-1 és -3 jellete okozza a legintenzívebb tüneteket. A GLRaV-7 fertőzése esetén általában enyhe tünetek jelennek meg. A közelmúltban a kutatók javaslatot tettek a GLRaV-7 új nemzetségbe történő átsorolására (Martelli és mtsai, 2012).

A szőlő levélsodródás vírusoknak a *Vitis* fajokon kívül más gazdanövénye nem ismert. A GLRaV-7, amely feltételesen tagja a levélsodródást okozó vírusoknak (Al Rwahnih és mtsai, 2011) *Cuscuta* fajok közvetítésével sikeresen átvihető lágyszárú növényekre (Mikona és Jelkmann, 2010; Melzer és mtsai, 2013).

Számos levélsodródás vírust a viaszos- és a teknős pajzstetvek terjesztenek (Belli és mtsai, 1994; Martelli, 2000; Golino és mtsai, 2002; Martelli és Boudon-Padieu, 2006; Tsai és mtsai, 2010). A GLRaV-2 vektora jelenleg nem ismert (Fuchs, 2007), további jellemzője, hogy a többi vírussal ellentétben oltás-összeférhetetlenséget okoz.

A laboratóriumi módszereken túlmenően a GLRaV fajok zöldoltással, indikátor növények használatával azonosíthatóak. A klimatikus viszonyoktól függ, hogy az adott régióban, melyik vörös szőlőfajtát használják indikátorként. A Pinot noir indikátor mellett Cabernet franc, Gamay noir, Alicante Bouschet és a Carignane szőlőfajták alkalmasak a levélsodródást okozó closterovírusok kimutatására (Kölber és mtsai, 1994; Lázár és mtsai, 1995). A laboratóriumi tesztek közül a szerológiai vizsgálat elsősorban a kettős ellenanyag szendvics technológia (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) és a molekuláris

vizsgálatok közül a polimeráz láncreakción (PCR) alapuló nukleinsav meghatározás a legelterjedtebbek (Fusch, 2007). A fertőzöttség felmérésére általában az ELISA tesztek használják. Azon kórokozók esetében, ahol nem áll rendelkezésre szerológiai reagens RT-PCR módszerrel vizsgálják. Ez utóbbi technológia a költségesebb, ezért a szőlőtermesztés gyakorlatában ritkábban használják. A molekuláris módszereket leginkább a vírusfajok pontos azonosítására és a törzsek elkülönítésére használják (Martelli és mtsai, 2002).

A termesztett szőlő esetében eddig még nem azonosítottak olyan fajtát, amely rezisztenciát mutatna bármely GLRaV-val szemben. Ezért a hagyományos rezisztenciára való nemesítés jelenleg nem eredményes (Fuchs, 2007).

2.2. A szőlő levélsodródás vírus-3 (*Grapevine leafroll-associated virus 3*, GLRaV-3) jellemzői

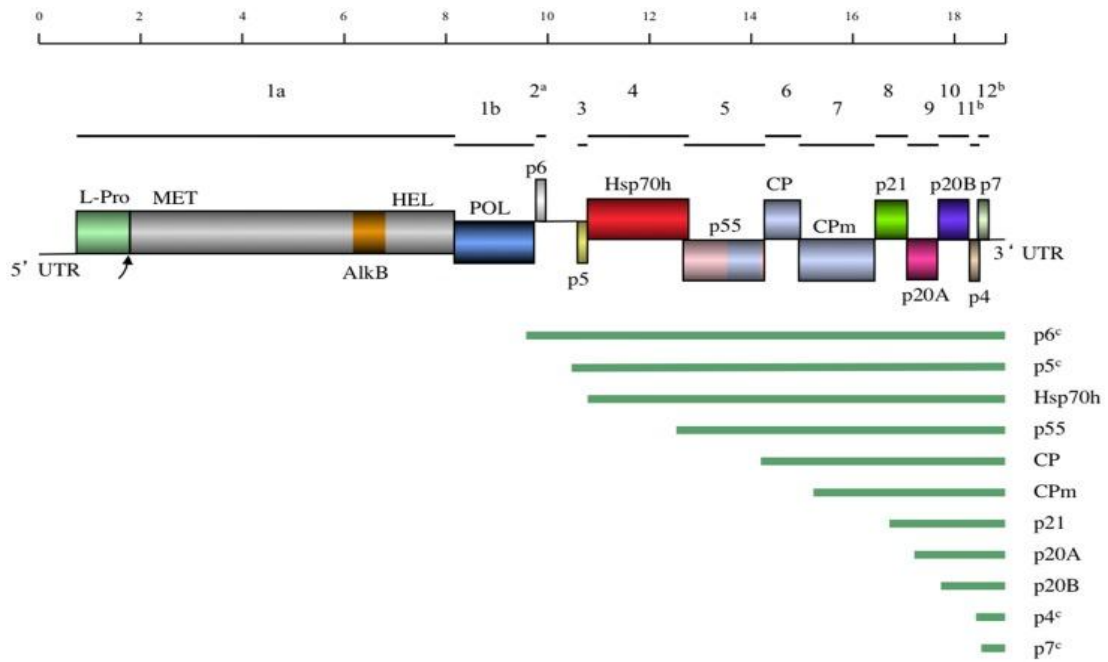
2.2.1. Morfológia, génszerveződés és replikáció

2.2.1.1. Fizikai felépítés és taxonómia

A GLRaV-3 az *Ampelovirus* nemzetség *Closteroviridae* családjának a tagja (Martelli és mtsai, 2002). Virionja helikális szerkezetű és hajlékony fonál alakú, ami megközelítőleg 1,800 nm x 12 nm hosszúságú (Martelli és mtsai, 2011). Genomja pozitív szálú RNS, amely kb. 18 500 nukleotidból épül fel (Maree és mtsai, 2008). Jelenleg 10 különböző GLRaV-3 izolátum teljes genomja alkotja a genetikai variánsok négy fő csoportját.

A nagy köpenyfehérje (CP), mely 34kDa nagyságú az 5' vég kivételével (kb.100 nm) a teljes hosszát befedi a virionnak. A vírus-RNS 5' vége valószínűleg a virion farok struktúra alapján enkapszulálódik, hasonlóan a *Closteroviridae* család többi tagjához. A RNS 5' részt a következő fehérjék kódolják: ORF4 (HSP70h), ORF5 (p55) és az ORF7 (CPm). Feltételezhető, hogy ezek a fehérjék a sejtről-sejtre történő terjedést segítik és a transzport folyamatokban is szerepet játszanak (Dolja és mtsai, 2006).

A 3' vég nem poliadenilált. Az ORF-ek Agronovsky és mtsai. (1991) javaslata alapján vannak jelölve: 1a, 1b és 2-től 12-ig. Az I és III genetikai variáns csoportok 13 nyílt leolvasási szakaszt tartalmaznak (1. ábra).



Rövidítések: UTR- nem kódoló régiók, L-Pro- Papain szerű proteáz, MET- metiltranszferáz, AlkB- AIKB domén [Fe (II)/2- oxoglutarát függő dioxigenáz], HEL- helikáz, POL- RNS függő RNS polimeráz Hsp70h- 70 kDa nagyságú hősokk fehérje homológ, CP- köpenyfehérje CPm- kis köpenyfehérje, a – nem szerepel a VI. csoportban, b –erősen eltér a VI. csoport és a VI. csoportban, c –feltehetőleg szubgenomi RNS.

Magyarázat: A genom térképen a vonalak felett az ORF pozíciói vannak jelölve a rájuk vonatkozó számokkal. A boxok mutatják a gének pozícióját és a géntermék tartományát. A hasonlóságot a p55, CP és CPm között ugyanaz a szín jelzi. Az sgRNS-eket zöld vonal ábrázolja a térkép alatt.

1. ábra. GLRaV-3 genom szerkezete (Maree és mtsai, 2013)

Az ORF1a kódolja a Papain-szerű proteázt (L-Pro), metiltranszferázt, helikázt és az AlkB domént. Az L-Pro kiemelkedő szerepet játszik a vírusgenom kiterjesztésében vagy aktiválásában. A régió filogenetikai elemzése megmutatta, hogy a GLRaV-3 saját csoportot alkot a többi clostervírushoz képest. Az ORF1b kódolja az RNS függő RNS polimerázt. Az ORF2 egy kis peptidet, az ORF3 pedig egy kisméretű hidrofób transzmembrán fehérjét kódol. A VI. variáns csoportban hiányzik az ORF 2 (Bester és mtsai, 2012; Seah és mtsai, 2012). Az ORF 2 és 3 között GC gazdag szakaszok találhatók, amelyek nem tipikus jellemzői a *Closteroviridae* családnak. A GLRaV-3 fehérjeinek funkcióit a 3-7-ig terjedő ORF-ek kódolják (Dolja és Carrington, 1992). Az ORF4 kódolja a HSP70-homológfehérjét. Ez a fehérje csak a *Closterovirus* család tagjainál található meg és nyolc régiót konzervál (A-H), ezek közül három (A-C) ATPáz aktivitású. Az ORF5 egy 55kDa nagyságú fehérjét, a HSP90-t kódolja (Dolja és mtsai, 1994). Az ORF6 és ORF7 két különböző tömegű CP-t kódol. Az ORF7 kisebb molekulatömegű és az eredeti CP egy részének a másolata, ami feltehetően a virion 5' végét burkolja. Az ORF6 által kódolt nagyobb molekulatömegű fehérje burkolja a

virionokat. Az ORF-ek (8-12) funkciója még nem került meghatározásra (Ling és mtsai, 1998).

2.2.1.2. A GLRaV-3 genetikai variánsai

Jelenleg 12 izolátum teljes, vagy majdnem teljes nukleinsav szekvenciája ismert (2. táblázat). A GLRaV-3 első teljes hosszúságú szekvenciáját Ling és mtsai. (2004) közölték (NY-1 izolátum), majd ezt követően 2008-ban, egy chilei (CI-766) és egy dél-afrikai izolátum (GP18) teljes nukleinsav szekvenciája került meghatározásra. A chilei izolátum szekvenciája azonos tulajdonságokat mutatott az NY-1 izolátummal (Engel és mtsai, 2008). A Maree és mtsai. (2008) által meghatározott dél-afrikai izolátum 5'UTR hossza különbözik az előző izolátumok 5'UTR hosszától. A 3'UTR hossz mindhárom izolátumnál azonos számú nukleotidból épült fel. Maree és mtsai. (2008) jelentése óta további három dél-afrikai izolátum (621, 623 és PL-20) teljes nukleotid szekvenciája került meghatározásra (Jooste és mtsai, 2010).

2. táblázat. A GLRaV-3 izolátumok teljes és közel teljes nukleinsav szekvenciáinak adatai (Maree és mtsai, 2013)

| Izolátum | GenBank azonosító | Ország | <i>Vitis vinifera</i> fajta | Genom méret (nt) | 5'UTR | 3'UTR | Genom variáns csoportok | Hivatkozás |
|----------|-------------------|------------|-----------------------------|------------------|-------|-------|-------------------------|-------------------------|
| NY-1 | NC004667 | Amerika | Pinot noir | 17919*- | 158*- | 277 | I | Ling és mtsai, 2004 |
| G21 | GQ352631 | Dél-Afrika | Cabernet sauvignon | 18498 | 737 | 277 | I | Jooste és mtsai, 2010 |
| WA-MR | GU983963 | Amerika | Merlot | 18498 | 737 | 277 | I | Jarugula és mtsai, 2010 |
| CL-766 | EU344893 | Chile | Merlot | 17919*- | 158*- | 277 | I | Engel és mtsai, 2008 |
| GP18 | EU259806 | Dél-Afrika | Cabernet sauvignon | 18498 | 737 | 277 | II | Maree és mtsai, 2008 |
| 623 | GQ352632 | Dél-Afrika | Ruby Cabernet | 18498 | 737 | 277 | II | Jooste és mtsai, 2010 |
| PL-20 | GQ352633 | Dél-Afrika | Cabernet sauvignon | 18433 | 672 | 277 | III | Jooste és mtsai, 2010 |
| LN | JQ423939 | Kína | Venus Seedless | 18563 | 802 | 277 | III | Fei és mtsai, 2012 |
| CA7246 | JQ796828 | Amerika | Merlot | 18552 | 737 | 274 | VI | Seah és mtsai, 2012 |
| GH11 | JQ655295 | Dél-Afrika | Cabernet | 18671 | 737 | 264 | VI | Bester és mtsai, 2012 |
| GH30 | JQ655296 | Dél-Afrika | Cabernet | 18576 | 642 | 264 | VI | Bester és mtsai, 2012 |
| 139 | JX266782 | Ausztrália | Sauvignon blanc | 18475 | 510 | 250 | nem lett meghatározva | Rast és mtsai, 2012 |

Jelmagyarázat: *- majdnem teljes nukleinsav szekvencia

Turturo és mtsai (2005) különböző országokból származó GLRaV-3 izolátum RdRp, HSP70, CP fehérjéket kódoló szakaszok genetikai változékonyságát vizsgálta, amelyek nukleotid szinten 90% hasonlóságot mutattak. Az RdRp és HSP70 régiók elemzésekor a régiók 10%-a, míg a CP régiók elemzésekor 15% mutatott kevert fertőzést. Jooste és Goszczynski (2005) a tanulmányukban a GLRaV-3 variáns csoportjait két osztályba sorolták, amelyeket I. és II. csoporttal jelölték. A további hasonló vizsgálatok során a csoportok száma bővült. A legtöbb variáns csoport a HSP70 homológ fehérje filogenetikai vizsgálata alapján volt kimutatható (Angelini és mtsai, 2006; Soule és mtsai, 2006; Prosser és mtsai, 2007; Engel és mtsai, 2008; Fusch és mtsai, 2009). A további HSP70 és CP génnel történt vizsgálatok alapján öt variáns csoport létezését erősítették meg, és további kettő csoport meglétére utaltak, melyek a VI. és a VI. csoporthoz hasonló elnevezést kapták (Chooi és mtsai, 2009; Gouveia és mtsai, 2011; Sharma és mtsai, 2011; Wang és mtsai, 2011; Bester és mtsai, 2012; Seah és mtsai, 2012; Chooi és mtsai, 2013a). Ezek a csoportok a filogenetikai fa

két külön kladogramjához tartoznak. Az első kladogram az I, II, III, IV és V csoport izolátumait, míg a második a VI. és VI.-hoz hasonló variáns csoport izolátumait foglalja magába (Chooi és mtsai, 2013a).

Sharma és mtsai (2011), valamint Wang és mtsai (2011) tanulmányukban betűket használtak a különböző csoportok elnevezéséhez: 3a, 3b, 3c, 3d, 3e és 3g. Ezek szinonimái az I., II., III., IV., V. és VI. elnevezések. Más tanulmányokban az izolátum nevét használták a variáns csoportok megjelölésére. Maree és mtsai. (2013) a folyamatosan növekvő római számok egységes használatát javasolják a GLRaV-3 genetikai variánsainak a megkülönböztetésére és a filogenetikai csoportok azonosítására.

2.2.1.3. A variánsok megoszlása a fertőzött ültetvényekben

Különbéle tanulmányok vizsgálták a GLRaV-3 variánsok megoszlását a szőlőültetvényekben. A tanulmányok megegyeztek abban, hogy számos tényező (vírus-vektor kapcsolat, vírussal fertőzött növényi anyag használata, szőlészeti technológia, stb.) hatással lehetnek a variánsok megoszlására. Jooste és mtsai. (2011) egy dél-afrikai tanulmányban a II. variáns csoport előfordulását detektálták, majd egy későbbi tanulmányban a VI. variáns csoport túlsúlyát mutatták ki egyes dél-afrikai régiókban (Bester és mtsai, 2012; Jooste és mtsai, 2012). A kínai tanulmányokban az I. csoport genetikai variánsai domináltak (Farooq és mtsai, 2013), míg Portugáliában az I. és II. csoportot találták a leggyakoribbnak (Gouvei és mtsai, 2009). Egy Chooi és mtsai. (2013b) által készített új-zélandi tanulmányban, az ültetvényekben az I. és VI.-hoz hasonló csoportok előfordulása dominált, addig a szaporítóanyag előállításra szolgáló fajtagyűjteményekben csak a VI.-hoz hasonló variáns csoport fordult elő. Egy amerikai tanulmányban Sharma és mtsai. (2011) az izolátumok előfordulásának a %-os megoszlásáról számolnak be. Megállapításuk alapján az I. variáns csoport 27%-ban, a II. csoport 13 %-ban, míg a III. csoport 31%-ban fordult elő Napa Valley szőlőültetvényeiben. Komplex fertőzés a minták 21%-ban fordult elő.

2.2.2. Gazdanövény kör

A GLRaV-3 vírus gazdanövényeként jelenleg csak a *Vitis* fajok ismertek. A fertőzött *Vitis vinifera* fajok a vektorok által természetes úton megfertőzhetik a *V. californica*, *V. vinifera* x *V. californica* hibrideket (Klaassen és mtsai, 2011), továbbá a *V. labrusca* 'Concord' és *V. labrusca* 'Niagara' fajtákat (Naidu és mtsai, 2011).

A *Vitis rupestris* cv. St. George, *V. berlandieri* x *V. rupestris* 99 R, *V. solonis* x Othello 1613, *V. berlandieri* x *V. riparia* T-K 5 BB a vírus tünetmentes gazdái lehetnek (Hewitt és mtsai, 1962).

2.2.3. Előfordulás

A GLRaV-3 által okozott fertőzések gyakorisága a környezeti feltételektől és a vektorok előfordulásától függően változik (Douglas és Krüger, 2008).

A GLRaV-3 a legelterjedtebb kórokozó a világ szőlőtermesztő régióiban (Ribeiro és mtsai, 2004; Martin és mtsai, 2005; Cabaleiro és Segura, 2006; Charles és mtsai, 2006; Pietersen, 2006; Martelli és Boudon-Padieu, 2006; Maree és mtsai, 2008; Jooste és mtsai, 2010; Sharma és mtsai, 2011; Bester és mtsai, 2012). Elterjedésének az oka a szőlőtermesztő régiók közötti széleskörű szaporítóanyag kereskedelem. A vírus vektorai szerepet játszanak a fertőzés lokális terjedésében (Cabaleiro és Segura, 2006; Martelli és Boudon-Padieu, 2006; Sharma és mtsai, 2011, Tsai és mtsai, 2012). A GLRaV-3 hazai előfordulásának a gyakoriságáról Lázár és Terjék (2009) is beszámol.

A GLRaV-3 aránylag gyors elterjedését jelezték Új-Zélandon (Jordan, 1993; Goussard és Underhay, 2004), Ausztriában (Habli és Nutter, 1997; Gangl és mtsai, 2011), ciprusi ültetvényekről (Ioannou és mtsai, 1999), Spanyolországban (Cabaleiro és mtsai, 2008; Cabaleiro, 2009), az USA-ban (Golino és mtsai, 2008). Ezzel szemben Észak-Olaszországban a vírus lassabb terjedéséről tettek említést (Bertin és mtsai, 2009). A világ valamennyi szőlőtermesztő országában: Ausztrália (Habli és Randles, 2008; Habli és mtsai, 2009; Rast és mtsai, 2012), Brazília (Fajardo és mtsai, 2007), Chile (Engel és mtsai, 2008), Csehország (Komínek és Holleinová, 2003; Komínek és mtsai, 2004), India (Kumar és mtsai, 2013), Jordánia (Anfoka és mtsai, 2004), Kína (Ling és mtsai, 2004; Farooq és mtsai, 2013),

Magyarország (Cseh és mtsai, 2013), Montenegró (Zindović és mtsai, 2014), Portugália (Gouveia és mtsai, 2011) és USA (Milkus és mtsai, 2000) születtek tanulmányok a vírus jelentőségéről és elterjedéséről.

A Magyarországgal szomszédos országok mindegyikében jelezték a vírus jelenlétét: Szlovákia (Glasa és Predajna, 2012), Ukrajna (Zhun'ko és mtsai, 2008); Románia (Buciumeanu és mtsai, 2010); Szerbia (Sivčev és mtsai, 2011; Kuzmanović és mtsai, 2011; Starović és mtsai, 2008), Horvátország (Voncina és mtsai, 2011), Szlovénia (Štrukelj, 2013) és Ausztria (Leonhardt és mtsai, 1998).

2.3. Vírusátvitel, transzlokáció

A GLRaV-3 a vegetatív szaporítási módok mindegyikével átvihető. Különösen veszélyes az oltvány-előállítás esetében, az alany esetleges látens fertőzöttsége (Lee és mtsai, 2009; Dula és mtsai, 2012). A vírus mechanikai úton történő átvitele nem bizonyított.

Woodham és Krake (1983) kimutatták, hogy laboratóriumi körülmények között a levélsodródás betegségek átvitele a nagy arankával (*Cuscuta campestris*) is lehetséges.

Bahder és mtsai (2013) laboratóriumi körülmények között elsőként bizonyították a *Vitis* fajokon belüli, nevezetesen a *Vitis x labrusca* és a *Vitis vinifera* fajok közötti vírusátvitelt *Pseudococcus maritimus* (Hemiptera: *Pseudococcidae*) és a *Parthenolecanium corni* (Hemiptera: *Coccidae*) vektorokkal.

A vírus eddig ismert vektorai a viaszos pajzstetvek közül a *Heliococcus bohemicus* (Sforza és mtsai, 2003), *Phenacoccus aceris* (Sforza és mtsai, 2003), *Planococcus ficus* (Engelbrecht és Kasdorf, 1990; Tsai és mtsai, 2008), a *Planococcus citri* (Cabaleiro és Segura, 1997; Cid és mtsai, 2007; Cabaleiro és mtsai, 2008), *Pseudococcus affinis*, a *Pseudococcus calceolariae* (Petersen és Charles, 1997), *Pseudococcus comstocki* (Sforza és mtsai, 2003), *Pseudococcus longispinus* (Tanne, 1989), a *Pseudococcus maritimus*, a *Pseudococcus viburni* (Golino és mtsai, 2002).

A teknős pajzstetvek közül a *Ceroplastes rusci* (Mahfoudhi és mtsai, 2009), a *Coccus hesperidum* (Sforza és mtsai, 2003), a *Coccus longulus* (Douglas-Smith és Krüger, 2013), a *Neopulvinaria innumerabilis* (Belli és mtsai, 1994), *Parassaissetia nigra* (Douglas-Smith és Krüger, 2013), a *Parthenolecanium corni* (Krüger és Douglas, 2009), a *Pulvinaris*

innumerabilis (Golino és mtsai, 2002), a *Pulvinaria vitis* (Belli és mtsai, 1994) és a *Saissetia* sp. (Krüger és Douglas, 2009) esetében bizonyított a vírusátviteli képesség.

A GLRaV-3 különböző pajzstetvekkal történő átvitele során kísérleti körülmények között 1-7 nap közötti időszaknak el kell telnie ahhoz, hogy a sikeres vírusfelvétel megtörténjen (Cabaleiro, 1997; Cabailero és Segura 1997; Douglas és Krüger, 2008; Sandayaka és mtsai, 2012). A vektorok kizárólagosan a szállítószövetből, azon belül is a hánctól való táplálkozás során, rövidebb és hosszabb vírusfelvételi szívás után is képesek leadni a virionokat. A vektorok felvételi szívás előtti éheztetése a vírusátvitel sikerességét nem befolyásolja. Ennek megfelelően a vírusátvitel szemiperzisztens módon történik a pajzstetvek esetében (Cabaleiro és Segura 1997; La Notte és mtsai, 1997; Martelli és mtsai, 2002; Ng és Falk, 2006; Tsai és mtsai, 2008; Almeida és mtsai, 2009; Credi és mtsai, 2009). Cid és mtsai (2007) újabban kimutatták a *Planococcus citri* nyálmirigyeiben a GLRaV-3 vírus jelenlétét. Ebből kiindulva feltételezik, hogy a GLRaV-3 a szemiperzisztens mód mellett cirkulatív úton is átvihető.

Planococcus coninand és *Ps. maritimus* fajok a vírusátvitel mellett mézharmat kibocsájtással is jelentős gazdasági kárt okozhatnak. A mézharmatos szőlőbogyón korompenész telepszik meg, ennek következtében a bogyó növekedése visszamarad (Gill, 1988; Geiger és Danne, 2001).

A vektorok növényről-növényre történő mozgása többféleképpen lehetséges. Rövidebb távolságon belül a rovarok átjuthatnak egyik növényről a másikra (Grasswitz és James, 2008). Az elsődleges lárvaállapotú rovarokat a szél továbbíthatja nagyobb távolságokra (Golino és Almaila, 2008). A pajzstetvek kora is szerepet játszik a sikeres vírusátvitelben. Az első és második lárvaállapotú rovarok hatékonyabbak, mint a felnőtt nőstény egyedek (Barrass és mtsai, 1994; Petersen és Charles, 1997; Tsai és mtsai, 2008; Mahfoudi és mtsai, 2009). Az ültetvényben használt mechanikai eszközökre tapadva a vektorok könnyedén eljuthatnak az egyik táblából a másikba (Lo és mtsai, 2006; Charles és mtsai, 2006). Az ültetvényben előforduló pajzstetvekkal, vagy vírussal fertőzött gyökérmaradványok, növényi részek, vagy őszi levelek szétszóródása is elsődleges fertőzési forrást jelent az ültetvényekben (Lo és mtsai, 2006; Bell és mtsai, 2009).

A GLRaV-3 vektorai a GVA vírust is terjeszthetik (Fortusini és mtsai, 1997; Hommay és mtsai, 2008). A GVA gyakran a GLRaV- 1 és GLRaV-3-al együtt fordul elő a szőlőültetvényekben (Zorloni és mtsai, 2006; Hommay és mtsai, 2008). Feltételezik, hogy a levélsodródás vírusok segítő komponens tartalmazhatnak a GVA számára.

Dél-Afrikában a GLRaV-3 legjelentősebb vektora a *Planococcus ficus* (Douglas és Krüger, 2008). Olaszországban a *Heliococcus bohemicus*-nak, mint vírusvektornak van a legnagyobb jelentősége.

Magyarországon a GLRaV vírusok vektoraként ismert fajok közül a *Parthenolecanium corni*, a *Heliococcus bohemicus*, a *Phenacoccus aceris*, a *Planococcus citri* és a *Pulvinaria vitis* van jelen a szabadföldön, míg az üvegházakban a *Pseudococcus longispinosus* jelenlétéről tettek említést (Kozár, 2005).

Cabaleiro és Segura (2006) a GLRaV-3 elterjedésének a járványtanát vizsgálta különféle spanyolországi ültetvényekben. Az ültetvényeket a *Pl. citri* lassan növekvő populációja fertőzte meg. Azokon a területeken, ahol a vírusmentes növények közel voltak a vírushordozó növényekhez, 8-9 év eltelté után a növényeknek 80%-a fertőződött meg (az átlagos növekedési ráta 7,8-12,4% volt évenként).

2.4. Tünetek

A GLRaV-3 fertőzés hatására kialakuló tünetek függenek a szőlő életkorától (Sampol és mtsai, 2003), az évszakoktól (Mannini és mtsai, 1996; Guidoni és mtsai, 1997; Mannini és mtsai, 1999), a fajtától (Credi és Babini, 1997; Kovacs és mtsai, 2001), a vírustörzstől (Woodham és mtsai, 1983), a fenotípustól, valamint az alany és nemes kombinációtól. A tüneteket meghatározza továbbá, hogy a vírus egymagában vagy más vírussal komplexen fordul-e elő a növényben (Kliwer és Lider, 1976; Wolpert és Vilas, 1992; Golino, 1993; Krake, 1993; Guidoni és mtsai, 1997; Cabaleiro és mtsai, 1999; Kovacs és mtsai, 2001).

A tőkék a fertőzés hatására kissé megkésve fakadnak, de a nyár közepéig a levél- és hajtásnövekedésben, továbbá a fűtfejlődésben nem mutatkozik szabad szemmel látható rendellenesség (Maree és mtsai, 2013). A tünetek általában nyár végén, ősz elején jelennek meg (Hoefort és Gifford, 1967; Weber és mtsai, 1993) és a vegetációs időszak vége felé a legszembetűnőbbek (Lehoczky, 1968; Meng és mtsai, 2005), majd az erősen fertőzött levelek korábban lehullnak. A vízhiányos tőkéken, már a nyár elején észlelhetőek a tünetek (Maree és mtsai, 2013).

A tünetek kifejeződése igen eltérő lehet (Over de Linden és Chamberlain, 1970). A vörösbort adó szőlőfajtákon a tünetek szembetűnőbbek (Golino és mtsai, 2008). A levéllemez a fonáki rész felé sodródik. A vörös bogyójú fajták levelein kezdetben néhány

folton jelentkező, majd június végétől július elejéig az egész levélre kiterjedő vörösödés a betegség kísérő tünete. Vannak olyan fajták, amelyek a betegség előrehaladott állapotával nem képesek megőrizni az eret zöld színezetét sem. Továbbá a vörös pigmentek eloszlásában és a színárnyalat erősségében is jelentkezhetnek különbségek (Digiaro és mtsai, 1999).

A levélsodródás mértéke függ a fajta fogékonyságától. A Chardonnay fajtánál a szüret idejére sodródnak a levelek, míg a Thompson Seedless és a Sauvignon blanc, egyáltalán nem mutatnak sodródást, vagy csak enyhén sodródnak. A fehér fajták leveleinek széle és érközi mezői korán halványsárgára, míg a vörös fajtáké vörösre színeződik, de az eret mentén a levélszövet többnyire zöld marad (Lehoczky, 1968; Little és Rezaian, 2006). Későbbi időszakban a sodródott levelek törékennyé, durva szövetűvé válnak, elvékonyodnak. Egyes fajtáknál az érközi mezőkben ezüstös színeződés, vagy szövetelhalás jelentkezhet (Hu és mtsai, 1990; Martelli és mtsai, 1997).

A levélsodródás vírusoknak az amerikai alanyok általában tünetmentes hordozói, kivételt a legyengült tőkék mutatnak (Martelli, 1993; Krake és mtsai, 1999; Walter és mtsai, 2000; Carstens, 2002; Martelli és Boudon-Padieu, 2006; Rayapati és mtsai, 2009; Maree és mtsai, 2013).

A fertőzött tőkéken a termés általában későn és szabálytalanul érik. Kevesebb fürt lesz, és a bogyók kisebbek lesznek. Egyes színes fajták bogyói egyáltalán nem, vagy kevésbé színeződnek el (Lehoczky, 1968; Martins és mtsai, 1997). A bogyók és a vesszők egyenetlenül érnek be (Cabailero és mtsai, 1999; Lee és mtsai, 2009).

Naidu és mtsai (2011) olyan amerikai *Vitis* fajokból és a francia-amerikai hibrid fajtákból mutattak ki GLRaV-3 fertőzést, amelyek nem mutattak látható tüneteket. Ezek a *Vitis labrusca* L. 'Niagara', *Vitis x labrusca* L. H. Bailey 'Con-cord' és a 'Catawba' *V. labrusca x V. riparia* Michx. 'Elvira' fajták voltak.

Kovács és mtsai (2001) a GLRaV-3 fertőzését vizsgálták francia-amerikai tünetmentes hibrideken. Kísérletük során a Vidal blanc és a St. Vincent fertőzött fajták teljesítményét hasonlították össze. A tünetmentes fertőzést a befogadó növény vírus toleranciájának tudták be, és nem a vírusfertőzés gyengeségének.

2.5. Élettani hatás

A vírusfertőzések okozta stresszhatások a növény életében eltérő fiziológiai változásokat idéznek elő (Balachandran és mtsai, 1997; Vega és mtsai, 2011). A GLRaV-3 fertőzés hatására a mennyiségi és minőségi paraméterek romlása figyelhető meg (Kobza, 1992; Cabaleiro és mtsai, 1999; Dula, 2012). Csökkenés következik be a cukorszintben és az oldható szárazanyag tartalomban, ezzel arányosan növekszik a titrálható savtartalom (különösen az almasav és borkősav) a gyümölcsben és a gyümölcslében egyaránt (Goheen és Cokk, 1959; Over de Linden és Chamberlain, 1970; Cabaleiro és mtsai, 1999; Martelli és Boudon-Padieu, 2006; Komar és mtsai, 2007; Martinson és mtsai, 2008; Atallah és mtsai, 2012). A bogyókban egyes szabad aminosavak (valin, metionin, glutaminsav) mennyisége csökken (Lee és mtsai, 2009), de a héj és a cellulóz súlya növekszik (Lee és Martin, 2009). A fertőzés hatására a bogyóhéjban csökken az antocianin koncentráció, ezáltal a bor minőségére is megatív hatással van (Over de Linden és Chamberlain, 1970; Guidoni és mtsai, 1997; Mannini és mtsai, 2000; Lee és Martin, 2009). A fertőzés hatására a bor aromája is módosulhat (Martins és mtsai, 1997). A fertőzött szőlőből készült borban kevesebb az alkohol, a pigment és csersav (Mannini és mtsai, 1999; Kovacs és mtsai, 2001; Legorburu és mtsai, 2009; Alabi és mtsai, 2012). A paraméterekben bekövetkezett csökkenés mértékét befolyásolhatja az alany/nemes kombináció, a szőlő életkora, a vírusfertőzés állapota (a fertőzésben a vírus egymaga, vagy komplexen vesz részt), továbbá az éghajlati adottságok (Golino, 1993; Lee és Martin, 2009). A GLRaV-3 fertőzés hatására csökken a levél növekedése, mérete és a vesszők fásodása, továbbá a szőlőfürtök tőkénkénti száma, a bogyó mérete (Moutinho-Pereira és mtsai, 2012; Endeshaw és mtsai, 2014) és érése (Weber és mtsai, 1993).

2.5.1. GLRaV-3 fertőzés hatása a fotoszintézisre

Vizsgálatok igazolták, hogy a GLRaV-3 jellegzetes tünetei a vírusfertőzés hatására bekövetkezett fotoszintetikus változások hatására alakulnak ki (Bertamini és mtsai, 2004; Naidu és mtsai, 2009). Christov és mtsai (2007) *in vitro* körülmények között vizsgálták a fertőzött és nem fertőzött szőlőlevelek fotoszintetikus aktivitását. A fertőzött tünetmentes

minták biomassa tömege is épp úgy csökkent, mint a tünetes mintáké. Eredményeik azt mutatták, hogy a GLRaV-3 fertőzés a szövettenyészetekben kifejlődhet a klorotikus és nekrotikus foltok nélkül is. A GLRaV-3 fertőzése nem befolyásolta jelentősen a klorofill a/b tartalom arányát, azonban csökkentette a növény szárazanyag tömegét. A fertőzés fő hatása az elektrontranszport gátlásában nyilvánult meg a PSII- ben (Bertamini és mtsai, 2004; Guo és mtsai, 2005). A tünetes levelekben csökkent a klorofill és karotinoid pigmentek aránya, az öregedési folyamatok felgyorsulnak (Hristov és Abracheva, 2001; Bertamini és mtsai, 2004; Gutha és mtsai, 2012; Mannini és mtsai, 2012), valamint a rezveratrol tartalom növekedett (Bertazzon és mtsai, 2009). A csökkent fotoszintetikus képesség negatív hatással van a termésmennyiségre és a minőségre is (Guidoni és mtsai, 1997; Cabaleiro és mtsai, 1999; Mannini és mtsai, 2000; Sampol és mtsai, 2003; Bertamini és mtsai, 2004).

2.5.2. Szén-dioxid megkötés és szénhidrát anyagcsere változás

A GLRaV-3 fertőzésváltozást indukált a sztomák működésében. A vírusfertőzés hatására csökken a párologtatás mértéke, és így emelkedik a CO₂ tartalom a fertőzött növényekben (Sampol és mtsai, 2003; Bertamini és mtsai, 2004; Christov és mtsai, 2007; Repetto és mtsai, 2012). A megkötött és redukált CO₂ felhasználását, a keletkezett szénhidrátok raktározását és szállítását a vírusfertőzés nagymértékben befolyásolja. A növény anyagcsere-folyamatai a cukorszintézis és a raktározás irányából az aminosavak, szerves savak és oldható cukrok szintézise felé tolódnak el. Intenzív aminosav transzlokáció zajlik a vírusszintézis helyére (Gáborjányi és mtsai, 2007). Mindezt alátámasztja a GLRaV-3 fertőzés hatására a szőlőbogyókban megfigyelt cukortartalom csökkenés is (Vega és mtsai, 2011). A szaharóz, a vírusfertőzés hatására a levélnyel háncsrészében bekövetkezett degeneráció következtében nem tud eljutni a fürtökbe, ez eredményezi az alacsony cukorkoncentrációt. A színezékek prekursorai a szőlőben szintén jelen vannak és a háncs degenerációja akadályozza a transzlokációjukat. Ezek és a fotoszintézis további termékei felhalmozódnak a levéllemezben, levélnyelben és a szőlőfürtök kocsányaiban. Többek között ez okozza a levél sodródását, törékenységet és a fürtök nem megfelelő színeződését (Goussard és Underhay, 2004).

2.5.3. Nukleinsav- és fehérjeanyagcsere változások a vírusfertőzött növényben

Giribaldi és mtsai (2011) a vírusfertőzések életteni változásait figyelték meg GLRaV, GVA és RSPaV fertőzések esetében. A bogyók fehérje vizsgálata kimutatta, hogy az aminosav és a fehérje forgalomban részt vevő fehérjék egy része átalakul a vírusfertőzés hatására. A vírusfertőzés a bogyóhéjban azokat a fehérjéket érintette, amelyek az oxidatív stresszre válaszolnak. A bogyóhúsában pedig azokat, amelyek a sejtszerkezet felépítésében vesznek részt. A mezokarpiumban a sejtszerkezethez köthető fehérjék kifejeződésében az 1 pektin metilészteráz indukciója figyelhető meg, amely a sejtfal bomlásánál eredményezi a megnövekedett puhulást.

2.5.4. Növekedésszabályzó anyagok változásai a GLRaV-3 fertőzött szőlőben

A citokininek, auxinok és a gibberelinek aktívan részt vesznek a szőlőbogyó kifejlődésében és növekedésében. Ezek a hormonok egymással kölcsönhatásban és egyensúlyban hatnak a szőlő optimális minőségi és mennyiségi paramétereinek a kialakításában. A fertőzött szőlőnek kisebb a gyökértömege, kevesebb számú gyökércsúcsot fejleszt, ami kevesebb citokinint állít elő. A kevesebb citokinin a hormonok egyensúlyi zavarát okozza, ezáltal kisebb és lazább fürtök fejlődnek (Goussard és Underhay, 2004). A vírusfertőzéssel egyidejűleg az etilén képződése növekszik, ennek mértéke a tünetek súlyosságától függ.

Azok a GLRaV-3-mal fertőzött fiatal tőkék, amelyek a fertőzés hatására több etilént termelnek, nem mutatják a korai öregedés jeleit, így feltételezhető, hogy olyan tényezők, mint a levél kora is szükséges az etilén által megvalósult szabályozáshoz (Gan, 2003; Espinoza és mtsai, 2007). Valószínűleg az etilén az oka a látható klorotikus tünetek kifejlődésének. Az etilén a szisztemikus gazdanövényekben befolyásolhatja a vírusok megsokszorozódását, bár ez a hatás közvetett (Balázs és Gáborjányi, 1974).

Kompatibilis gazda-parazita kapcsolat során a szalicilsav szintézis nem indukálódik, így ezek a növények kevésbé lesznek ellenállóak a vírusfertőzésekkel szemben (Love és mtsai, 2005).

A vírusfertőzött szövetekben az ABA koncentrációjának növekedése a vízvesztés következménye. Tekintve, hogy mind az ABA, mind a vírusfertőzés gátolja a sejtosztódást, arra a következtetésre jutottak, hogy az ABA serkentése okozta a vírusfertőzött levelek

csökkent növekedését. GLRaV-1 és -3 vírusok fertőzése esetében az ABA magasabb szinten fejeződött ki a fertőzött levelekben. A magas ABA koncentrációnak szerepe van a szőlő sztóma záródásában, függetlenül a turgor állapottól. A sztóma záródás következtében az elektrontranszport csökkent működése figyelhető meg (Moutinho-Pereira és mtsai, 2012).

2.6. Diagnosztikai lehetőségek

A vírusok azonosítása során a legtöbb gondot az okozza, hogy akár több vírus is részt vehet a fertőzésben, továbbá a vírusok koncentrációja a vegetáció ideje alatt állandóan változik a növényben (Charles és mtsai, 2006).

A GLRaV-3 koncentrációja a vegetációs időszak vége felé növekszik a fertőzött növényben, így nyár végén és ősszel érdemes növényi mintát gyűjteni a különböző szerológiai tesztek elvégzéséhez. A tudatos mintavételezés nagyban hozzájárul az eredmény sikerességéhez. A vírus koncentrációja az idősebb levelekben nagyobb, mint a fiatal levelekben, ezért a fejlettebb levelek megfelelő mintát nyújtanak a vizsgálatokhoz (Teliz és mtsai, 1987; Tsai és mtsai, 2008). A vírus a hánccszövetben lokalizálódik, ezért a hánccsrész sok esetben megbízhatóbb eredményt ad a molekuláris vizsgálatok során (Monis és Bestwick, 1996; Ling és mtsai, 2001).

A szőlő biotesztelése során a szőlőt fertőző vírusok jelenléte a növényi szötekben lág- és fásszárú teszteléssel is kimutathatóak (Rowhani és Golino, 1995; Constable és mtsai, 2010). A GLRaV-3 indikátor növényei a *V. vinifera* cvs. Cabernet franc, Pinot noir, Cabernet sauvignon vagy Barbera (Taylor és mtsai, 1966; Walker és Golino, 1999; Pathirana és McKenzie, 2005). A kórokozó jelenlétében a teszt növények az oltástól számított pár hónapon belül a levélsodródás tüneteit mutatják szabadföldön (Martelli, 1993; Digiario és mtsai, 1999) és üvegházban egyaránt (Walter és mtsai, 1990). A tesztek sikerességét befolyásolhatja az alacsony víruskoncentráció és az időjárás. Az indikátor növények használata idő és munkaigényes ezért alkalmazásuk ma már nem széleskörű (Rowhani és mtsai, 1997; Weber és mtsai, 2002; Constable és mtsai, 2010).

A fertőzött tünetmentes egyedeket leggyorsabban szerológiai módszerrel (pl. ELISA), vagy molekuláris módszerekkel (PCR alapú nukleinsav vizsgálatok) lehet azonosítani (Monis és Bestwick, 1996; Rowhani és mtsai, 1997; Pietersen és Walsh, 2012). A biotesztekkel, csak a vírus jelenlétét lehet megállapítani, míg a szerológiai módszereknél a vírus koncentrációja is

megállapítható. Az ELISA módszer előnye, hogy nagyszámú mintánál viszonylag gyorsan és egyszerűen megállapítható a kórokozó jelenléte. Az ELISA módszer hátránya, hogy nem minden vírus kimutatására alkalmas, nem olyan érzékeny, mint a nukleinsav alapú módszerek. Alacsony víruskoncentráció esetén a szerológiai tesztek nem mindig megbízhatóak (O'Donnell, 1999). Cabaleiro és Segura (1997) vizsgálatai alapján a frissen fertőzött növényekből a vírus jelenléte csak 13 hónap múlva mutatható ki szerológiai módszerekkel. Az ELISA módszer nem alkalmas valamennyi GLRaV-3 genetikai változat elkülönítésére (Bester és mtsai, 2012).

A PCR technika segítségével a vírusok genetikai változatai elkülöníthetőek egymástól. A növényi vírusok azonosítására a legelterjedtebb a PCR eljárások közül az RT-PCR. Az RT-PCR módszer segítségével a GLRaV-3 vírus 6 genetikai variánsát sikerült elkülöníteni (Jooste és mtsai, 2010; Gouveia és mtsai, 2011; Wang és mtsai, 2011; Kumar és mtsai, 2012).

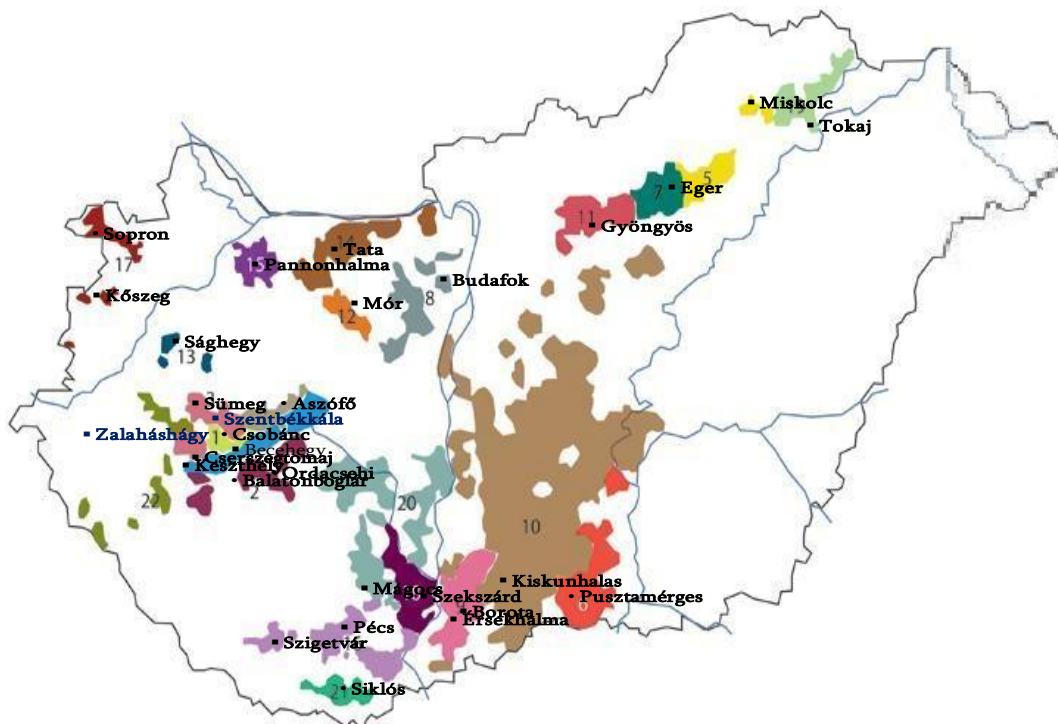
2.7. A védekezés lehetőségei

A legtöbb szőlőt fertőző vírussal ellentétben a GLRaV-3 által fertőzött egyedek hőkezeléses eljárással és merisztéma tenyésztéssel nem vírusmentesíthetőek (Scagliusi és mtsai, 2002). A védekezés alapját a megelőzésnek kell képeznie. A védekezés legfontosabb lépése a szőlőiskolákban a vírusmentes alany és nemes használata (Martinson és mtsai, 2008; Walker és mtsai, 2004). A GLRaV-3-al fertőzött növényi anyagok széles körben elterjedtek, és jelentős a gazdasági hatásuk. Ezért fontos lenne az ellenőrző, szerológiai vagy PCR alapú vizsgálatok bevezetése a termőültetvényekben is. A fertőzött tőkék időbeni felismerésével és azok eltávolításával a kórokozó további terjedése megakadályozható (Rowhani és mtsai, 2005).

3. Anyagok és módszerek

3.1. Növényi minta gyűjtése

Vizsgálatainkhoz 2012 és 2014 között Magyarország különböző szőlőtermő terülein, eltérő korú és fajtaösszetételű szőlőültetvényekben 325 tőkéről gyűjtöttünk mintákat. Levélmintáink 7 borrhíó és 22 borvidék településeiről származtak: Badacsonyi borvidék (Csobánc), Balatonboglári borvidék (Ordacsehi), Balaton-felvidéki borvidék (Sümege, Szentbékakála, Becehegy), Balatonfüred-Csopaki borvidék (Aszófő), Nagy-Somlói borvidék (Ság-hegy), Zalai borvidék (Zalaháshágy, Keszthely, Szalafő), Csongrádi borvidék (Pusztamérges), Hajós-Bajai borvidék (Érsekhalma, Borota), Kunsági borvidék (Kiskunhalas), Bükki borvidék (Miskolc), Egri borvidék (Eger), Mátrai borvidék (Gyöngyös), Etyek-Budai borvidék (Budafok), Móri borvidék (Mór), Neszmélyi borvidék (Tata), Pannonhalmi borvidék (Pannonhalma), Pécsi borvidék (Szigetvár), Szekszárdi borvidék (Szekszárd), Tolnai borvidék (Mágocs), Villányi borvidék (Siklós), Soproni borvidék (Sopron, Kőszeg), Tokaji borvidék (Tokaj) (2. ábra) (Apró és mtsai, 2014a; 2014b).



2. ábra. A saját mintagyűjtések helyei a magyarországi borvidékeken

1. Badacsony, 2. Balatonboglár, 3. Balatonfelvidék, 4. Balatonfüred-Csopak, 5. Bükk, 6. Csongrád, 7. Eger, 8. Etyek-Buda, 9. Hajós-Baja, 10. Kunság, 11. Mátra, 12. Mór, 13. Nagy-Somló, 14. Neszmély, 15. Pannonhalma, 16. Pécs, 17. Sopron, 18. Szekszárd, 19. Tokaj, 20. Tolna, 21. Villány, 22. Zala.

A mintagyűjtési idő megválasztásakor figyelembe vettük, hogy a különböző vírusok koncentrációja nem állandó és mindez a szőlő fenológiai állapotától függően változhat. A szőlő virágzásától a nyár elejéig tartó időszak a *Nepo*-, *Macula*- és *Alfamovirus* nemzetségbe tartozó vírusok kimutatására a legkedvezőbb, míg a bogyó zsendülésétől az őszelejéig tartó időszakban a *Closterovirus*-, *Ampelovirus*- és *Vitivirus* nemzetségekbe tartozó vírusok koncentrációja a legmagasabb a fertőzött növényekben (Vanke, 2006). A vizsgálatok során elsősorban vírustüneteket mutató és néhány tünetmentes levélmintát gyűjtöttük. Az első mintavételezési időszakban a vitorla közeléből gyűjtöttük a fiatal leveleket, míg a második időszakban az alsóbb levél emeletekről az idősebb leveleket, a magasabb víruskoncentráció miatt. A tüneteket feljegyeztük és a leveleket polietilén tasakokba helyeztük. A vizsgált tőkék helyét feljegyeztük. A mintákat hűtve szállítottuk és 4 °C-on tároltuk a felhasználásig.

3.2. Szerológiai vizsgálatok

A szőlővírusok kimutatása DAS ELISA (double-antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay, kettősellenanyag-szendvics enzimhez kötött ellenanyag-vizsgálat) szerológiai módszerrel történt. A vizsgálatokhoz a Loewe Biochemica GmbH, a Bioreba AG és az Agritest S.r.l. reagenseit használtuk, a szérumokhoz mellékelt receptúrák alapján. Tizenkét szőlőpatogén vírus előfordulását vizsgáltuk. A szőlő vírusos leromlását okozó *Nepovirus* nemzetségbe tartozó vírusok közül a GFLV, ArMV, GCMV a *Maculavirus* nemzetségbe tartozó GFKV jelenlétét vizsgáltuk. A *Vitivirus* nemzetségbe tartozó GVA, GVB, GLRaV-6, GLRaV-7, valamint az *Alfamovirus* nemzetségbe tartozó AMV előfordulását kerestük. Továbbá a *Closterovirus* nemzetségbe tartozó GLRaV-2 és az *Ampelovirus* nemzetségbe tartozó GLRaV-3 és GLRaV-1 fellelhetőségét kutattuk (Apró és mtsai, 2013; 2014).

A vizsgálatokhoz 8x12 (96 db) 300 µl-es mintahellyel rendelkező polisztirol mikrotitráló lapokat használtunk. A színváltozás mértéke Labsystems Multiskan RC ELISA fotométerrel, 405 nm hullámhosszon értékelhető (Clark és Adams, 1977). Pozitívnak

tekintettük a reakciót, ha a vizsgált minta extinkciós értéke meghaladta a negatív kontroll extinkciós értékének a háromszorosát.

3.3. Molekuláris virológiai vizsgálatok

3.3.1. Vizsgálati anyag

A molekuláris vizsgálatokhoz, a Soproni borvidékről származó két kőszegi izolátumot választottunk, amelyekben a GLRaV-3 jelenlétét korábban a bioteszttel és DAS-ELISA-val igazoltuk. Mindkét izolátum Kékfrankos szőlőfajtáról származott. Célunk a két magyar izolátum molekuláris módszerrel történő azonosítása, az izolátumok ORF7 régió által kódolt változó köpenyfehérjéjének (CPm) nukleotid és aminosav sorrendjének a meghatározása, továbbá a kapott szekvenciák összehasonlítása volt. A molekuláris virológiai vizsgálatokat a Budapesti Corvinus Egyetem Kertészettudományi Kar Növénykórtani Tanszékén végeztük.

A Pannon Egyetem Növényvédelmi Intézete és a Corvinus Egyetem Növénykórtani tanszéke vizsgálta elsőként Magyarországon RT-PCR molekuláris módszerekkel a magyarországi GLRaV-3 izolátumokat (Cseh és mtsai, 2013). A vizsgálatok során meghatározásra került az izolátumok HSP70 kódoló gén nukleotid sorrendje, amely összevetésre került Genbankban szereplő más GLRaV-3 izolátumokkal. A korábbi munkában 2.2 számmal jelölt kőszegi izolátum az általunk vizsgált Kőszeg1, míg az 1.4 számú izolátum a Kőszeg2 izolátumnak felel meg.

3.3.2. Vizsgálati módszer

3.3.2.1. Össznukleinsav kivonása

Az össznukleinsav kivonását és tisztítását a Spectrum Plant Total RNA Kit-tel (Sigma-Aldrich Chemia GmbH, Germany) végeztük. A levélsodródás tüneteit mutató szőlőlevelek levélérközökből származó szöveteit dörzsmozsárban, jégen, hűtött körülmények között homogenizáltuk, majd a kit előírásainak megfelelően elvégeztük az össznukleinsav kivonását, melyet 50 µl oldószerben oldottunk vissza.

Az RNS-ről reverz transzkripcióval DNS másolatot készítettünk. A 4 µl tisztított és visszaoldott vírus RNS-hez 1 µl 3' indítószekvenciát (primert) adtunk (100 pmol/µl), majd 65 °C-on denaturáltuk. Ezután az oldathoz adtuk a reverz transzkriptáz M-MuLV enzimet (0,5 µl), annak pufferjét 2 µl mennyiségben, 0,25 µl RiboLock RNase inhibitort és 1 µl mennyiségben 5 mmol/µl koncentrációjú nukleotidokat (Fermentas), majd 10 µl végtérfogatra hígítottuk steril desztillált vízzel. A reakcióelegyet 30 percig 50 °C-ra helyeztük. Ily módon a vírus RNS-sel komplementer DNS másolatot (cDNS) hoztunk létre (Sambrook és mtsai, 1989).

3.3.2.2. Polimeráz lánreakció (PCR)

A GLRaV-3 törzsei között a legnagyobb eltérést a vírusgenomban az ORF7 régió által kódolt CPm mutatja. Ezért a PCR reakció során ezt a cDNS szakaszt szaporítottuk fel. A molekuláris biológiai vizsgálatokhoz olyan univerzális primerpárt terveztünk, amely felismeri a GLRaV-3 ORF7 fehérjéjét. A primereket az NCBI adatbázisban található szekvenciák alapján terveztük.

A K12.for. és K12.rev. jelzésű primerek 1382 bp nagyságú fragmentumot kódolnak, míg a K13.for. és K13.rev. jelzésű primerek 1496 bp nagyságú fragmentumot kódolnak. A PCR-hez használt primerek a Bio-Science Kft.-től szereztük be.

Specifikus primerek:

K12.for-

5' – GAG TTT CTT AAA RTA CGT TAA GGA CGG GAC – 3'

K12.rev.-

5' – GGG TAG ACC ACT AAC GTC CGT CGT TTG C – 3'

K13.for.-

5' – GGA GTG GAG ATC ACC WCT GGT AAG AAY TAC – 3'

K13.rev.-

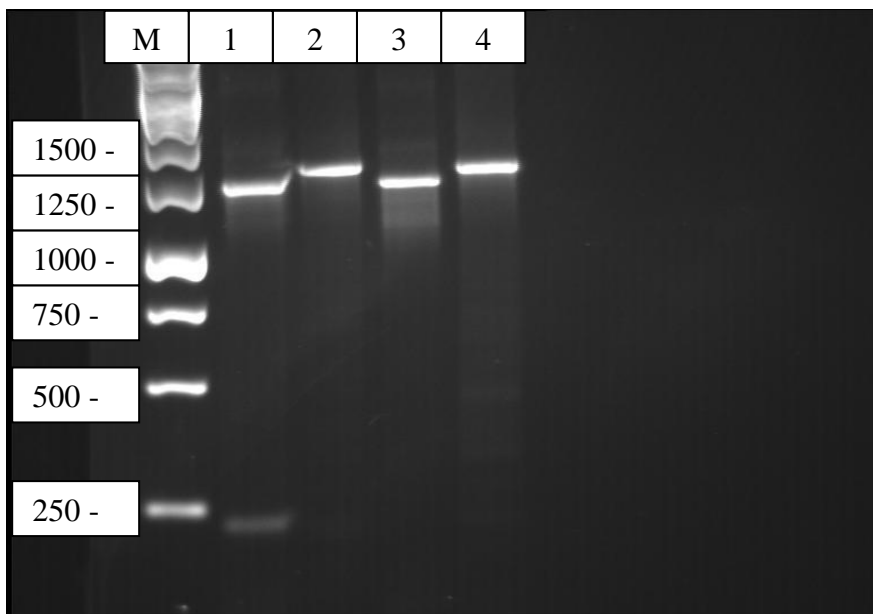
5' – CGC GCT ATG GTC TTT ATT AAC TAA CCA CCT TA – 3'

A PCR reakcióelegy (50 µl) tartalmazta a cDNS-t (3 µl), a felszaporítani kívánt szakasz kiemeléséhez szükséges 1-1 µl 5' és 3' foszforillát indító szekvenciákat (20 pmol/µl), 2 µl nukleotid keveréket (20 mM), a megfelelő körülményeket biztosító 5 µl puffert (10x-es PCR puffer), 3 µl MgCl₂ (25 mM) és 0,5 µl Taq polimeráz enzimet. A reakciót a PCR Applied Biosystems GenAmp PCR System 9700 készülékkel végeztük.

A PCR ciklus első lépéseként a DNS-t elődenaturáltuk 94 °C-on 5 percig, ezt követte 40 cikluson át tartó denaturáció 94 °C-on 30 másodpercig, a primerek kapcsolódása a templáthoz (anellálás) 60 °C-on 30 másodpercig, majd a lánchosszabítás 72 °C-on 1 perc 45 másodpercig. A végső lánccépítés 72 °C-on 7 percig tartott.

3.3.2.3. Agarózgél elektroforézis

A kapott PCR terméket gél elektroforézissel ellenőriztük (3. ábra). A hasítás során keletkezett DNS-fragmentumokat 1 %-os agarózgélen, egyenáramú elektromos térben, elektroforézissel választottuk szét, 90 mA áramerősségnél. A DNS molekulák a negatív pólustól a pozitív pólus irányába mozognak. Az elválasztás gyorsasága és a termék távolsága a DNS fragmentum nagyságától függ. A fragmentumok fluoreszcens festék (GelRed, -Izinta-) jelenlétében ultraibolya fényben láthatóvá váltak. Az első mintahelyre tömegmarkert tettünk (GeneRuler 1 kb DNA Ladder), hogy jól látható legyen a keresett nagyságú PCR termék.



3. ábra. Gélből izolált PCR termékek gél elektroforézis képe (Fotó: Pájtli É.)

Jelmagyarázat: M-marker, 1: a Kőszeg1 jelölésű GLRaV-3 izolátum (K12 primer); 2: a Kőszeg1 jelölésű GLRaV-3 izolátum (K13 primer); 3: a Kőszeg2 jelölésű GLRaV-3 izolátum (K12 primer); 4: a Kőszeg2 jelölésű GLRaV-3 izolátum (K13 primer)

3.3.2.4. A PCR termék izolálása gélből

A PCR terméket steril szikékkal kivágtuk a gélből és a gyártó utasításainak megfelelően Roche High Pure Purification Kit segítségével tisztítottuk, majd 30 µl oldószerben oldottuk vissza.

3.3.2.5. Ligálás és transzformálás

A PCR termék felszaporítását Sambrook és mtsai (1989) szerint végeztük. A PCR-terméket pGEM-T Easy Vector (Promega) plazmidba klónoztuk, majd *Escherichia coli* TG90 sejtekbe transzformáltuk. Az inzert és a plazmid összekapcsolása (ligálás) 10 µl végtérfogatban történt 4 órán át, 20-24 °C-on. A reakcióelegy 3 µl cDNS-t, vagyis inzertet (tisztított, illetve tisztított és emésztett PCR-termék), 1 µl 10x T4 DNS ligáz puffert, 1 µl T4 DNS ligáz enzimet és 4 µl steril bidesztillált vizet tartalmazott.

A ligálás után a genetikailag módosult, rekombináns plazmidot *Escherichia coli* DH5α plazmidmentes kompetens sejtekbe transzformáltuk Koósné (2006) munkája alapján. A 10 µl ligátumot, jégen 50 µl fokozatosan kiolvasztott kompetens baktérium-szuszpenzióval finoman elegyítettük, majd 20 percen át jégen tartottuk. Ezután 1 percre 42 °C-os vízfürdőbe helyeztük, majd 2 percre jégre tettük. Végül 300 µl folyékony, antibiotikummentes LB (Luria-Bertani) 2TY táptalaj (10 g/l tripton, 5 g/l élesztőkivonat, 10 g/l NaCl, pH:7,2) hozzáadása után 60 percig rázattuk, 37 °C-on, 190 rpm fordulatszámmal. Ezután 100 µl szuszpenziót ampicillin tartalmú szilárd LB/IPTG+X-Gal táptalajon szélesztettünk. A táptalaj összetétele: 10 g/l tripton, 5 g/l élesztőkivonat, 10 g/l NaCl, 10 g/l agar és 50 µl/ml ampicillin. A szélesztés előtt a lemez felszínén 10 µl IPTG-t és 40 µl X-Galt oszlattunk szét egyenletesen. Az elkészült lemezeket a táptalajt tartalmazó oldalukkal felfelé, egy éjszakán át 37 °C-on inkubáltuk. Az antibiotikummal kezelt táptalajon csak azok a baktériumok voltak képesek osztódni, amelyek ampicillin rezisztencia gént hordoztak. A lemezeken elhelyezkedő baktérium kolóniákat ún. „blue-white” szelekcióval vizsgáltuk. Azok a baktérium telepek, melyek kék színűek voltak tartalmazták ugyan a plazmidot, de ebben az esetben az inzert nem épült be a plazmidba. A fehér telepek esetében egy a plazmidban lévő enzimműködésért felelős gén kifejeződése az inzert beépülése miatt gátolt, ezért ezeket a baktérium kolóniákat használtuk fel. Minden lemezről 4-6 különálló, fehér telepet oltottunk le steril fogpiszkáló felhasználásával. A fogpiszkáló segítségével leemeltünk egy kolóniát, majd egy

mesterlemezhez (masterplate) érintettük, ezután 2 ml 50 µl/ml ampicillin tartalmú, folyékony LB táptalajt tartalmazó üvegsőbe helyeztük. Az üvegsőveket lezártuk, és egy éjszakán át 37 °C-on ráztuk, 190 rpm fordulatszámmal. Az eredeti telepek felszaporítására szolgáló mesterlemez, egy éjszakán át 37 °C-on inkubáltuk.

3.3.2.6. A plazmid tisztítása és az inzert ellenőrzése

A baktérium sejtéből a rekombináns plazmid DNS tisztítását alkalikus lízisen alapuló minipreparálással végeztük. A ligálás sikerességének ellenőrzéséhez a plazmidot Sambrook és mtsai (1989) alapján izoláltuk. A táptalaj eltávolításához a folyékony baktérium sejt kultúrát 3 percig 13400 rpm fordulatszámon, szobahőmérsékleten centrifugáltuk (Eppendorf), majd az összegyűjtött baktérium sejteket 200 µl "A" (sejt szuszpendáló) oldatban (15 mM Tris-HCl pH: 8,0; 10 mM EDTA; 50 mM glükóz) szuszpendáltuk, és 5 percig szobahőmérsékleten állni hagytuk. Ezután 400 µl „B” (sejt lízis) oldattal [0,2 M NaOH, 1% SDS], majd 300 µl „C” (semlegesítő) oldattal (3 M nátrium-acetát; 11,5% ecetsav) történt elegyítést követően 5 percig jégre tettük. A kicsapott nemkívánatos sejtalkotók maradványait szobahőmérsékleten 5 perces centrifugálással távolítottuk el. A felülúszóból az oldott állapotban lévő nukleinsavakat kétszer csapattuk ki. Először 600 µl izopropanollal, majd a centrifugálással összegyűjtött nukleinsavak 200 µl "D" oldatban (0,1 M nátrium-acetát pH: 7,0; 50 mM Tris-HCl pH: 8,0) történt visszaoldását követően 400 µl abszolút alkohollal. A csapadékot vákuum koncentrátorban 7-10 percig szárítottuk. Végül a nukleinsavakat 50 µl 1x-es RN-áz TE oldószerben [10 mM Tris pH: 7,6; 1 mM EDTA; 10 µl (10 mg/ml) RN-áz] oldottuk fel. Az inzertek ellenőrzését a Fast Digest EcoRI restrikciós enzim alkalmazásával végeztük. A reakcióelegyet, amelyben lévő puffer tartalmazta a fluoreszcens festéket is, 10 percig 37 °C-on tartottuk. A hasítás után keletkezett DNS-fragmentumokat fluoreszcens, 1 %-os TBE agaróz gélen tettük láthatóvá.

A szekvencia meghatározáshoz a plazmidot BIO-RAD Quantum Prep Plasmid Miniprep Kittel a gyártó utasításainak megfelelően izoláltuk.

3.3.2.7. A vírusgenomról készült cDNS szekvenciájának meghatározása

A nukleotid sorrend meghatározását a BAY-GEN Növénygenomikai, Humán Biotechnológiai és Bioenergiai Intézet munkatársai végezték Szegeden.

3.3.2.8. A nukleotid és aminosav szekvenciák vizsgálata

A nukleotid és az aminosav szekvenciák hasonlóság-vizsgálatához, a szekvenciák illesztéséhez, valamint a filogenetikai vizsgálatokhoz és az UPGMA eljárással készített filogenetikai törzsfa elkészítéséhez a CLC Sequence viewer 6.5.1. (CLC bio) szoftvercsomagot használtuk.

3.3.2.9. Statisztikai analízis

A filogenetikai törzsfák megbízhatóságának becslésére a nukleotid szekvenciapozíciók véletlenszerű ismétléses mintavételét és az ezt követő törzsfaszerkesztést 1000-es ismétlésben alkalmazó bootstrap-analízist végeztünk.

4. Eredmények

4.1. A tünettani vizsgált eredményei

A nyár eleji mintavételezés során a leggyakrabban tapasztalt tünetek a mozaikfoltosság (sárga mozaik, krómsárga mozaik), különböző fokú levéldeformáció (4. ábra) és klorózis voltak. Míg a nyárvégi mintavételezés során a tünetes levelekre vörösödés, sárgulás és különböző fokú levélsodródás volt jellemző (5. ábra). A fertőzött tőkék esetében rendellenesen, a kacson fejlődő bogyókat is megfigyeltünk (6. ábra). A GLRaV és a GVA komplex fertőze esetén, a tőkéken a tünetek erőteljesebbek voltak (7. ábra). A vírusok közös vektoraként ismert pajzstetvek is jelen voltak a tünetes növényeken (8. ábra).

A mintagyűjtések idejét, helyét és a tapasztalt tüneteket a 1. számú melléklet tartalmazza.



4. ábra. Levéldeformáció (Fotó: Apró M.)



5. ábra. Vörösödés és levélsodródás (Fotó: Apró M.)



6. ábra. Rendellenes bogyófejlődés a kacson (Fotó: Apró M.)



7. ábra: GLRaV-3 és GVA komplex fertőzés nyár végi tünete (Fotó: Apró M.)



8. ábra. Pajzstetű jelenléte egy szerológiaiilag igazolt, GLRaV-3-al fertőzött tőkén (Fotó: Apró M.)

4.1. Szerológiai vizsgálatok eredményei

A szerológiai vizsálatok során 325 mintából az általunk vizsgált vírusok közül 8 kórokozó jelenlétét igazoltuk 77 minta esetében. Negyvenhat mintában egy vírus jelenlétét mutattuk ki, 31 esetben két-két vírus együttes jelenlétét tudtuk igazolni (1. melléklet). A vírusok megoszlását a 3. táblázat mutatja. A GLRaV-3 fertőzése egy mintában a GVA-val és három mintában a GLRaV-1-gyel fordult elő komplexen. Ezen kívül huszonhárom mintában a GLRaV-1 és GVA, két esetben GLRaV-1 és ArMV, míg 1-1 esetben GLRaV-1 és GCMV, továbbá GFkV és GCMV kevert fertőzése volt kimutatható.

A vírusos leromlást okozó nepovírusok közül a GFLV előfordulását 1, az ArMV jelenlétét 3, a GCMV megjelenését pedig 6 mintában mutattuk ki szerológiai módszerrel.

A látens foltosság tünetcsoportba tartozó GFkV előfordulása 2 mintában volt igazolható.

A levélsodródás tünetcsoportba tartozó ampelovírusok közül a GLRaV-1 55 esetben volt kimutatható, a GLRaV-3 11, míg a GLRaV-6 1 mintában fordult elő. A *Closterovirus* nemzetségbe tartozó GLRaV-2 és a *Velarivirus* nemzetségbe tartozó GLRaV-7 előfordulását a mintákban szerológiai módszerrel nem tudtuk igazolni.

A szőlő faszöveti barázdáltságát okozó GVA jelenlétét 29 mintában mutattuk ki, míg az ugyanabba a nemzetségbe tartozó GVB jelenlétét szerológiai módszerrel nem tudtuk bizonyítani. A szőlő vonalas és gyűrűs mintázottságát okozó AMV jelenlétét szerológiai módszerrel nem tudtuk igazolni.

3. táblázat. A szerológiai vizsgálat eredménye

| Vírus | Minták száma (db) |
|----------------------------------|--------------------------|
| GFLV | 1 |
| ArMV | 3 |
| AMV | 0 |
| GCMV | 6 |
| GFkV | 2 |
| GLRaV-1 | 55 |
| GLRaV-2 | 0 |
| GLRaV-3 | 11 |
| GLRaV-6 | 1 |
| GLRaV-7 | 0 |
| GVA | 29 |
| GVB | 0 |
| Ebből komplex fertőzésben | |
| GLRaV-3 + GVA | 1 |
| GLRaV-3 + GLRaV-1 | 3 |
| GLRaV-1 + GVA | 23 |
| GLRaV-1 + ArMV | 2 |
| GLRaV-1 + GCMV | 1 |
| GFkV + GCMV | 1 |

A Badacsonyi borvidék mintagyűjtő helyeiről származó mintákban leggyakrabban levéldeformációt, levélszíneződést (vörösödést) és levélsodródást tapasztaltunk. A 10 mintából 1-1 mintában GLRaV-3, valamint GVA jelenlétét mutattuk ki. Két mintában a GLRaV-3 komplex fertőzését sikerült igazolni, egy esetben GVA-val, míg a másik esetben GLRaV-1-gyel.

A Balatonboglári borvidék mintagyűjtő helyeiről 27 mintát gyűjtöttünk. A levélminták nagy része levéldeformációt, vagy mozaik tüneteket mutatott. Némely vesszőn rövidebb ízkezők voltak megfigyelhetőek. A tünetektől függetlenül a mintákból szerológiaiilag nem tudtunk vírusokat kimutatni.

A Balaton-felvidéki borvidék mintagyűjtési területeiről származó mintákban a leggyakoribb tünetek a levéldeformáció, levélnekroízis és mozaik voltak. A gyűjtött 27 mintából 1 esetben tudtunk GFLV fertőzést kimutatni.

A Balatonfüred-Csopaki borvidéken gyűjtött mintákra a különböző mértékű levélsodródás és vörös levélelszíneződés volt jellemző. A 6 mintából 1 minta esetében GLRaV-3, és 1 mintában GVA jelenlétét tudtuk kimutatni.

A Nagy-Somlói borvidéken 3 tünetmentes mintát gyűjtöttünk, amelyek a későbbi vizsgálatok során sem adtak pozitív eredményt a vizsgált vírusokra nézve.

A Zalai borvidékről származó minták egy része levélsodródást, levélelszíneződést és levéldeformációt mutatott. A 13 mintából 2 minta volt fertőzött GLRaV-1 és GVA-val komplexen.

A Csongrádi borvidéken gyűjtött minták változatos tüneteket mutattak. Levélsodródás, vörösödés, levéldeformáció és mozaikos foltosság is megfigyelhető volt. A 14 mintából 8 minta volt fertőzött. 4 mintában GLRaV-1 és 1 mintában GFkV fertőzés volt kimutatható. 3 mintában a GLRaV-1 és GVA komplex fertőzést tapasztaltuk.

A Hajós-Bajai borvidék 28 gyűjtött mintájára a jellemző tünetek a vörösödés és a levéldeformáció voltak. Egy esetben GVA fertőzését, míg 3 mintában a GLRaV-1 és GVA komplex fertőzését mutattuk ki.

A Kunsági borvidékről származó minták egy része levélsodródást, vörösödést és egyes esetekben levéldeformációt is mutatott. A 19 mintából 4 esetben GLRaV-1 és 1 ArMV fertőzése volt kimutatható. Két minta esetében GLRaV-1 és GVA, további 2 minta esetében pedig GLRaV-1 és ArMV komplex jelenlétét igazoltuk.

A Bükki borvidék 8 gyűjtött mintájából 3 esetben a GLRaV-1 jelenléte volt kimutatható. A tünetes levélminták levélelszíneződést (vörösödést) és levélsodródást mutattak.

Az Egri borvidékről származó minták nagy része a levélsodródás és a vörösödés tünetit mutatta, de ezek mellett a krómsárga elszíneződés is megfigyelhető volt némely tőke levelén. A 8 mintából 3-ban GLRaV-1, 2-ben pedig GLRaV-3 jelenlétét tapasztaltuk. Egy esetben GLRaV-3 és GLRaV-1, míg szintén egy mintában GFkV és GCMV együttes jelenlétét tudtuk kimutatni.

A Mátrai borvidéken gyűjtött mintákra a levélelszíneződés és a különböző fokú levéldeformáció volt jellemző. A 12 mintából 2 esetben GLRaV-1, 1 mintában pedig GLRaV-6 volt jelen. Egy mintában GLRaV-1 és GVA komplex fertőzése volt kimutatható.

Az Etyek-Budai borvidék 14 gyűjtött mintájából 1 minta volt GLRaV-1 fertőzött. A minták egy részén a levélelszíneződés tünete volt látható.

A Móri borvidékről származó 17 mintából 3 minta volt vírusfertőzött. A minták egy részére a levélszíneződés (sárgulás, vörösödés) és a különböző mértékű levélsodródás volt jellemző. Két mintában GLRaV-1 és 1 mintában GCMV fertőzése volt jelen.

A Neszmélyi borvidékről származó minták egy részén mozaikfoltosság és sárga elszíneződés volt tapasztalható. A 16 mintában nem tudtuk a vírusok jelenlétét igazolni.

A Pannonhalmi borvidékről származó 24 levélmintán levélsodródás és elszíneződés (vörösödés), továbbá klorotikus folt tüneteket figyeltünk meg. Három mintában GLRaV-1, míg 8 esetben a GLRaV-1 és a GVA együttes fertőzése volt kimutatható.

A Pécsi borvidékről gyűjtött 9 minta esetében mozaik és nekrotikus foltosság tünetei voltak láthatóak. Egy GLRaV-1, és 1 esetben GLRaV-1 és GLRaV-3 komplex fertőzést igazoltunk.

A Szekszárdi borvidék mintáinak (6) egy részén nekrotikus foltok voltak megfigyelhetőek. A mintákban nem sikerült vírusfertőzést kimutatni.

A Tolnai borvidéken gyűjtött 6 minta nagy részét a különböző mértékű vörösödés jellemezte. A minták a szerológiai vizsgálat során vírusmentesnek bizonyultak.

A Villányi borvidékről származó levélsodródás és vörösödés tüneteit mutató 7 minta esetében az általunk vizsgált vírusok nem voltak jelen.

A Soproni borvidéken gyűjtött 43 minta nagy része levélszíneződés (vörösödés, sárgulás) és levélsodródás tüneteit mutatta. Egy GLRaV-1, 1 GVA, 3 GLRaV-3 és szintén 3 GCMV fertőzését tudtuk kimutatni. Négy mintában a GLRaV-1 és a GVA komplexen volt jelen.

A Tokaji borvidék 8 mintájának egy részén mozaik, továbbá krómsárga és vörös elszíneződés tünetei voltak megfigyelhetőek. Két esetben GLRaV-1, 1 mintában GVA volt azonosítható. Egy minta esetében a GLRaV-1 és GCMV együttes fertőzését igazoltuk. A borvidékek vírusfertőzöttségének az alakulását a 4. táblázat tartalmazza.

4. táblázat. A szerológiai vizsgálat eredményei borvidékeként

| Borvidékek | Gyűjtött minták száma | Fertőzött minták száma | Vírusok | Komplex fertőzések |
|---------------------------------|-----------------------|------------------------|---|--|
| Baltoni borrégió | | | | |
| Badacsonyi | 10 | 4 | (1) GLRaV-3 (1) GVA | (1) GLRaV-3 + GVA (1) GLRaV-3 + GLRaV-1 |
| Balatonboglári | 27 | 0 | | |
| Balaton-felvidéki | 27 | 1 | (1) GFLV | |
| Balatonfüred-Csupaki | 6 | 2 | (1) GLRaV-3 (1) GVA | |
| Nagy-Somlói | 3 | 0 | | |
| Zalai | 13 | 2 | | (2) GLRaV-1 + GVA |
| Duna borrégió | | | | |
| Csongrádi | 14 | 8 | (4) GLRaV-1 (1) GFkV | (3) GLRaV-1 + GVA |
| Hajós-Bajai | 28 | 4 | (1) GVA | (3) GLRaV-1 + GVA |
| Kunsági | 19 | 9 | (4) GLRaV-1 (1) ArMV | (2) GLRaV-1 + GVA (2) GLRaV-1 + ArMV |
| Egri borrégió | | | | |
| Bükki | 8 | 3 | (3) GLRaV-1 | |
| Egri | 8 | 7 | (3) GLRaV-1 (2) GLRaV-3 | (1) GLRaV-3 + GLRaV-1 (1) GFkV + GCMV |
| Mátrai | 12 | 4 | (2) GLRaV-1 (1) GLRaV-6 | (1) GLRaV-1 + GVA |
| Észak-dunántúli borrégió | | | | |
| Etyek-Budai | 14 | 1 | (1) GLRaV-1 | |
| Móri | 17 | 3 | (2) GLRaV-1 (1) GCMV | |
| Neszmélyi | 16 | 0 | | |
| Pannonhalmi | 24 | 11 | (3) GLRaV-1 | (8) GLRaV-1 + GVA |
| Pannon borrégió | | | | |
| Pécsi | 9 | 2 | (1) GLRaV-1 | (1) GLRaV-1 + GLRaV-3 |
| Szekszárdi | 6 | 0 | | |
| Tolnai | 6 | 0 | | |
| Villányi | 7 | 0 | | |
| Soproni borrégió | | | | |
| Soproni | 43 | 12 | (1) GLRaV-1 (3) GLRaV-3 (1) GVA (3) GCMV | (4) GLRaV-1 + GVA |
| Tokaji borrégió | | | | |
| Tokaji | 8 | 4 | (2) GLRaV-1 (1) GVA | (1) GLRaV-1 + GCMV |
| Összesen | 325 | 77 | 46 | 31 |

4.2. Molekuláris vizsgálat eredményei

A GLRaV-3 ORF7 fehérjéjének a kimutatására alkalmas primerek segítségével a vizsgált 2 mintában olyan 1432 bázispár nagyságú PCR terméket kaptunk, amelyek a GLRaV-3 jelenlétét bizonyítják (9-10. ábra). A nukleotid sorrend mellett az aminosav sorrend meghatározására is sor került (11-12. ábra).

Először határoztuk meg hazai GLRaV-3 izolátumok változó köpenyfehérjéjének a nukleotid és aminosav sorrendjét (2. melléklet). A Genbankban fellelhető és meghatározott GLRaV-3 izolátumok CPM aminosav sorrendjét összevetettük a két mintánk aminosav szekvenciájával.

A CPM gén a vírus valódi köpenyfehérje génjének a módosult változata, és feltételezhetően az 5' véget kódolja. A változékonyságából adódóan kiválóan alkalmas a vírus genetikai variabilitásának a meghatározására. Az adatokat számítógépes feldolgozást követően összehasonlítottuk az NCBI adatbázisban fellelhető más már ismert GLRaV-3 izolátumok CPM gén adataival. Megállapítottuk, hogy az egyes izolátumok között a CPM gén aminosav sorrendje alapján jelentős eltérés nem volt (2. melléklet) (Apró és mtsai, 2016).

1 ATGGGGGCTTATACACACATAAACTTTTCATGAGTCGCGATTGCTGAAAGACAAGCAAGAC
61 TATCTTTCTTTCAAGTCAGCAGGTGAAGCTCCTCCTGATCCTCCCGGGTACGTTTCGCCA
121 GATAGTTATACGAGGGCTTATTTGATACAAAGAGCAGACTTTCCTCGAATTGAAGACTTA
181 TCAGTTACGTTATCGATAGCCAGTAATAAGTTAGCTTCAGGTCTTATGGGAAGCGACGCA
241 GTATCGTCGTCGTTTATGCTGATGAATGACGGGGGAGATTACTTCGAGTGCGGCGTGTGT
301 CATAACAAACCGTACTTAGGACGGGAAGTCGTCTTCTGTAAGAAATACATAGGTGGGAGA
361 GGAGTGGAGATCACCACTGGTAAGAACTACTCGTCGAACAACCTGGAACGAGTCGTCGTAC
421 GTATTACAAGTGGATATAGTCGGTGGGACRGCACAGACCTCAGTTAATTCTACTTATACG
481 CAAACGGACGTTAGTGGTCTACCCAAAAACTGGACGCGTATCTACAAGATAACGAAGATA
541 GTGTCCGTAGATCAGAACCTCTACCCTGGTTGTTTCTCAAGCTCGAAACTGAACGTAATG
601 CTTATAAGGTCACTGGTAGTTTCCCAATACGCACCTTCTTTAGGGTCGTCTTATTGAAA
661 CCTTTGAGGAAATCGTTCAACGCTAGAGTCGAGGATGTGTTAAGCATCGACGATGCGACG
721 TTGTTAGCGCCAAGTCCAGTAGCACCAGCGCCTACGGAAGGTGTAGGTCCATCAGAGCAA
781 CTAGACGTAGTGGCTTTAACGTCTGACGTAACGGAATTGATCAACACCAGGGGGCAGGGC
841 AAGATAAGTTTTCCCGACTCAGTGTTATCGATCAATGAAGCGGATATCTACGACGAGCGG
901 TATTTACCGATTACGGAAGCTCTACAGATAAACGCAAGGCTACGCAGACTCGTTCTTTTCG
961 AAAGGCGGGAGTCAAACACCACGAGATATGGGGAACATGATAGTGGCCATGATACAACCTT
1021 TTCGTA CTCTACTCTACTGTAAAGAATATAAGCGTCAAAGATGGGTATAGGGTGGAGACC
1081 GAATTAGGTCAAAGAAGGTCTACTTGAGTTATTCGGAAGTAAGGGAAGCTATATTAGGA
1141 GGGAAATACGACGCGTCTCCAACCAACACTGTGCGATCCTTTATGAGGTATTTTACTCAC
1201 ACCACCATTACGCTACTTATAGAGAAGAAAATTCAGCCAGCGTACACTGCCCTAGCTAAG
1261 CACGGCGTCCCGAAGAGGTTCACTCCGTA CTGCTTCGACTTCGCACTACTGGATAATAGA
1321 TATTACCCGGCTGACGTGTTGAAGGCTAACGCAATGGCTTGCGCTGTAGCGATTAAAGCG
1375 GCTAATTTGAGGCGTAAAGGTTCCGAGACGTATAACATCTTAGAAAGCATTGA

9. ábra. A Kőszeg1 izolátum változó köpenyfehérjéjének a nukelotid szekvenciája

Jelmagyarázat: A- adenin, T- timin, C- citozin, G- guanin

1 ATGGGGGCTTATACACATGTAGACTTTCATGAGTCGCGGTTGCTGAAAGACAAACAAGAC
61 TATCTTCTTTCAAGTCAGCGAATGAAGCTCCTCCTGATCCTCCCGGATACGTTCCGCCA
121 GATAGTTATGTGAGGGCTTATTTGATACAAAGAGCAGACTTTCCCAATACTCAAAGCTTA
181 TCAGTTACGTTATCGATAGCCAGTAATAAGTTAGCTTCAGGTCTTATGGGAAGCGACGCA
241 GTATCATCGTCGTTTATGCTGATGAACAACGCGGGAGATTACTTCGAGTGCGGCGTGTGT
301 CACAACAAACCCTACTTAGGACGGGAAGTTATCTTCTGTAGGAAATACTTAGGTGGGAGA
361 GGAGTGGAGATCACCCTGGTAAGAATAACACGTCGAACAATTGGAACGAGGCGTCGTAC
421 GTAATACAAGTGAACGTAGTCGATGGGTTAGCACAGACCACTGTTAATTCTACTTATACG
481 CAAACGGACGTTAGTGGTCTACCCGAAAATTGGACGCGTATCTACAAAATAACRAAGATA
541 GTGTCCGTAGATCAGAACCTCTACCCTGGTTGTTTCTCAGACTCGAAACTGGGTGTAATG
601 CGTATAAGGTCACTGTTAGTTTCCCAGTGCGCATCTTCTTTAGGGATATCTTATTGAAA
661 CCTTTGAAGAAATCGTTCAACGCAAGAATCGAGGATGTGCTGAATATTGACGACACGTCG
721 TTGTTAGTACCGAGTCCTGTCGTACCAGAGTCTACGGGAGGTGTAGGTCCATCAGAGCAG
781 CTGGATGTAGTGGCTTTAACGTCCGACGTAACGGAATTGATCAACACTAGGGGGCAAGGT
841 AAGATATGTTTTCCAGACTCAGTGTTATCGATCAATGAAGCGGATATCTACGATGAGCGG
901 TATTTGCCGATAACGGAAGCTCTACAGATAAACGCAAGACTACGCAGACTCGTTCTTTCCG
961 AAAGGCGGGAGTCAAACACCACGAGATATGGGGAATATGATAGTGGCCATGATACAACCT
1021 TTCGTA CTACTCTACTGTAAAGAATATAAGCGTCAAAGACGGGTATAGGGTGGAGACC
1081 GAATTAGGTCAAAGAAAGTCTACTTAAGTTATTCGGAAGTAAGGGAAGCTATATTAGGA
1141 GGGAAATACGATGCGTCTCCAACCAACACTGTGCGATCCTTCATGAGGTATTTACTCAC
1201 ACCACCATTACTCTACTTATAGAGAAGAAAATTCAGCCAGCGTATACTGCCCTAGCTAAG
1261 CACGGCGTCCCGAAGAGGTTCACTCCGTA CTGCTTCGACTTCGCACTACTGGATAACAGA
1321 TATTACCCGGCGGACGTGTTGAAGGCTAACGCAATGGCTTGCGCTATAGCGATTAAATCA
1375 GCTAATTTAAGGCGTAAAGGTTCCGAGACGTATAACATCTTAGAAAGCATTG

10. ábra. A Kőszeg2 izolátum változó köpenyfehérjéjének a nukleotid sorrendje

Jelmagyarázat: A- adenin, T- timin, C- citozin, G- guanin

MGAYTHINFHESRLLKDKQDYLSFKSAGEAPPDPPGYVRPDSYTRAYLIQRADFPRIEDL
SVTLSIASNKLASGLMGSDAVSSSFMLMNDGGDYFECGVCHNKPYLGREVVFCCKYIGG
RGVEITTGKNYSSNNWNESSYVLQVDIVGGTAQTSVNSTYTQTDVSGLPKNWTRIIYKITKI
VSVDQNLYPGCFSSSKLNVMLIRSLVVSPIRTFFRVLLKPLRKSFNARVEDVLSIDDATLL
APSPVAPAPTEGVGPSEQLDVVALTSDVTELINTRGQGKISFPDSVLSINEADYDERYLPIT
EALQINARLRRVLVSKGGSQTPRDMGNMIVAMIQLFVLYSTVKNISVKDGYRVETELGQK
KVYLSYSEVREAILGGKYDASPTNTVRSFMRYFTHTTTITLLIEKKIQPAYTALAKHGVPKRF
TPYCFDFALLDNRYYPADV LKANAMACAVAIKAAANLRRKGSETYNILESI

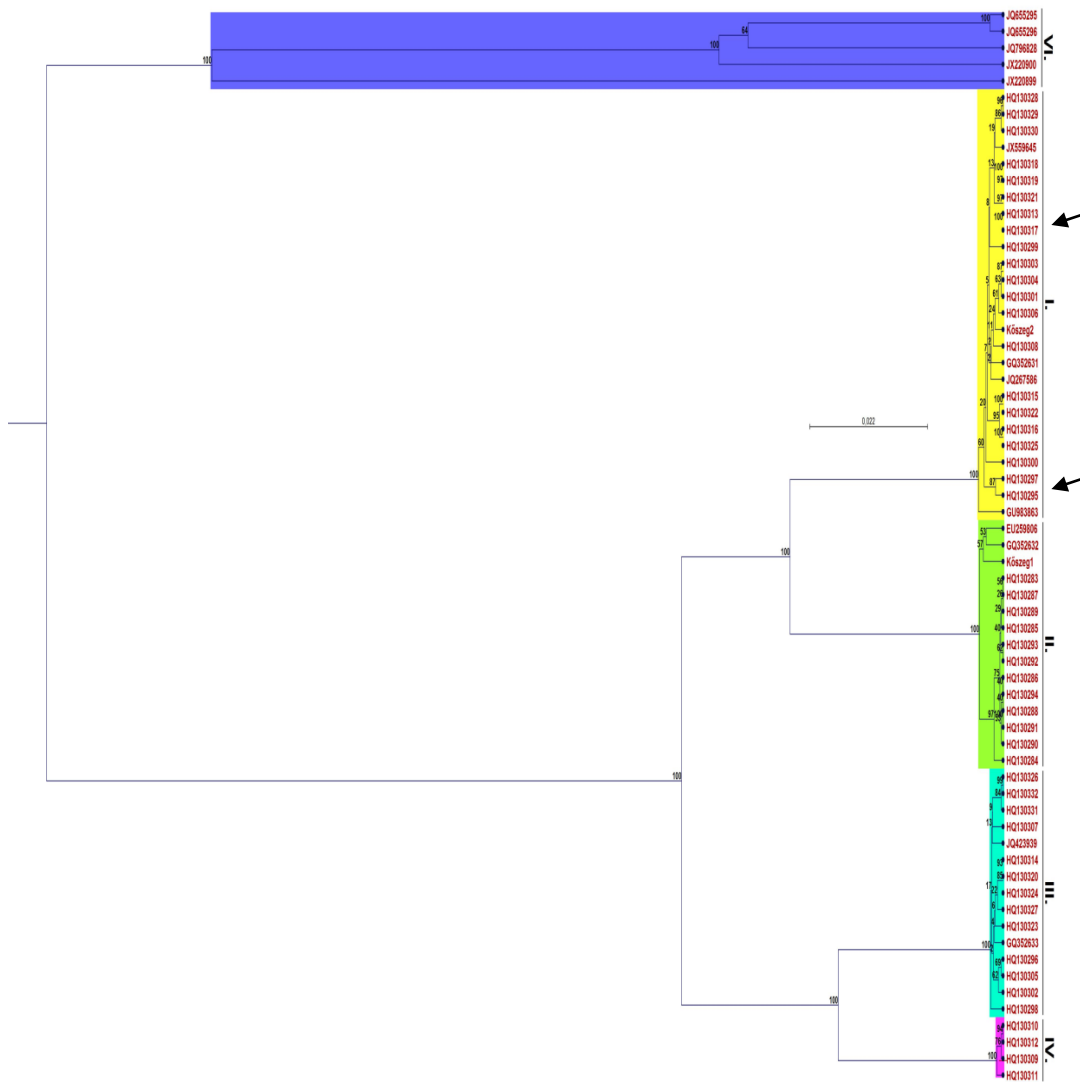
11. ábra. A Kőszeg1 izolátum változó köpenyfehérjének az aminosav sorrendje
Jelmagyarázat: A: Alanin (Ala), R: arginin (Arg), N: aszparagin (Asn), D: aszparaginsav (Asp), C: cisztein (Cys), F: fenilalanin (Phe), G: glicin (Gly), Q: glutamin (Gln), E: elutaminsav (Glu), H: hisztidin (His), I: izoleucin (Ile), L: leucin (Leu), K: lizin (Lys), M: metionin (Met), P: prolin (Pro), S: szerin (Ser), Y: tirozin (Tyr), T: treonin (Thr), W: triptofán (Trp), V: valin (Val)

MGAYTHVDFHESRLLKDKQDYLSFKSANEAPPDPPGYVRPDSYVRA YLIQRADFPNTQSL
SVTLSIASNKLASGLMGSDAVSSSFMLMNNAGDYFECGVCHNKPYLGREVIFCRKYLGGRR
GVEITTGKNYTSNNWNEASYVIQVNVVDGLAQT TVNSTYTQTDVSGLPENWTRIIYKITKI
VSVDQNLYPGCFSDSKLGV MRIRSLVSPVRIFFRDILLKPLKKSFNARIEDV LNIDDTSLLV
PSPVVPESTGGVGPSEQLDVVALTSDVTELINTRGQGKICFPDSVLSINEADYDERYLPITEA
LQINARLRRVLVSKGGSQTPRDMGNMIVAMIQLFVLYSTVKNISVKDGYRVETELGQKKVY
LSYSEVREAILGGKYDASPTNTVRSFMRYFTHTTTITLLIEKKIQPAYTALAKHGVPKRFTPYCF
DFALLDNRYYPADV LKANAMACAIKSAIKNLRRKGSETYNILESI

12. ábra. A Kőszeg2 izolátum változó köpenyfehérjének az aminosav sorrendje
Jelmagyarázat: A: Alanin (Ala), R: arginin (Arg), N: aszparagin (Asn), D: aszparaginsav (Asp), C: cisztein (Cys), F: fenilalanin (Phe), G: glicin (Gly), Q: glutamin (Gln), E: elutaminsav (Glu), H: hisztidin (His), I: izoleucin (Ile), L: leucin (Leu), K: lizin (Lys), M: metionin (Met), P: prolin (Pro), S: szerin (Ser), Y: tirozin (Tyr), T: treonin (Thr), W: triptofán (Trp), V: valin (Val)

A magyar izolátumok a köpenyfehérje régióban nukleotid szinten 92,5 %-os, míg aminosav szinten 90,78 %-os azonosságot mutatnak. Mindkét izolátum az új-zélandi izolátumtól (NCBI azonosító: JX266782) különbözik a legnagyobb mértékben, mindössze 68 % az azonosság a vizsgált régióban.

Ezt követően megállapítottuk a kapott szekvenciáink filogenetikai hovatartozását a Biotechnológiai Információk Nemzetközi Központi Adatbázisban (National Center for Biotechnology Information, NCBI) elhelyezett GLRaV-3 Cpm gént kódoló ORF7 fehérjetermék variánsainak adataival összevetve. A filogenetikai törzsfá alapjául a Chooi és munkatársai (2013b) által végzett vizsgálatok alapján elkülönített 6 csoportot vettük alapul a hovatartozás megállapításakor (13. ábra).



13. ábra. A GLRaV-3 CPM-es génszakaszának összehasonlító elemzéséből elkészített filogenetikai törzsfá

Jelmagyarázat: JQ655295 (Dél-Afrika), JQ655296 (Dél-Afrika), JQ796828 (Amerika), JX220900 (Új-Zéland), JX220899 (Új Zéland), HQ130328 (Amerika), HQ130329 (Amerika), HQ130330 (Amerika), JX559645 (Kanada), HQ130318 (Amerika), HQ130319 (Amerika), HQ130321 (Amerika), HQ130313 (Amerika), HQ130317 (Amerika), HQ130299 (Amerika), HQ130303 (Amerika), HQ130304 (Amerika), HQ130301 (Amerika), HQ130306 (Amerika),* Kőszeg2 (K3), HQ130308 (Amerika), EU3444893 (Chile), GQ352631 (Dél-Afrika), JQ267586 (Szlovákia), HQ130315 (Amerika), HQ130322 (Amerika), HQ130316 (Amerika), HQ130325 (Amerika), HQ130300 (Amerika), HQ130297 (Amerika), HQ130295 (Amerika), GU983863 (Amerika), EU259806 (Dél-Afrika), GQ352632 (Dél-Afrika),* Kőszeg1 (K2), HQ130283 (Amerika), HQ130287 (Amerika), HQ130289 (Amerika), HQ130285 (Amerika), HQ130293 (Amerika), HQ130292 (Amerika), HQ130286 (Amerika), HQ130294 (Amerika), HQ130288 (Amerika), HQ130291 (Amerika), HQ130290 (Amerika), HQ130284 (Amerika), HQ130326 (Amerika), HQ130332 (Amerika), HQ130331 (Amerika), HQ130307 (Amerika), JQ423939 (Kína), HQ130314 (Amerika), HQ130320 (Amerika), HQ130324 (Amerika), HQ130327 (Amerika), HQ130323 (Amerika), GQ352633 (Dél-Afrika), HQ130296 (Amerika), HQ130305 (Amerika), HQ130302 (Amerika), HQ130298 (Amerika), HQ130310 (Amerika), HQ130312 (Amerika), HQ130309 (Amerika), HQ130311 (Amerika). I, II, III, IV, VI-variáns csoportok.

A GLRaV-3 CPm gén 1432 bp hosszúságú szakaszának szekvencia analízise és a Genbankban található 66 külföldi izolátum CPm szekvenciája alapján készített dendrogram (13. ábra) 5 csoportot különít el. A csoportok elkülönítésére szolgáló jelölés Chooi és mtsai (2013b) számozása szerint történt. Az általunk kapott csoportokba tartozó szekvencia adatok megegyeztek a Chooi és mtsai által alapul vett Gouvei és mtsai (2011) és Bester és mtsai (2012) által meghatározott filogenetikai csoportokkal.

Az általunk készített törzsfá adatai alapján az első csoportba a HQ130326, HQ130329, HQ130330 (amerikai), JX559645 (kanadai), HQ130318, HQ130319, HQ130321, HQ130313, HQ130317, HQ130299, HQ130303, HQ130304, HQ130301, HQ130306, HQ130308 (amerikai), EU344893 (chilei), GQ352631 (dél-afrikai), JQ267586 (szlovákiai), HQ130315, HQ130322, HQ130316, HQ130325, HQ130300, HQ130297, HQ130295, GU983863 (amerikai) számú minták kerültek. A vizsgált magyarországi izolátumok közül a Kőszeg2 izolátum is ebbe a csoportba került.

A második csoportba szintén több izolátum is sorolható. Ezek az EU259806, GQ352632 (Dél-Afrika), HQ130283, HQ130287, HQ130289, HQ130285, HQ130293, HQ130292, HQ130286, HQ130294, HQ130288, HQ130291, HQ130290, HQ130284 (Amerikai Egyesült Államok). A Kőszeg1 jelzésű magyarországi izolátum ennek a csoportnak lett a tagja.

A harmadik csoportba a HQ130326, HQ130332, HQ130331, HQ130307, HQ130314, HQ130320, HQ130324, HQ130327, HQ130323, HQ130296, HQ130305, HQ130302, HQ130298 génbanki azonosítójú Amerikai Egyesült Államokból származó minták tartoznak. A JQ423939 számmal ellátott minta kanadai származású, míg a GQ352633 számú minta pedig dél-afrikai származású.

A negyedik csoportba négy Amerikai Egyesült Államokból származó minta tartozik. Ezek a minták Wang és mtsai (2010) munkájában „d” csoportjelzést kaptak, ami Chooi és mtsai (2013b) javaslata alapján a IV csoportnak felelnek meg. Ezek a minták a HQ130310, HQ130312, HQ130309 és HQ130311 számú génbanki azonosítóval vannak ellátva.

A GLRaV-3 ötödik csoportját a vizsgálati alapul vett CPm gén szekvenciák nem képviselik. A hatodik csoportba a dél-afrikai JQ655295 és JQ655296 számú minta tartozik. Ezen minták mellett egy Amerikai Egyesült Államokból származó (JQ796828) és két Új-zélandi minta (JX220900, JX220899) is ebben a csoportba lett besorolva.

5. Következtetések, javaslatok

A begyűjtött tüneteket mutató minták egy részében nem sikerült vírusfertőzést kimutatni. Ennek az oka lehet, hogy a tünetek sok esetben összetéveszthetőek más, nem vírusok okozta élettani elváltozásokkal. A szőlő levelén megfigyelhető sodródás és elszíneződés a GLRaV vírusok mellett (14-15. ábra) fitoplazma fertőzésre is utalhat (16-17. ábra), továbbá az amerikai bivalykabóca szúrása nyomán kialakult élettani változásra is utalhatnak. A szőlőleveleken különböző szín- és alakbeli elváltozások a nem harmonikus tápanyagellátás jelei is lehetnek. Káliumhiány következtében az idősebb levelek felülete először sötét lilásbarnára színeződik, hasonlóképp, mint a levélsodródás okozta elszíneződés a vörösbort adó szőlőfajtákon (18. ábra). A szőlőatka jelenléte is okozhat bronzos elszíneződést az idősebb levelek érközötti területén. A magnéziumhiány a fehérbort adó szőlőfajtákon a levélsodródás okozta kezdeti tünetként megjelenő kivilágosodáshoz hasonló (19. ábra), míg a vörösbort adó szőlőfajtáknál a levélszövetek fokozatosan pirosas-barnára változnak. A levélerek mindkét esetben zöldek maradnak, akár csak a levélsodródás kezdeténél. A levélsodródás vírus tüneteivel ellentétben a tápanyaghiány esetében a levelek nem sodródnak, és idővel az elszíneződött növényi részek elszáradnak.



14. ábra. Levélsodródás okozta tünetek (Fotó: Apró M.)



15. ábra. Kezdeti GLRaV tünetek (Fotó: Apró M.)



16. ábra. *Grapevine flavescence dorée* fitoplazma okozta tünetek vörös bort adó szőlőfajtán (Fotó: Apró M.)



17. ábra. *Grapevine flavescence dorée* fitoplazma tünete fehérbort adó szőlőfajtán
(Fotó: Apró M.)



18. ábra. Káliumhiány tünete vörösbort adó szőlőfajtán (Fotó: Apró M.)



19. ábra. Magnéziumhiány okozta levélszövetkivilágosodás fehérbort adó szőlőfajtán
(Fotó: Apró M.)

A GCMV okozta színváltozás (20. ábra) könnyen összetéveszthető a nitrogénhiány kezdeti tünetével (21. ábra). Mindkét esetben a levelek kivilágosodnak és a tőkék gyengén fejlődnek.



20. ábra. GCMV kezdeti tüneti képe (Fotó: Cseh E.)



21. ábra. Nitrogénhiány tüneti képe szőlőtőkén (Fotó: Apró M.)

A nem megfelelő technológiával kijutatott hormonhatású növényvédőszer elsodródása hasonló tüneteket (22. ábra) okoz, mint a GFLV (23. ábra). Mindkét esetben a levelek elvesztik a fajtajellegüket és a levélerek rendellenesen fejlődnek. A hormonhatású herbicidnél nagyobb a levelek deformálódása, míg a vírus hatására torzult aszimmetrikus levelek erősen fogazottak.



23. ábra. Hormonhatású gyomirtó szer okozta deformációk szőlőlevélen (Fotó: Gáborjányi R.)



24. ábra. GFLV okozta tüneti kép (Fotó: Cseh E.)

Két tünetmentes minta vizsgálata során vírushatás jelenlétét igazoltuk. Ez bizonyítja, hogy sok esetben kizárólag a laboratóriumban végzett diagnosztikai eljárások adhatnak biztos eredményt a fertőzésről. Sajnos számos szőlővírus szerológiai kimutatásához nem áll rendelkezésre antiszérum.

A szőlővírusok kimutathatóságát befolyásolja a mintavétel ideje, a gyűjtött növényi részben a vírus koncentrációja, a feltárás módja, valamint a növényi szövetek inhibitor tartalma. A mintagyűjtés során az időjárás is befolyásolhatja a mintában található vírus kimutatásának a sikerességét. Mindezen tényezők hozzájárulhattak ahhoz, hogy a tüneteket mutató tőkék egy részéből nem tudtunk vírushatást kimutatni.

A Balaton-felvidéki borvidék mintáiban a megfigyelt tünetek ellenére sem sikerült vírushatást kimutatnunk. Ezekre a mintákra a mozaik, klorózis és a nekrotikus foltok voltak

a jellemzőek. A mintagyűjtési hely egy hegyoldal déli, erős napsugárzásnak kitett oldalán található, továbbá a mintaszedési idő előtt jégkár is érte az ültetvényt. Így feltételezhető, hogy az időjárási hatások szerepet játszottak a kórokozók azonosításának sikertelenségében.

A Balatonboglári borvidéken gyűjtött minták jelentős része előregedett és atkával fertőzött ültetvényből származott. A vegetációs időhöz képest később a rügypattanás, továbbá a hajtások ízkevei rövidek voltak. A vizsgálatok során a mintákból nem tudtuk vírusok jelenlétét igazolni. Feltételezhető, hogy a tavaszi szárazság és a súlyos atkafertőzés akadályozta az időben történő kihajtást, majd rövid ízkezőket és levéldeformációt okozott.

A 11 borvidék mintáinak jelentős részében ki tudtuk mutatni a GVA fertőzését, amely a korábbi vizsgálatok során nem volt jellemző. A vírus egy minta kivételével minden esetben a GLRaV-1 komplex fertőzésével fordult elő. Több levélsodródással kapcsolatos kutatás is említést tesz arról, hogy a GVA általában a levélsodródás okozta vírusokkal, azon belül is a GLRaV-1-gyel és a GLRaV-3-mal együttesen fordul elő a fertőzött mintákban (Lázár és mtsai, 1997). Ennek oka lehet, hogy ezek a vírusok feltételezhetően, segítő komponens tartalmazznak a GVA számára (Zorloni és mtsai, 2006). A szerológiai vizsgálat során pozitív minták, minden esetben igazolták a megfigyelt tüneteket.

A 140 fehérszőlőről származó mintában, 18 esetben, míg a 185 vörösbort adó szőlőtökéről gyűjtött minták közül 67 növényből mutattunk ki vírusfertőzést. A fehérszőlőfajtáknál a GLRaV-1 és GLRaV-3 vírus volt a leggyakoribb. A vörösbort adó szőlőfajták mintáiban a legtöbb általunk vizsgált vírus kimutatható volt, összességében a GLRaV-1, GVA és a GLRaV-3 jelenléte dominált.

Az eredményeket összevetettük az előző évek szőlő virológiai kutatás eredményeivel. Míg Cseh és mtsai (2012) által végzett felmérésekben a fertőzött mintákban a GLRaV-1 és GLRaV-3 fokozott elterjedése mellett a nepovírusok együttesen nagyobb arányt képviseltek, addig a mi kutatásainkban a GLRaV-1 és a GLRaV-3 jelenléte együttesen dominált a különböző borvidékek mintáiban.

Molekuláris módszerekkel két Kőszegről származó GLRaV-3 mintát vizsgáltunk. Az ORF7 régió nukleotid és aminosav sorrendjét határoztuk meg, amely a vírus, változó köpenyfehérjének (CPm) felel meg. A két 1432 bázispár hosszúságú ORF7 génszakaszt a nukleotid sorrend meghatározása után összevetettük a Genbank adatbázisban szereplő külföldi izolátumok szekvencia adataival.

Chooi és mtsai (2013) által végzett vizsgálatok alapján a GLRaV-3 izolátumok hat különböző csoportot képeznek a filogenetikai törzsfá vizsgálatokor. A Kőszeg1 izolátum ezek alapján a II. csoportba tartozik és egy dél-afrikai izolátummal mutat közeli rokonságot. Ebbe a

csoportha tartozik még a dél-afrikai izolátumokon kívül számos Amerikai Egyesült Államokból származó izolátum is. A Kőszeg2 izolátum az I. csoportban foglal helyet a törzsfán. Ez az izolátum egy Amerikai Egyesült Államokból származó izolátummal mutatja a legközelebbi rokonságot. Ebbe a csoportba tartozik még egy chilei, kanadai, dél-afrikai és szlovákiai izolátum is.

A dolgozatban szereplő vírus izolátumok szekvencia adatai LN851187 (Kőszeg1) és LN851188 (Kőszeg2) nyilvántartási számokkal elhelyezésre kerültek a Genbankban.

A filogenetikai törzsfá szerkesztésekor mindkét esetben Chooi és munkatársai által javasolt csoportosítás, és jelölés lett figyelembe véve. Ezek alapján a Kőszeg1 izolátum mindkét munkában a II. csoportba került. Ezzel szemben a Kőszeg2 izolátum a IV csoportba tartozott a HSP70 szekvencia alapján, addig az ORF7 fehérje szerint az I. csoportba került besorolásra. Ennek megfelelően csak a teljes nukleinsav szekvencia meghatározása adhat pontos eredményt a vírus rokonsági kapcsolatainak a feltárásában. Így lehetséges, hogy a HSP70h gén szekvencia analízise alapján a Kőszeg1 a kínai mintákhoz hasonlít leginkább, míg az ORF7 elemzésekor egy dél-afrikai és egy amerikai mintával mutat közeli rokonságot. A Kőszeg2 minta a HSP70 régió nukleotid sorrendje alapján egy dél-afrikai mintával mutat közeli rokonságot, míg az ORF7 szekvencia alapján egy amerikai mintával. Az európai minták közül az ORF7 elemzésekor a Kőszeg2 minta egy szlovákiai izolátummal került egy csoportba, míg a HSP70 vizsgálatok pedig egy ausztriai mintával mutattak közeli rokonsági fokot. Más európai izolátum nem szerepelt az adatbázisban. A filogenetikai csoporton belüli és az izolátumok közötti földrajzi közelség miatt az eredetükben szerepet játszhatott a szaporítóanyag kereskedelem és a vektorok tevékenysége is.

6. Összefoglalás

2012 és 2014 között Magyarország borvidégeinek különböző korú és fajtaösszetételű szőlőültetvényeiről 325, elsősorban vírustüneteket mutató és néhány tünetmentes levelet gyűjtöttünk. A vírusok kimutatására DAS-ELISA szerológiai módszert alkalmaztunk. A legnagyobb számban a GLRaV-1 fertőzése volt kimutatható, összesen 55 mintában. Ezt követte a GVA és a GLRaV-3 jelenléte 29 illetve 11 mintában. A GCMV előfordulása 6 mintában volt igazolható. Az ArMV a vizsgált minták közül 3 még a GFkV 2 minta esetében adott pozitív eredményt. A GFLV és a GLRaV-6 jelenlétét 1-1 mintában sikerült azonosítani. GVB, GLRaV-7 és AMV jelenlétét egy mintában sem tudtuk kimutatni a szerológiai vizsgálatok során. Több esetben komplex fertőzést tapasztalunk. A leggyakoribb a GLRaV-1 és a GLRaV-3 együttes fertőzése volt.

A szőlővírusok borvidékenkénti megoszlását vizsgálva megállapítottuk, hogy a 22 borvidékből 16 esetében tudunk vírusfertőzéseket kimutatni. A GLRaV-1 14 borvidéken volt jelen: Zala, Csongrád, Hajós-Baja, Kunság, Bükk, Mátra, Etyek-Buda, Tokaj, Mór, Pannonhalma, Badacsony, Sopron, Eger, Pécs. Az utóbbi négy borvidéken és a Balatonfüred-Csopaki borvidéken a GLRaV-3 fertőzése is kimutatható volt. GVA-val fertőzött minták 10 borvidékről származtak (Badacsonyi-, Balatonfüred-Csopaki-, Zalai-, Csongrádi-, Hajós-Bajai-, Kunsági-, Mátrai-, Pannonhalmi-, Soproni- és a Tokaji borvidék). GLRaV-6 fertőzését a Mátrai borvidékről származó mintában sikerült azonosítani. A GFLV fertőzését a Balatonfelvidéki borvidékről származó mintákban sikerült kimutatni. A GCMV-vel fertőzött minták az Egri-, Móri-, Soproni és a Tokaji borvidékekről kerültek begyűjtésre. A látens foltosság (GFkV) a Csongrádi- és az Egri borvidék mintáiból került azonosításra. A többi vizsgált vírust szerológiai módszerekkel nem tudtuk kimutatni.

Eredményeinkből megállapítható, hogy a levélsodródást okozó vírusok jelenléte a legtöbb borvidék mintáiban a legnagyobb előfordulási gyakorisággal igazolható.

A GLRaV-3 gyakoriságára és a korábbi molekuláris vizsgálatokra alapozva RT-PCR módszerrel elvégeztük a két Kőszegről származó minta ORF7 régiójának a nukleotid szekvencia és aminosav sorrend meghatározását. A két GLRaV-3 izolátum a Keszthelyi Növényvédelmi Intézet növényvírus génbankjából származott és az izolátumok HSP70 régiójának jellemzőit korábban már meghatározták.

A primerek tervezéséhez a Genbankban lévő konzervált régiókat használtuk fel. A mintákat Kőszeg1 és Kőszeg2 jelöléssel láttuk el. Az ORF7 fehérjét kódoló gén 1432 bp

hosszúságú génszakaszának a nukleotid és aminosav sorrendjét a meghatározást követően összevetettük a Genbank-ban található izolátumok adataival. A magyar izolátumok a változó köpenyfehérje régióban nukleotid szinten 92,5 %-os, míg aminosav szinten 90,78 %-os azonosságot mutattak. Mindkét izolátum az új-zélandi izolátumtól (NCBI azonosító: JX266782) különbözött a legnagyobb mértékben. Mindössze 68% volt az azonosság a vizsgált régióban. A filogenetikai törzsfá adatai alapján a GLRaV-3 izolátumok esetében öt csoportot lehet elkülöníteni. A magyarországi izolátumok közül a Kőszeg1 izolátum ezek alapján a II. a Kőszeg2 izolátum pedig I. csoportba sorolható. A Kőszeg1 izolátum egy dél-afrikai és egy amerikai izolátummal mutatta a legközelebbi rokonságot, a Kőszeg2 izolátum szintén az amerikai izolátumokkal mutatja a legközelebbi rokonságot. Ebben a csoportban az amerikai izolátumokon kívül egy szlovákiai, chilei és egy kanadai izolátum is volt.

7. Új tudományos eredmények

1. Magyarország 7 borrégiójának és 22 borvidékének településeiről 2012 és 2014 között gyűjtött 325 mintából 8 szőlőt fertőző vírus jelenlétét mutattuk ki 77 minta esetében. Negyvenhat mintában egy vírus jelenléte volt igazolható, 31 esetben két-két vírus komplex fertőzését azonosítottuk.

2. Vizsgálataink során megállapítottuk, hogy a korábban jelentősnek tartott nepovírusok (GFLV, ArMV, TBRV, GCMV) egyenként és együttesen is kisebb arányban voltak jelen, mint a GVA, GLRaV-1 és GLRaV-3 szerológiai csoportok. A korábbi évek kutatási eredményei szerint a mintákban a GVA jelenléte nem volt jelentős, ezzel szemben munkánkban a levélsodródást okozó vírusokkal komplexen a legnagyobb arányt képviselte.

3. Magyarországon először vizsgáltuk GLRaV-3 izolátumok változó köpenyfehérjéjét. Két hazai, korábban már vizsgált kőszegi származású GLRaV-3 izolátum ORF7 változó köpenyfehérjéjét (CPm) kódoló régió nukleotid és aminosav sorrendjét határoztuk meg molekuláris módszerrel (RT-PCR). A filogenetikai analízis alapján a magyarországi izolátumok beilleszthetők a már meglévő öt csoportba. A Kőszeg1 izolátum a II. számú csoportba, míg a Kőszeg2 számú izolátum az I. számú csoportba tartozik. Az izolátumok szekvencia adatai a LN851187 és LN851188 nyilvántartási számokkal kerültek Genbanki elhelyezésre.

4. A dolgozatban szereplő izolátumok HSP70 homológ fehérjéjének a szekvenciája korábban meghatározásra került. Ezek alapján a 2.2 izolátum, esetünkben Kőszeg1 izolátum mindkét munkában a II. csoportba lett besorolva. Míg korábban az 1.4 számú izolátum (vizsgálatunkban Kőszeg2) a IV. csoportba került elhelyezésre a HSP70 szekvencia adatai alapján, addig az ORF7 fehérje alapján az I. csoportba került.

8. New results

1. We showed 8 viruses contaminating wine grapes in 77 samples out of 325 samples that were collected between 2012 and 2014 in Hungary's 7 wine regions and 22 wine-growing areas. In forty six samples one virus' presence was verifiable, and in 31 cases we identified complex contamination of two-two viruses.

2. During testing we found out that the nepoviruses that were previously considered as significant (GFLV, ArMV, TBRV, GCMV) were present individually as well as collectively in a smaller proportion than the GVA, GLRaV- 1 and GLRaV-3 serological groups. In researches of previous years the GVA was not significantly present in the samples; however, it represented the largest proportion in our job together with the Grapevine leafroll-associated viruses.

3. In Hungary we tested divergent coat protein of GLRaV-3 isolates the first time. We defined the nucleotide and amino acid sequence of the ORF7 region that codes divergent coat protein (CPm) of GLRaV-3 isolates from Kőszeg that was already previously tested by molecular method (RT-PCR). Based on the filogenetical analysis the Hungarian isolates can be categorized into the already existing five groups. The Kőszeg1 isolate belongs to the group Nr. II., while the Kőszeg2 isolate belongs to the group Nr. I. The sequence data of the isolates have been registered in the GeneBank, under accession numbers of LN851187 and LN851188.

4. The sequence of the homolog protein of HSP70 isolates that are presented in the assessment got defined previously. Based on them the 2.2 isolate, in our case the Kőszeg1 isolate got categorized in to the group Nr. II. in both assessments while before the isolate Nr. I (in our test named Kőszeg2) got placed in to the group Nr. IV. based on the HSP70h sequence data, but in to the group Nr. I. based on the ORF7 protein.

9. Irodalomjegyzék

- Abou Ghanem-Sabanadzovic, N., Sabanadzovic, S., Uyemoto, J. K. Golino, D. and Rowhani, A.** (2010): A putative new ampelovirus associated with grapevine leafroll disease. *Arch. Virol.* 155: 1871-1876.
- Agranovsky, A. A., Boyko, V. P., Karasev, A. V., Lunina, N. A., Koonin, E. V and Dolja, V. V.** (1991): Nucleotide sequence of the 3'-terminal half of Beet yellows *closterovirus* RNA genome: unique arrangement of eight virus genes. *J. Gen. Virol.* 72: 15-23.
- Alabi, O. J., Gutha, L. R., Casassa, L. F., Harbertson, J., Mirales, M., Beaver, C. W., Davenport, J. and Naidu, R. A.** (2012): Impacts of grapevine leafroll disease on own- rooted wine grape cultivar in cool climate conditions. 63rd American Society for Enology and Viticulture National Conference. Portland, United States 2012. pp. 69-70.
- Alkowni R., Rowhani A., Daubert S. and Golino D.** (2004): Partial characterization of a new ampelovirus associated with grapevine leafroll disease. *Journal of Plant Pathology* 86:123-133.
- Al Rwahnih, M., Dolja, V. V., Daubert, S., Koonin, E. V. and Rowhani, A.** (2011): Genomic and biological analysis of *Grapevine leafroll-associated virus 7* reveals a possible new genus within the family *Closteroviridae*. *Virus Res.* 163: 302-309.
- Almeida, R. P. P., Tsai, C. and Daane, K. M.** (2009): The role of seasonality on mealybug transmission of grapevine leafroll-associated viruses: an ecological hypothesis. In: 16th meeting of the international council for the study of virus and virus-like diseases of the grapevine. Dijon, France 2009. p. 278.
- Anfoka, G. H., Shahrour, W. and Nakhla, M. K.** (2004): Detection and molecular characterization of Grapevine fanleaf virus and *Grapevine leafroll-associated virus 3* in Jordan. *J. Plant Pathol.* 86: 203-207.
- Angelini, E., Bertazzon, N., Bazzo, I. and Borgo, M.** (2006): "Molecular characterization of a divergent strain of grapevine leafroll-associated virus 3," in Proceedings of the 15th Congress of ICVG 3–7 April (Stellenbosch: South African Society for Enology and Viticulture), Stellenbosch, South Africa 2006. pp. 148-150.
- Apró, M., Cseh, E., Gáborjányi, R. és Takács, A. P.** (2014a): Magyarországi szőlőültetvények vírusfertőzöttsége. In: *Borászati füzetek.* 21 (2): 8-11.

- Apró, M., Cseh, E., Gáborjányi, R. és Takács, A. P.** (2014b): Leggyakoribb vírusbetegségek a hazai szőlőültetvényekben. *Kertészet és Szőlészet*. 63 (29): 16-19.
- Apró, M., Pájtli, É., Palkovics, L. és Takács, A. P.** (2016): Magyar GLRA-3 izolátumok változó köpenyfehérjéjének (dCP) első hazai vizsgálata molekuláris módszerekkel. 62. Növényvédelmi Tudományos Napok, Budapest 81. (Abstr.)
- Atallah, S. S., Gómez, M. I., Fuchs, M. F. and Martinson, T. E.** (2012): Economic impact of grapevine leafroll disease on *Vitis vinifera* cv. Cabernet franc in Finger Lakes vineyards of New York. *Am. J. Enol. Vitic.* 63: 73-79.
- Bahder, B.W., Poojari, S., Alabi, O. J., Naidu, R. A. and Walsh, D. B.** (2013): *Pseudococcus maritimus* (Hemiptera: Pseudococcidae) and *Parthenolecanium corni* (Hemiptera: Coccidae) Are capable of transmitting *Grapevine leafroll-Associated Virus 3* between *Vitis x labruscana* and *Vitis vinifera*. *Environ Entomol.* 42: 1292-1298.
- Balachandran, S., Hurry, V. M., Kelley, S. E, Osmond, C. B., Robinson, S. A., Rohozinski, J., Seaton, G. G. R. and Sims, D. A.** (1997): Concepts of plant biotic stress. Some insights into the stress physiology of virus-infected plants, from the perspective of photosynthesis. *Physiologia Plantarum* 100: 203-213.
- Balázs, E. and Gáborjányi, R.** (1974): Ethrel-induced leaf senescence and increased TMV susceptibility in tobacco. *Z. Pflanzekr. Pflanzensch.* 81: 389-92.
- Barrass, I. C., Jerie, P. and Ward, S. A.** (1994): Aerial dispersal of first- and second-instar longtailed mealybug, *Pseudococcus longispinus* (Targioni Tozzetti) (Pseudococcidae: Hemiptera). *Aust. J. Exp. Agric.* 34: 1205-1208.
- Bell, V. A., Bontiglioli, R. G. E., Walker, J. T. S., Lo P. L., Mackay, J. F. and McGregor, S. E.** (2009): *Grapevine leafroll associated virus 3* persistence in *Vitis vinifera* remnant roots. *J. Plant Pathol.* 91: 527-533.
- Belli, G., Fortusini, A., Casati, P., Belli, L., Bianco, P. A. and Prati, S.** (1994): Transmission of a grapevine leafroll associated closterovirus by the scale insect *Pulvinaria vitis* L. *Rivista di Patologia Vegetale, S. V.* 4: 105-108.
- Bertamini, M., Muthuchelian, K. and Nedunchezian, N.** (2004): Effect of grapevine leafroll on the photosynthesis of field grown grapevine plants (*Vitis vinifera* L.cv. Lagrein). *Journal of Phytopathology* 152: 145-152.
- Bertazzon, N., Repetto, O., De Rossi, M., Flamini, R., Angelini, E. and Borgo, M.** (2009): Leafroll symptoms caused by GLRaV-3 are associated with an increase of

- resveratrol in grapevine leaves. 16th Meeting of ICVG, Dijon, France 2009. 252. p.
- Bertin S., Mannini, F., Bosco, D., Gambino, G., Cuzzo, D. and Gribaudo, I.** (2009): Spread of GVA, GLRaV-1 and -3 and role of the mealybug vector *Heliococcus bohemicus* in a vineyard of Langhe (Northwestern Italy). Extended Abstracts 16th Meeting of ICVG, Dijon, France 2009. pp. 279-280.
- Bertsch, C., Beuve, M., Dolja, V. V., Wirth, M., Pelsy, F., Herrbach, E. and Lemaire, O.** (2009): Retention of the virus-derived sequences in the nuclear genome of grapevine as a potential pathway to virus resistance. *Biol. Direct.* 4: 21.
- Bester, R., Maree, H. J. and Burger, J. T.** (2012): Complete nucleotide sequence of a new strain of *Grapevine leafroll-associated virus 3* in South Africa. *Arch. Virol.* 157: 1815-1819.
- Bodor, L. és Kobza, S.** (1995): A szőlővírusok (fertőző leromlás, sárga mozaik és levélsodródás) hatása a termés mennyiségére és az ültetvény állapotára. 41. Növényvédelmi Tudományos Napok. Budapest 1995. 33. p.
- Boscia, D., Greif, C., Gugerli, P., Martelli, G. P., Walter, B. and Gonsalves, D.** (1995): Nomenclature of grapevine leafroll-associated putative closteroviruses, *Vitis* 34: 171-175.
- Bovey, R., Gärtel, W., Hewitt, W. B, Martelli, G. P. and Vuittenez, A.** (1980): *Virus and Virus-like Diseases of Grapevines - Colour Atlas of Symptoms: Edition Payot Lausanne*
- Brar, H. S., Singh, Z., Swinny, E. and Cameron, I.** (2008): Girdling and grapevine leafroll associated viruses affect berry weight, colour development and accumulation of anthocyanins in 'Crimson Seedless' grapes during maturation and ripening. *Plant Science* 175: 885-897.
- Buciumeanu, E. C., Vişoiu, E., Guță, I. C. and Popescu, C. F.** (2010): Continuity of grapevine virology at NRDIBH Ștefănești-Argeș in the service of a viable viticulture in Romania. *Rom. Biotech. Lett.* 15: 11-18.
- Cabaleiro, C.** (1997): Field transmission of *Grapevine leafroll-associated virus 3* (GLRaV-3) by the mealybug *Planococcus citri*. *Plant Dis.* 81: 283-287.
- Cabaleiro, C.** (2009): Current advances in the epidemiology of grapevine leafroll disease. Extended Abstracts 16th Meeting of ICVG, Dijon, France 2009. pp. 264-268.

- Cabaleiro, C. and Segura, A.** (1997): Some characteristics of the transmission of *Grapevine leafroll-associated virus 3* by *Planococcus citri* Risso. *Eur. J. Plant Pathol.* 103: 373-378.
- Cabaleiro, C. and Segura, A.** (2006): Temporal analysis of grapevine leafroll associated virus 3 epidemics. *Eur. J. Plant Pathol.* 114: 441-446.
- Cabaleiro, C., Couceiro, C., Pereira-Crespo, S., Cid, M., Barrasa, M. and Segura, A.** (2008): Spatial analysis of epidemics of *Grapevine leafroll associated virus-3*. *Eur. J. Plant Pathol.* 121: 121-130.
- Cabaleiro, C., Segura, A. and Garcia-Berrios, J. J.** (1999): Effects of *Grapevine leafroll-associated virus 3* on the physiology and must of *Vitis vinifera* L. cv. Albarino following contamination in the field. *Am. J. Enol. Vitic.* 50: 40-44.
- Carstens, R.** (2002): Vineyard viruses: Leafroll overview. Wynboer-a technical guide for wine producers. Retrieved March 2010, from http://www.winetech.co.za/news_leafroll.php.3.
- Charles, J. G., Cohen, D., Walker, J. T. S., Forgie, S. A., Bell, V. A. and Breen, K. C.** (2006): A review of *Grapevine leafroll-associated virus* Type 3 (GLRaV-3) for the New Zealand wine industry. Report to New Zealand wine growers. Hort Research Client Report. 18447, 79.
- Charles, J. G., Froud, K. J., van den Brink, R. and Allan, D. J.** (2009): Mealybugs and the spread of *Grapevine leafroll-associated virus 3* (GLRaV-3) in a New Zealand vineyard. *Austr. Plant Pathol.* 38: 576-583.
- Chooi, K. M., Cohen, D. and Pearson, M. N.** (2013a): Molecular characterisation of two divergent variants of *Grapevine leafroll-associated virus 3* in New Zealand. *Arch. Virol.* 158 (7): 1597-602.
- Chooi, K. M., Cohen, D. and Pearson, M. N.** (2013b): Generic and sequence-variant specific molecular assays for the detection of the highly variable *Grapevine leafroll-associated virus 3*. *J. Virol. Methods* 189 (1): 20-29.
- Chooi, K. M., Pearson, M. N., Cohen, D. and Pong J. C. H.** (2009): Sequence variation in *Grapevine leafroll-associated virus-3* (GLRaV-3) New Zealand isolates. Extended Abstracts 16th Meeting of ICVG, Dijon, France 2009. pp. 290-291.
- Choueiri E., Boscia D., Digiario M., Castellano M.A. and Martelli G.P.** (1996): Some properties of a hitherto undescribed filamentous virus of the grapevine. *Vitis* 35: 91-93.

- Christov, I., Stefanov, D., Velinov, T., Goltsev, V., Georgierva, K. and Abracheva, P.** (2007): The symptomless leaf infection with *Grapevine leafroll associated virus 3* in grown in vitro plants as a simple model system for investigation of viral effects on photosynthesis. *J. Plant Physiol.* 164: 1124-1133.
- Cid, M., Pereira, S., Cabaleiro, C., Faoro, F. and Segura, A.** (2007): Presence of *Grapevine leafroll- associated virus 3* in primary salivary glands of the mealybug vector *Planococcus citri* suggests a circulative transmission mechanism. *Eur. J. Plant Pathol.* 118: 23-30.
- Clark, M. F. and Adams, A. N.** (1977): Characteristics of the microplate method of Enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *J. Gen. Virol.* 34: 475-483.
- Constable, F. E., Nicholas, P. and Rodoni, B. C.** (2010): Development and Validation of Diagnostic Protocols for the Detection of Endemic and Exotic Pathogens of Grapevines. Final report to grape and wine research & development corporation. Department of primary industries, DPI 05/04. p. 283
- Credi, R. and Babini, A. R.** (1997): Effects of virus and virus-like infections on growth, yield, and fruit quality of Albana and Trebbiano Romagnolo grapevines. *Am. J. Enol. Vitic.* 48: 7-12.
- Credi, R., Terlizzi, F., Martini L. and Borsari, S.** (2009) Transmission trails of grapevine viruses by the mealybug *Planococcus ficus* (Hemiptera: *Pseudococcidae*). 16th Meeting of ICVG, Dijon, France 2009. 285. p.
- Cseh, E.** (2012): Szőlővírusok előfordulása Magyarországon, valamint a hazai *Grapevine leafroll- associated virus 1* és *3* izolátumok molekuláris vizsgálata. Doktori értekezés. Pannon Egyetem. Georgikon Kar. Keszthely.
- Cseh, E., Palkovics, L., Apró, M., Gáborjányi, R., Kocsis, L. and Takács A. P.** (2013): Occurrence and evolutionary relationship of grapevine leafroll- associated virus 3 isolates in Hungary. *Journal of Plant Pathol.* vol. 1, Suppl. S1.51-S1.54.
- Digiario, M., Garau, R. and Savino, V.** (1999): *Closteroviruses* and grapevine diseases: a review of the situation before the establishment of the network. *Options Méditerranéennes: Série B. Studes et Recherches* 29: 67-81.
- Dolja, V. V. and Carrington, J. C.** (1992): Evolution of positive-strand RNA viruses. *Semin. Virol.* 3: 315-326.

- Dolja, V. V., Karasev, A. V. and Koonin, E. V.** (1994): Molecular biology and evolution of closteroviruses: sophisticated build-up of large RNA genomes. *Annu. Rev. Phytopathol.* 32: 261-285.
- Dolja V. V., Kreuze J. F. and Valkonen J. P. T.** (2006). Comparative and functional genomics of closteroviruses. *Virus Res.* 117: 38–51.
- Douglas, N. and Krüger, K.** (2008): Transmission efficiency of *Grapevine leafroll-associated virus 3* (GLRaV-3) by the mealybugs *Planococcus ficus* and *Pseudococcus longispinus* (Hemiptera: *Pseudococcidae*). *Eur. J. Plant Pathol.* 122: 207-212.
- Douglas-Smith, N. and Krüger, K.** (2013): *Grapevine leafroll-associated virus 3* (GLRaV-3) transmission by three soft scale insect species (Hemiptera: *Coccidae*) with notes on their biology. *African Entomology* 21: 1-8.
- Dula B.né.** (2012): Krónikus betegségek - A szőlő fás részeinek betegségei In: Dula B.-Kürti A.,- Rácz I. (szerk.): Diagnosztikai és szőlővédelmi kézikönyv – Gyakorló szakembereknek. DuPont Magyarország Kft., Budapest 2012. pp. 64-66.
- Endeshaw, S. T., Sabbatini, P., Romanazzi, G., Schilder, A. C. and Neri, D.** (2014): Effects of *Grapevine leafroll associated virus 3* infection on growth, leaf gas exchange, yield and basic fruit chemistry of *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Franc. *Scientia Horticulturae* 70: 228-236.
- Engel, E. A., Girardi, C., Escobar, P. F., Arredondo, V., Dominguez, C., Perez-Acle, T., P. and Valenzuela, D.** (2008): Genome analysis and detection of a Chilean isolate of *Grapevine leafroll associated virus-3*. *Virus Genes* 37: 110-118.
- Engelbrecht, D. J., and Kasdorf, G. G. F.** (1990): Transmission of grapevine leafroll disease and associated closteroviruses by the vine mealybug *Planococcus ficus*. *Phytophylactica* 22: 341-346.
- Fajardo, T. V. M., Dianese, E. C., Eiras, M., Cerqueira, D. M., Lopes, D. B., Ferreira, M. A. S. V. and Martins, C. R. F.** (2007): Variability of the coat protein gene of *Grapevine leafroll-associated virus 3* in Brazil. *Fitopatol. Bras.* 32: 335-340.
- Farooq, A. B. U., Ma, Y. X., Wang, Z., Zhuo, N., Wenxing, X., Wang, G. P. and Hong, N.** (2013): Genetic diversity analyses reveal novel recombination events in *Grapevine leafroll-associated virus 3* in China. *Virus Research* 171: 15-21.
- Fei, F., Lyu, M.-D., Li, J., Fan, Z.-F. and Cheng, Y.-Q.** (2012): Complete nucleotide sequence of a Chinese isolate of *Grapevine leafroll-associated virus 3* reveals a 5' UTR of 802 nucleotides. *Virus Genes* 46: 182-185.

- Fiore, N., Prodan, S., Montealegre, J., Aballay, E., Pino, A. M. and Zamorano, A.** (2008): Survey of grapevine viruses in Chile. *J. Plant Pathol.* 90: 125-130.
- Fortusini, A., Scattini, G., Prati, S., Cinquanta, S. and Belli, G.** (1997): Transmission of *Grapevine leafroll virus 1* (GLRV-1) and *Grapevine virus A* (GVA) by scale insects. Extended Abstracts, 12th Meeting of the International Council for the Study of Virus and Virus-like Diseases of the Grapevine, Lisbon, Portugal 1997. pp. 121-122.
- Fuchs, M. F.** (2007): Grape leafroll disease. Cornell University and the New York State IPM Program. http://www.nysipm.cornell.edu/factsheets/grapes/diseases/grape_leafroll.pdf.
- Fuchs, M., Martinson, T. E., Loeb, G. M. and Hoch, H. C.** (2009). Survey for the three major leafroll disease-associated viruses in Finger Lakes vineyards in New York. *Plant Dis.* 93: 395-401.
- Gáborjányi, R., Harsányi, A., Almási, A., Böddi, B. és Bóka, K.** (2007): A vírushatás hatása a fotoszintetikus apparátus szerkezetére és működésére. In: Gáborjányi R. és Király Z. (2007): Molekuláris növénykórtan. Agróinform Kiadó, Budapest 2007. pp. 131-151.
- Gale, G.** (2002): Saving the vine from phylloxera: a never-ending battle. In: Sandler M, Pinder R, editors. *Wine, a scientific exploration*: CRC Press. pp. 70-91.
- Gan, S.** (2003): Mitotic and postmitotic senescence in plants. *Sci. of Aging Knowledge Environment* 2003 (38) RE7
- Gangl, H., Leitner, G., Hack, C., Tiefenbrunner, A., Tiefenbrunner, M. and Tiefenbrunner, W.** (2011): Comparison of virus infection patterns in Austrian vineyards with simulated ones and some conclusions about transmission. *Mitteilungen Klosterneuburg* 61: 11-22.
- Geiger, C. A. and K. M. Daane, K. M.** (2001): Seasonal movement and distribution of the grape mealybug (Homoptera: *Pseudococcidae*): developing a sampling program for San Joaquin Valley Vineyards. *J. Econ. Entomol.* 94: 291-301.
- Gill, R. J.** (1988): The Scale Insects of California. Part 1. The Soft Scales (Homoptera: Coccoidea: *Coccidae*). 1: 1-132.
- Giribaldi, M., Purrotti, M., Pacifico, D., Santini, D., Mannini, F., Caciagli, P., Rolle, L., Cavallarín, L., Giuffrida, M. G. and Marzachi, C.** (2011): A multidisciplinary study on the effects of phloem-limited viruses on the agronomical performance and berry quality of *Vitis vinifera* cv. Nebbiolo. *J. Proteomics*, 75: 306-315.

- Glasa, M. and Predajna, L.** (2012): Partial sequence analysis of a *Grapevine leafroll-associated virus 3* isolate from Slovakia. *Journal of Plant Pathology* 94: 675-679.
- Goheen, A. C. and Cook, J. A.** (1959): Leafroll (red-leaf or rougeau) and its effects on vine growth, fruit quality, and yields. *Am. J. Enol. Vitic.* 10: 173-181.
- Golino, D. A.** (1993): Potential interactions between rootstocks and grapevine latent viruses. *Am. J. Enol. Vitic.* 44: 148-152.
- Golino, D, Sim, S. T., Gill, R. and Rowhani, A.** (2002): California mealybugs can spread grapevine leafroll disease. *California Agriculture* 56:196-201.
- Golino, D., Sim, S. T., Gill, R. and Rowhani, A.** (2002): California mealybugs can spread grapevine leafroll disease. *Calif. Agric.* 56: 196-201.
- Golino, D. A. and Almeida, R. P.** (2008): Studies needed of vectors spreading leafroll disease in California vineyards. *Calif. Agric.* 62: 174.
- Golino, D. A., Weber, E., Sim, S. and Rowhani, A.** (2008): Leafroll disease is spreading rapidly in a Napa Valley vineyard. *Calif. Agric.* 62 :156-160.
- Goussard, P. G. and Underhay, J. P.** (2004): Leafroll transmission and characterisation of infected vines (Cabernet Sauvignon/Richter 99) at Welgevallen experimental farma case study. *Wynboer Technical Yearbook* 5: 40-43.
- Gouveia, P., Esteves, F., Teixeira Santos, M., Fonseca, F., Eiras-Dias, J. E. and Nolasco, G.** (2009): Assessment of GLRaV-3 variants occurring in Portuguese grapevine varieties according to the coat protein gene. *Extended Abstracts 16th Meeting of ICVG, Dijon, France 2009.* pp. 316–317.
- Gouveia, P., Santos, M. T., Eiras-Dias, J. E. and Nolasco, G.** (2011): Five phylogenetic groups identified in the coat protein gene of *Grapevine leafroll-associated virus 3* obtained from Portuguese grapevine varieties. *Archives of Virology* 156: 413-420.
- Grasswitz, T. R. and James, D. G.** (2008): Movement of grape mealybug, *Pseudococcus maritimus*, on and between host plants. *Entomol. Exp. Appl.* 129: 268-275.
- Groppa, M. D. and Benavides, M. P.** (2008): Polyamines and abiotic stress: Recent advances. *Amino Acids*, 34: 35-45.
- Guidoni, S., Mannini, F., Ferrandion, A., Argamante, N. and Di Stefano, R.** (1997): The effect of grapevine leafroll and rugose wood sanitation on agronomic performance and berry and leaf phenolic content of a nebbiolo clone (*Vitis vinifera* L.). *Am. J. Enol. Vitic.* 48: 438-442.
- Gugerli P., Brugger J.J. and Bovey R.** (1984): L'enroulement de la vigne: mise en évidence de particules virales et développement d'une méthode

- immunoenzymatique pour le diagnostic rapide. *Revue Suisse de Viticulture, Arboriculture et Horticulture* 16: 299-304.
- Gugerli P. and Ramel M.E.** (1993): Grapevine leafroll-associated virus II analysed by monoclonal antibodies. Extended Ab-stracts 11th Meeting of ICVG, Montreux, Switzerland: 23-24.
- Gugerli P., Brugger J.J. and Ramel M.E.** (1997): Identification immuno-chimique du sixième virus associé à la maladie de l'enroulement de la vigne et amélioration des techniques de diagnostic pour la sélection sanitaire en viticulture. *Revue Suisse de Viticulture, Arboriculture et Horticulture* 29:137-141.
- Guo, H. S., Xie, Q., Fei, J. F. and Chua, N. H.** (2005): MicroRNA directs mRNA cleavage of the transcription factor NAC1 to downregulate auxin signal for Arabidopsis lateral root development. *Plant Cell* 17: 1376-1386.
- Gutha, L. R., Alabi, O. and Naidu, R.** (2012): Effects of grapevine leafroll disease on photosynthesis in a red-fruited wine grape cultivar. 17th Congress of ICVG, Davis, USA 2012. pp. 168-169.
- Habili, N., Cameron, I. and Randles, J.** (2009): A mild strain of *Grapevine leafroll-associated virus 3* is present in desirable clones of Crimson seedless table grapes in Western Australia. Extended Abstracts 16th Meeting of ICVG, Dijon, France 2009. pp. 237-238.
- Habili, N. and Nutter Jr., F. W.** (1997): Temporal and spatial analysis of grapevine leafroll-associated virus 3 in Pinot Noir grapevines in Australia. *Plant Disease* 81: 625-628.
- Habili, N. and Randles, J.** (2008): Desirable and undesirable variants of *Grapevine leafroll-associated virus 3* in Crimson Seedless table grapes in Western Australia. 9th International Congress of Plant Pathology. Tulin, Italy 2008. pp. 24-29.
- Hewitt, W. M. B., Goheen, A. C., Raski, D. J. and Gooding, G. V. Jr.** (1962): Studies on Virus diseases of the Grapevine in California. *Vitis* 3: 57-83.
- Hoefort, L. L. and Gifford, E. M.** (1967): Grapevine leafroll virus. History and anatomical effects. *Hilgardia* 38: 403-426.
- Hommay, G., Komar, V., Lemaire, O. and Herrbach, E.** (2008): *Grapevine virus A* transmission by larvae of *Parthenolecanium corni*. *Eur. J. Plant Pathol.* 121: 185-188.

- Horváth J. és Gáborjányi R.** (1999): Növényvírusok és virológiai vizsgálati módszerek. In: Kazinczi Gabriella (1999): Szerológiai vizsgálati módszerek. ELISA-módszerek. Mezőgazda Kiadó, Budapest 1999. 258 pp.
- Hristov, I. and Abracheva, P.** (2001): Effect of *Grapevine leafroll associated virus 3* on vine plants under conditions of in vitro cultivation. *Rastenievudni Nauki (Plant Science) Bulgaria*, 38: 269-274.
- Hu, J. S., Gonsalves, D. and Teliz, D.** (1990): Characterization of closterovirus-like particles associated with grapevine leafroll disease. *J. Phytopathol.* 128: 1-14.
- Ioannou, N., Hadjinicolis, A. and Hadjinicoli, A.** (1999): Mealybug transmission and natural spread of grapevine closterovirus in Cyprus. *Options Mediterraneennes, Serie B/n 29-Proceedings of the Mediterranean Network on Grapevine Closteroviruses.* pp. 93-101.
- Jaragula, S., Gowda, S., Dawson, W. O. and Naidu, R. A.** (2010): 3'-Coterminal subgenomic RNAs and putative cis-acting elements of *Grapevine leafroll-associated virus 3* reveals 'unique' features of gene expression strategy in the genus *Ampelovirus*. *Viol. J.* 7: 180.
- Jooste, A. E. C., Bester, R., Maree, H. J., de Koker, W. and Burger, J. T.** (2012). A survey of red and white cultivars to test an improved detection technique for *Grapevine leafroll-associated virus 3* (GLRaV-3) variants identified in South African vineyards. 17th Congress of ICVG, Davis, USA 2012. pp. 122-123.
- Jooste, A. E. C. and Goszczynski, D. E.** (2005). Single-strand conformation polymorphism (SSCP), cloning and sequencing reveal two major groups of divergent molecular variants of *Grapevine leafroll-associated virus 3* (GLRaV-3). *Vitis* 44: 39-43.
- Jooste, A. E. C., Maree, H. J., Bellstedt, D. U., Goszczynski, D. E., Pietersen, G. and Burger, J. T.** (2010): Three *Grapevine leafroll-associated virus 3* (GLRaV-3) variants identified from South African vineyards show high variability in their 5'UTR. *Arch. Virol.* 155: 1997-2006.
- Jooste, A. E. C., Pietersen, G. and Burger, J. T.** (2011). Distribution of *Grapevine leafroll associated virus-3* variants in South African vineyards. *Eur. J. Plant Pathol.* 131: 371-381.
- Jordan, D.** (1993): Leafroll spread in New Zealand vineyards. *Australian and New Zealand Wine Industry Journal* 8: 322-324.
- Klaassen, V. A, Sim, S. T, Dangl, G. S, Osman, F., Al Rwahnih, M., Rowhani, A. and Golino, D. A.** (2011): *Vitis californica* and *Vitis californica* × *Vitis vinifera*

- hybrids are hosts for *Grapevine leafroll-associated virus-2* and *-3* and *Grapevine virus A* and *B*. *Plant Disease* 95: 657-665.
- Kliewer, W. M. and Lider, L. A.** (1976): Influence of leafroll virus on composition of Burger fruits. *Amer. J. Enology and Viticulture*, 27: 118-124.
- Kobza S.** (1992): A szőlő levélsodródás vírus. *Kertészet és Szőlészet*. 37: 17.
- Komar, V., Vigne, E. B., Demangeat, G. and Fuchs, M.** (2007): Beneficial effect of selective virus elimination on the performance of *Vitis vinifera* cv. Chardonnay. *Amer. J. Enology and Viticulture* 58: 202-210.
- Komínek, P. and Holleínová, V.** (2003): Evaluation of sanitary status of grapevines in the Czech Republic. *Plant Soil Environ* 49: 63-66.
- Komínek, P., Bryxiová, M. and Glasa, M.** (2004): Partial molecular characterization of a Czech isolate of *Grapevine leafroll-associated virus 3*. *J. Phytopathol.* 152: 427-431.
- Koósne, Szathmáry, E.** (2009): Különböző természetes és mesterséges rekombináns szilva himlő vírus (*Plum pox virus*, PPV) izolátumok jellemzése. Doktori értekezés. Budapesti Corvinus Egyetem Kertészettudományi Kar. Budapest.
- Kovacs, L. G., Hanami, H., Fortenberry, M. and Kaps, M. L.** (2001): Latent infection by leafroll agent GLRaV-3 is linked to lower fruit quality in French-American hybrid grapevines Vidal blanc and St. Vincent." *Amer. J. Enology and Viticulture* 52: 254-259.
- Kozár F.** (2005): Pajzstetű fajok lelőhelyei Magyarországon. MTA Növényvédelmi Kutatóintézete Kiadó, Budapest 2005. 136 pp.
- Kölber M., Lázár J., Farkas G. and Lehoczky J.** (1994): Szőlő levélsodródást okozó closterovírusok kimutathatósága. 40. Növ. Tud. Napok. Budapest 1994. p. 86.
- Krake, L. R.** (1993): Characterization of grapevine leafroll disease by symptomatology. *Australia and New Zealand Wine Industry Journal* 8: 40-44.
- Krake, L. R., Steel-Scott, N., Rezaian, M. A. and Taylor, R. H.** (1999): Graft Transmitted Diseases of Grapevines. CSIRO Publishing, Collingwood, Victoria, Australia. 6.
- Krüger, K. and Douglas, N.** (2009): Transmission of *Grapevine leafroll-associated virus 3* (GLRaV-3) by three soft scale insect species (Hemiptera: *Coccidae*) and notes on their developmental biology on grapevine. 16th Meeting of ICVG, Dijon, France 2009. p. 281.

- Kumar, S., Baranwal, V. K., Singh, P., Jain, R. K., Sawant, S. and Singh, S. K.** (2012): Characterization of a Grapevine leafroll-associated virus 3 from India showing incongruence in its phylogeny. *Virus Genes* 45 (1): 195–200.
- Kumar, S., Singh, L., Ferretti, L., Barba, M., Zaidi, A. A. and Hallan, V.** (2013): Evidence of *Grapevine leafroll associated virus-1–3*, *Grapevine fleck virus* and *Grapevine virus B* Occurring in Himachal Pradesh, India. *Indian J. Virol.* 24: 66-69.
- Kuzmanović, S., Jošić, D., Ivanović, Ž, Popović, T, Stojanović, S., Aleksić, G. and Starović, M.** (2011): A study of suitability of grapevine cultivar Plovdina as a possible indicator plant for flavescence dorée disease. *African Journal of Agricultural Research* 6: 3036-3042.
- Kuznetsov, V. V., Radyukina, N. L. and Shevyakova, N. I.** (2006): Polyamines and stress: Biological role, metabolism, and regulation. *Rus. J. Plant Physiol.* 53: 583-604.
- La Notte, P., Buzkan, N., Choueiri, E., Minafra, A. and Martelli, G.P.** (1997): Acquisition and transmission of *Grapevine virus A* by the mealybug *Pseudococcus longispinus*. *J. Plant Pathol.* 78: 79-85
- Lázár, J., Kölber, M. and Lehoczky, J.** (1995): Occurrence of grapevine leafroll associated closteroviruses (GLRaV-s) in Hungary. Abstracts of 47th International Symposium on Crop protection, Gent, Belgium 1995. pp. 307-308.
- Lázár, J., Hajdu, E. and Mikulás, J.** (1997): Identification of grapevine rugose wood complex in Hungary: occurrence of Rupestris stem pitting, Kober stem grooving and LN 33 stem grooving. 12.th ICVG meeting Lisbon 28. Sept/ 2. Oct. 1997. 41.p.
- Lázár, J. and Terjék, M.** (2009): Frequency of occurrence of grapevine virus disease complexes based on over 30 - year indexing results in Hungary. 16.th ICVG meeting in Dijon, France Aug. 31 - Sept. 4. 2009. 124-125.p.
- Lee, J. and Martin, R. R.** (2009): Influence of grapevine leafroll associated viruses (GLRaV-2 and -3) on the fruit composition of Oregon *Vitis vinifera* L. cv. pinot noir: Phenolics. *Food Chemistry* 112: 889-896.
- Lee, J., Keller, K. E., Rennaker, C. and Martin, R. R.** (2009): Influence of grapevine leafroll associated viruses (GLRaV-2 and -3) on the fruit composition of Oregon *Vitis vinifera* L. cv. Pinot noir: Free amino acids, sugars, and organic acids. *Food Chemistry* 117: 99-105.

- Legorburu, F. J., Recio, E., Lopez, E., Baigorri, J., Larreina, M., Remesal, A., Cibriain, J. F., Caminero, L., Suberviola, J. and Aguirrezábal, F. (2009):** Effect of Grapevine leafroll-associated virus 3 (GLRaV-3) on red wine quality. 16th Meeting of ICVG, Dijon, France 2009. 251. p.
- Lehoczky J. (1965):** Research on virus diseases of grapevines in Hungary. Proc. Int. Conf. on Virus and Vector on Perennial Hosts, with special Reference to Vitis. Publ. Univ. Calif. Dept. Plant Path. 311-318. (Abstr.)
- Lehoczky J. és Reichart G. (1968):** A szőlő növényvédelme. In: Lehoczky, J. (1968): Vírusos megbetegedések. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest 1968. 51-52. pp.
- Lehoczky J, Farkas G. és Lázár J. (1984):** Új szőlőfajták és klónok vírustesztelése és mentesítési módszerek kidolgozása. Az érmenti mozaik hazai előfordulásának igazolása. KÉE SZBKI, Kecskemét, Évi kutatási jelentés.
- Leonhardt, W., Wawrosch, Ch., Auer, A. and Kopp, B. (1998):** Monitoring of virus diseases in Austrian grapevine varieties and virus elimination using *in vitro* thermotherapy. Plant Cell Tissue Organ Cult. 52: 71-74.
- Ling, K. S., Zhu, H. Y., Drong, R. F., Slightom, J. L., McFerson, J. R. and Gonsalves, D. (1998):** Nucleotide sequence of the 3'-terminal two-thirds of the *Grapevine leafroll-associated virus 3* genome reveals a typical monopartite closterovirus. J. Gen. Virol. 79: 1299-1307.
- Ling, K. S., Zhu, H. Y. and Gonsalves, G. (2004):** Complete nucleotide sequence and genome organization of *Grapevine leafroll-associated virus 3*, type member of the genus *Ampelovirus*. Journal of General Virology 85: 2099-2102.
- Ling, K. S., Zhu, H. Y., Petrovic, N. and Gonsalves, D. (2001):** Comparative effectiveness of Elisa and RT-PCR for detecting *Grapevine leafroll-associated closterovirus-3* in field samples. Amer. J. Enol. Vitic. 52: 21-27.
- Little, A. and Rezaian, M. A. (2006):** Improved detection of *Grapevine leafroll-associated virus 1* by magnetic capture hybridisation RT-PCR on a conserved region of viral RNA, Arch. Virol. 151: 753-761.
- Lo, P. L., Bell, V. A., Walker, J. T. S., Cole, L. C., Rogers, D. J. and Charles, J. G. (2006):** Ecology and management of mealybugs in vineyards, 2005-2006. HortResearch client report No. 19636. 45 p.
- Love, A. J., Yun, B.W., Laval, V., Loake, G. J. and Milner, J. J. (2005):** *Cauliflower mosaic virus*, a compatible pathogen of Arabidopsis, engages three distinct

- defense-signaling pathways and activates rapid systemic generation of reactive oxygen species. *Plant Physiol.* 139: 935-948.
- Mafoudhi, N., Digiario, M. and Dhouibi, M. H.** (2008): Incidence and distribution of grapevine leafroll-associated viruses in Tunisian vineyards. *J Phytopathol.* 156: 556-558.
- Mahfoudi, N., Digiario, M. and Dhouibi, M. H.** (2009): Transmission of grapevine leafroll viruses by *Planococcus ficus* (Hemiptera: *Pseudococcidae*) and *Ceroplastes rusci* (Hemiptera: *Coccidae*). *Plant Dis.* 93: 999-1002.
- Maliogka, V., Dovas, C. and Katis, N.** (2008): Evolutionary relationships of virus species belonging to a distinct lineage within the *Ampelovirus* genus. *Virus Res.* 135: 125-135.
- Maliogka V.I., Dovas C.I., Lotos L., Efthimiou K. and Katis N.I.** (2009): Complete genome analysis and immunodetection of a member of a novel virus species belonging to the genus *Ampelovirus*. *Archives of Virology* 154: 209-218.
- Mannini, F., Argamante, N. and Credi, R.** (1996): Improvements in the quality of grapevine Nebbiolo clones obtained by sanitation. *Acta Horticulturae* 427: 319-324.
- Mannini, F., Argamante, N. and Credi, R.** (1999): Contribution of virus infections to clonal variability of some *Vitis vinifera* L. cultivars. *Bulletin de l'O.I.V.* 72: 144-160.
- Mannini, F., Argamante, N. and Credi, R.** (2000): Leaf morphological modifications induced by different viruses in clones of *Vitis vinifera* cultivars. *Acta Horticulturae* 528: 765-768.
- Mannini, F., Mollo, A. and Credi, R.** (2012): Field performance and wine quality modification in a clone of *Vitis vinifera* cv. Dolcetto after GLRaV-3 elimination. *Amer. J. Enol. Vitic.* 63: 144-147.
- Maree, H. J., Freeborough, M. J. and Burger, J. T.** (2008): Complete nucleotide sequence of a South African isolate of *Grapevine leafroll-associated virus 3* reveals a 5'UTR of 737 nucleotides. *Arch. Virol.* 153: 755-757.
- Maree, H. J. Almeida, R. P., Bester, R., Chooi, K. M., Cohen, D., Dolja, W., Fuchs, M. F., Golino, D. A., Jooste, A. E., Martelli, G. P., Naidu, R. A., Rowhani, A., Saldarelli P. and Burger, J. T.** (2013). *Grapevine leafroll associated virus 3*. *Frontiers in Microbiology*, 4. Article 82.

- Maree, H. J., Freeborough, M. J. and Burger, J. T.** (2008): Complete nucleotide sequence of a South African isolate of *Grapevine leafroll-associated virus 3* reveals a 5' UTR of 737 nucleotides. *Archives of Virology* 153: 755-757.
- Marotta, S. and Tranfaglia, A.** (1990): New and little known species of Italian scale insects (Homoptera: *Coccoidea*). Proceedings 6th International Symposium of Scale Insects Studies (Part II), Cracow, Poland 1990. pp. 107-112.
- Martelli, G. P.** (ed.) (1993): Graft-transmissible Diseases of Grapevines. Handbook for Detection and Diagnosis. FAO Publication Division, Rome 1993. 263 p.
- Martelli, G. P., Saldarelli, P. and Boscia, D.** (1997): Filamentous viruses of grapevine: Closteroviruses. Pages 1-9 in: Recent Research Development in Plant Pathology—Filamentous Viruses of Woody Plants. P. L. Monette, ed. Research Signpost, Trivandrum, India.
- Martelli, G. P.** (2000): Grapevine virology highlights 1997-99. Extended Abstracts 13th Meeting of ICVG, Adelaide, Australia 2000. pp. 1-5.
- Martelli, G. P., Agranovsky, A. A., Bar-Joseph M., Boscia, D., Candresse, T., Coutts R. H. A., Dolja, V. V., Falk, B. W., Gonsalves, D., Jelkmann, W., Karasev, A. V., Minafra, A., Namba, S., Vetten, H. J., Wisler, G. C. and Yoshikawa, N.** (2002): Virology division news: the family *Closteroviridae* revised. *Arch. Virol.* 147: 2039-2044.
- Martelli, G. P. and Boudon-Padieu, E.** (2006): Directory of infectious diseases of grapevines. International Centre for Advanced Mediterranean Agronomic Studies. Options Méditerranéennes Ser. B, Studies and Research 55: 59-75.
- Martelli, G. P.** (2009): Grapevine virology highlights. Extended abstracts 16th meeting of the ICVG, Dijon, France 2009. pp. 15-23.
- Martelli, G. P., Agranovsky, A. A., Bar-Joseph, M., Boscia, D., Candresse, T., Coutts, R. H. A., Dolja, V. V., Hu, J. S., Jelkmann, W., Karasev, A. V., Martin, R. R., Minafra, A., Namba, S. and Vetten, H. J.** (2011). Family *Closteroviridae*. In: King A., Adams M.J., Carstens E.B., Lefkowitz E. (eds). *Virus Taxonomy*. Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses, pp. 987-1001.
- Martelli, G. P., Abou Ghanem-Sabanadzovic, N., Agranovsky, A. A., Al Rwahnih, M., Dolja, V. V., Dovas, C. I., Fuchs, M., Gugerli, P., Hu, J. S., Jelkmann, W., Katis, N. I., Maliogka, V. I., Melzer, M. J., Menzel, W., Minafra, A., Rott, M. E., Rowhani, A., Sabanadzovic, S. and Saldarelli, P.** (2012): Taxonomic revision of the family *Closteroviridae* with special reference to the grapevine

- leafroll-associated members of the genus *Ampelovirus* and the putative species unassigned to the family. *J. Plant Pathology* 94, 7-19.
- Martin, R. R., Eastwell, K. C., Wagner, A., Lamprecht, S. and Tzane-takis, I. E.** (2005): Survey for viruses of grapevine in Oregon and Washington. *Plant Dis.* 89: 763-766.
- Martins, A., Carneiro, L. C., Pereira, A-M., Eiras-Dias, J., Magalhaes, N., Ramadas, L., Antunes, A., Madeira, D., Teixeira, K. and Banza, J.** (1997): Effect of leafroll associated virus GLRaV-3 on yield of grapevines: new results, new perspectives. 12 th Meeting of the International Council for the Study of Viruses and Virus-like Diseases of the Grapevine Lisbon, Portugal 1997. pp. 177-178.
- Martinson, T. E., Fuchs, M., Loeb, G. and Hoch, H. C.** (2008): Grapevine leafroll: An increasing problem in the Finger Lakes, the US and the world. *Finger Lakes Vineyard Notes* 6: 6-11.
- Melzer, M. J., Sugano, J. S., Uchida, J. Y., Borth, W. B., Kawate, M. K. and Hu, J. S.** (2013): Molecular characterization of closteroviruses infecting *Cordyline fruticosa* L. in Hawaii. *Front Microbiol.* 5: 39.
- Meng, B., Li, C., Goszczynski, D. E. and Gonsalves, D.** (2005): Genome sequences and structures of two biologically distinct strains of *Grapevine leafroll-associated virus 2* and sequence analysis. *Virus Genes*, 31: 31-41.
- Mikona, C. and Jelkmann, W.** (2010): Replication of *Grapevine leafroll-associated virus-7* (GLRaV-7) by *Cuscuta* species and its transmission to herbaceous plants. *Plant Dis.* 94: 471-476.
- Milkus, B. N., Goodman, R. N. and Avery, J. D.** (2000): Detection of viruses in grapevines imported in Missouri from Eastern European countries. *Phytopathologia Mediterranea* 39: 310-312.
- Monis, J. and Bestwick R. K.** (1996): Detection and localization of grapevine leafroll associated *closteroviruses* in greenhouse and tissue culture grown plants. *Am. J. Enol. Vitic.* 47: 199-205.
- Monis, J. and Bestwick, R. K.** (1997): Serological detection of grapevine-associated closteroviruses in infected grapevine cultivars. *Plant Disease* 81: 808.
- Moutinho-Pereira, J., Correia, C. M., Gonçalves, B., Bacelar, E. A. Coutinho, J. F., H. F. Ferreira, Lousada, J. L., and Cortez, M. I.** (2012): Impacts of leafroll-associated viruses (GLRaV-1 and -3) on the physiology of the Portuguese

- grapevine cultivar ‘Touriga Nacional’ growing under field conditions. *Ann. Appl. Biol.* 160: 237-249.
- Naidu, R. A., Alabi, O. J., Jarugula, S., Bahder, B. W., Poojari, S. and Walsh, D.** (2011): An Update on Grapevine Leafroll Disease in Washington Vineyards. 62nd American Society of Enology and Viticulture National Conference, Monterey, USA 2011. 74. p.
- Naidu, R. A., O’Neil, S. and Walsh, D.** (2008): Grapevine Leafroll Disease. WSU Extension Bulletin EB2027E. 20 p.
- Naidu, R. A., Perry, E. M., Pierce, F. J. and Mekuria, T.** (2009): The potential of spectral reflectance technique for detecting Grapevine leafroll-associated virus-3 in two red-berried wine grape cultivars. *Computers and Electronics in Agriculture* 66: 38-45.
- Ng, J. C. K. and Falk, B. W.** (2006): Virus-vector interactions mediating nonpersistent and semipersistent transmission of plant viruses. *Annu. Rev. Phytopathol.* 44: 183-212.
- O’Donnell, K.** (1999): Plant pathogen diagnostics: present status and future developments. *Potato Res.* 42: 437-447.
- Over de Linden, A. J. and Chamberlain, E. E.** (1970): Effect of grapevine leafroll virus on vine growth and fruit yield and quality. *N. Z. J. Agric. Res.* 13: 689-698.
- Pageau, K., Reisdorf-Cren, M., Morot-Gaudry, J. F. and Masclaux-Daubresse, C.** (2006): The two senescence-related markers, GS1 (cytosolic glutamine synthetase) and GDH (glutamate dehydrogenase), involved in nitrogen mobilization, are differentially regulated during pathogen attack and by stress hormones and reactive oxygen species in *Nicotiana tabacum* L. leaves. *J. Experim. Bot.* 57: 547-557.
- Pathirana, R. and McKenzie, M. J.** (2005): A modified green-grafting technique for large-scale virus indexing of grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Sci. Hort.* 107: 97-102.
- Petersen, C. L. and Charles, J. G.** (1997): Transmission of grapevine leafroll-associated closteroviruses by *Pseudococcus longispinus* and *P. calceolariae*. *Plant Pathol.* 46: 509-515.
- Pietersen, G.** (2006): Spatio-temporal distribution dynamics of grapevine leafroll disease in Western Cape vineyards. 15th Congress of ICVG Stel-lenbosch, South Africa 2006. pp. 126-127.
- Pietersen, G. and Walsh, H. A.** (2012): Development of a LAMP technique for control of *Grapevine leafroll-associated virus* type 3 (GLRaV-3) in infected white cultivar

- vines by roguing. 17th Congress of the International Council for the Study of Virus and Virus-like Diseases of the Grapevine, Davis, USA 2012. pp. 50-51.
- Prosser, S. W., Goszczynski, D. E. and Meng, B.** (2007): Molecular analysis of double-stranded RNAs reveals complex infection of grapevines with multiple viruses. *Virus Res.* 124: 151-159.
- Rast, H. E., James, D., Habili, N. and Masri, S. A.** (2012): Genome Organisation And Characterization of a novel Variant of Grapevine Leafroll- Associated Virus 3. Proceedings of the 17 th Congress of ICVG, Davis, California, USA. 61-63.
- Rayapati, N., Tefera, M. A., Olufemi, A. J., Sridhar, J., Gandhi, K., Gutha, L. R. and Martin, R. R.** (2009): Current status of grapevine viruses in the Pacific Northwest vineyards of the United States. Extended abstracts 16th meeting of the ICVG, Dijon, France 2009. pp. 108-109.
- Reggiani, A., Cornale, R., Maini, S. and Pellizzari, G.** (2003): Note biologiche e distribuzione di *Heliococcus bohemicus* Sulc (Rhynchota *Pseudococcidae*) nei vigneti dell'Emilia-Romagna. *Informatore Fitopatologico*, 53: 42-45.
- Repetto, O., Bertazzon, N., De Rossi, M., Miotti, L., Flamini, R., Angelini, E. and Borgo, M.** (2012): Low susceptibility of grapevine infected by GLRaV-3 to late *Plasmopara viticola* infections: towards the understanding the phenomenon. *Physiological and Molecular Plant Pathol.* 79: 55-63.
- Ribeiro, G. P., Saldarelli, P., Hong, N., Xiang, B. C, Zhang, X. L., Wang, G. P. and Martelli, G. P.** (2004): First record of three grapevine viruses in the Chinese Province of Sinkiang. *Jour. Plant Pathol.* 86: 264.
- Routh, G., Zhang, Y.-P., Saldarelli, P. and Rowhani, A.** (1998): Use of degenerate primers for partial sequencing and RT-PCR- Based Assays of *Grapevine leafroll-associated viruses 4 and 5*. *Phytopathol.* 88: 1238-1243.
- Rowhani, A and Golino, D.** (1995): ELISA test reveals new information about leafroll disease. *Cal. Ag.* 49: 26-9.
- Rowhani, A., Uyemoto, J. K. and Golino, D. A.** (1997): A comparison between serological and biological assays in detecting grapevine leafroll-associated viruses. *Plant Dis.* 81: 799-801.
- Rowhani, A., Uyemoto, J. K., Golino, D. and Martelli, G. P.** (2005). Pathogen testing and certification of *Vitis* and *Prunus* species. *Annu. Rev. Phytopathol.* 43: 261-278.
- Sambrook, J., Fritsch, E. F. and Maniatis, T.** (1989): *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*, 2nd ed. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory.

- Sampol, B., Bota, J., Riera, D., Medrano, H. and Flexas, J.** (2003): Analysis of the virus-induced inhibition of photosynthesis in Malmsey grapevines. *New Phytologist* 160: 403-412.
- Sandanayaka, W. R. M., Blouin, A. G., Prado, E. and Cohen, D.** (2012): Stylet penetration behaviour of *Pseudococcus longispinus* in relation to acquisition of *Grapevine leafroll virus 3*. *Arthropod-Plant Interactions* 7: 137-146.
- Scagliusi, S. M. M., Vega, J. and Kuniyuki, H.** (2002): Cytopathology of callus cells infected with *Grapevine leafroll-associated virus 3*. *Fitopatol. Bras.* 27: 384-388.
- Scheu, G.** (1935): Die Rollkrankheit des Rebstockes. (Leafroll of grapevine). *D. D. Weinbau* 14: 222-358.
- Seah, Y. M., Sharma, A. M., Zhang, S., Almeida, R. P. P. and Duffy, S.** (2012): A divergent variant of *Grapevine leafroll-associated virus 3* is present in California. *Virology* 439: 235.
- Sforza, R., Boudon-Padiou, E. and Greif, C.** (2003): New mealybug species vectoring *Grapevine leafroll-associated viruses-1* and *-3* (GLRaV-1 and -3). *Eur. J. Plant Pathol.* 109: 975-981.
- Sharma, A. M., Wang, J., Duffy, S., Zhang, S., Won, M. K., Rashed, A., Cooper, M. L., Daane, K. M. and Almeida, R. P. P.** (2011): Occurrence of grapevine leafroll-associated virus complex in Napa Valley. *PLoS One* 6: 26227.
- Sivčev, B., Rankovic-Vasić, Z. and Radovanović, D.** (2011): Clone selection of autochtones and introduced varieties in the old grapevine planted areas of Eastern and South Eastern Serbia and preliminary check of their health status. *Genetika*, 43: 465-475.
- Soule, M. J., Eastwell, K. C. and Naidu, R. A.** (2006). First report of *Grapevine leafroll-associated virus-3* in American *Vitis* spp. Grapevines in Washington State. *Plant Dis.* 90: 1461.
- Starović, M., Kuzmanovic, S., Ivanovic, Z., Trkulja, N., Aleksic, G., Dolovac, N. and Stojanovic, S.** (2008): Grapevine leaf roll disease in Central Serbia. *Plant Protection* vol. 59: 81-92.
- Štrukelj, M., Mavrič Pleško, I., Marn Viršček, M., Razinger, J. and Urek, G.** (2013): Kaparji-prenašalci virusov vinske trte na primorskem. 11th Slovenian Conference on Plant Protection. Ljubljana, Slovenia 2013. pp. 344-347.

- Tanne, E., Ben-Dov, Y. and Raccah, B.** (1989): Transmission of closterolike particles associated with grape- vine leafroll by mealybugs (*Pseudococcidae*) in Israel. pp. 71-73 in: Proc. ICVG, 9th.
- Taylor, R. H., Woodham, C. and Allan, A. W.** (1966): Green grafting: a useful technique for detecting grapevine viruses. Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb. 7: 91-95.
- Teliz, D., Tanne, E., Gonsalves, D. and Zee, F.** (1987): Field serology of viral antigens associated with grapevine leafroll disease. Plant Dis. 71: 704-709.
- Thompson, J. R., Fuchs, M. and Perry, K. L.** (2012): Genomic analysis of *Grapevine leafroll associated virus-5* and related viruses. Virus Res. 163: 19-27.
- Tsai, C. W., Chau, J., Fernandez, L., Bosco, D., Daane, K. M. and Almeida, R. P. P.** (2008): Transmission of *Grapevine leafroll-associated virus 3* by the vine mealybug (*Planococcus ficus*). Phytopathology 98: 1093-1098.
- Tsai, C. W., Daugherty, M. P. and Almada, R. P. P.** (2012): Seasonal dynamics and virus translation of *Grapevine leafroll-associated virus 3* in grapevine cultivars. Plant Pathol. 61: 977-985.
- Tsai, C. W., Rowhani, A., Golino, D. A., Daane, K. M. and Almeida, R. P. P.** (2010): Mealybug transmission of grapevine leafroll viruses: An analysis of virus-vector specificity. Phytopathology 100: 830-834.
- Tsai, C.-W., Chau, J., Fernandez, L., Bosco, D., Daane, K. M. and Almeida, R. P. P.** (2008): Transmission of *Grapevine leafroll-associated virus 3* by the vine mealybug (*Planococcus ficus*). Phytopathology 98: 1093-1098.
- Turturo, C., Salderelli, P., Yafeng, D., Digiario, M., Minafra, A., Savino, V. and Martelli, G. P.** (2005): Genetic variability and population structure of *Grapevine leafroll-associated virus 3* isolates. J. Gen. Virol. 86: 217-224.
- Vanek, G.** (1996): A szőlő növényvédelme. Mezőgazda Kiadó, Budapest 1996. 224 pp.
- Vega, A., Gutiérrez, R. A., Peña-Neira, A., Cramer, G. R. and Arce-Johnson, P.** (2011): Compatible GLRaV-3 viral infections affect berry ripening decreasing sugar accumulation and anthocyanin biosynthesis in *Vitis vinifera*. Plant Mol Biol. 77: 261-74.
- Voncina, D., Badurina, D., Preiner, D., Cvjetkovic, B., Maletic, E. and Karoglan Kotic, J.** (2011): Incidence of virus infections in grapevines from Croatian collection plantations. Phytopathol. Mediterr. 50: 316-326.

- Walter B. and Zimmermann D.** (1991): Further characterization of closterovirus-like particles associated with the grapevine leafroll disease Proceedings 10th Meeting of ICVG, Volos, Greece: 62-66.
- Walker, M. A. and Golino, D. A.** (1999): Rapid propagation of grape planting stock. Practical Winery and Vineyard J. 20: 29-38.
- Walter, B.** (1997): Sanitary Selection of the Grapevine. Protocols for Detection of Virus and Virus-like Diseases. INRA Editions, France 225 pp.
- Walter, B., Bass, P. Legin, R. Martin, C., Vernoy, R. Collas, A and Vesselle, G.** (1990): The use of a green-grafting technique for the detection of virus-like diseases of the grapevine. J. Phytopathol 128: 137.
- Walter, B., Boudon-Padiou, E. and Ridé, M.** (2000): Maladies à Virus, Bactéries et Phytoplasmes de la Vigne, Editions Fèriet, Bordeaux, France 2000. 191 pp.
- Wang, J., Sharma, A. M., Duffy, S. and Almeida, R. P. P.** (2011): Genetic diversity in the 3' terminal 4.6-kb region of *Grapevine leafroll associated virus 3*. Phytopathology 101: 445-450.
- Weber, E., Golino, D. A. and Rowhani, A.** (2002): Laboratory testing for grapevine virus diseases. Pract. Wine. Vineyard 22: 13-26.
- Weber, E., Golino, D. and Rowhani, A.** (1993): Leafroll disease of grapevines. Pract. Winery Vineyard 13: 21-25.
- Wolpert, J. A. and Vilas, E. P.** (1992): Effect of mild leafroll disease on growth, yield, fruit maturity indices of Riesling and Zinfandel. Amer. J. Enology and Viticulture, 43: 367-369.
- Woodham, R. C. and Krake, L. R.** (1983): Investigations on transmission of grapevine leafroll, yellow speckle and fleck diseases by dodder. J. Phytopathol. 106: 193-198.
- Woodham, R. C., Krake, L. R. and Cellier, K. M.** (1983): The effect of grapevine leafroll plus yellow speckle disease on annual growth, yield and quality of grapes from Cabernet Franc under two pruning systems. Vitis 22: 324-330.
- Zhun'ko, I. D., Limanska, N. V. and Milkus, B. N.** (2008): The spread of grapevine viruses on the South Ukraine. Biologir 57: 56-57.
- Zee, F., Gonsalves, D., Kim, K.S., Pool, R. and Lee, R.F.** (1987): Cytopathology of leafroll diseases grapevine and the purification and serology of associated closteroviruslike particles. Phytopathology 77: 1427-1434.

- Zimmermann, D., Bass, P., Legin, R. and Walter B.** (1990): Characterization and serological detection of four closterovirus-like particles associated with leafroll disease of grapevines. *Journal of Phytopathology* 130: 205-218.
- Zindović, J., Viršček Marn M. and Mavrič Pleško, I.** (2014): Phytosanitary status of grapevine in Montenegro.2014. *EPPO Bulletin*. 44: 60-64.
- Zorloni, A., Prati, S., Bianco, P. A. and Belli, G.** (2006): Transmission of *Grapevine virus A* and *Grapevine leafroll-associated virus 3* by *Heliococcus bohemicus*. *J. Plant Pathol.* 88: 325-328.
- 87/2006 (XII.28.) FVM rendelet** a szőlő szaporítóanyagok előállításáról, minőségéről és forgalomba hozataláról.

10. Köszönetnyilvánítás

Ezúton is szeretnék köszönetet mondani mindazoknak, akik a munkám során segítséget nyújtottak.

Külön is köszönettel tartozom témavezetőmnek, Dr. Takács András Péter egyetemi docensnek, intézetigazgatónak továbbá Dr. Gáborjányi Richárd professor emeritusnak és Dr. Cseh Eszter egyetemi adjunktusnak a munkám során nyújtott szakmai segítségükért.

Külön köszönettel tartozom Dr. Palkovics László egyetemi tanárnak és Dr. Pájtli Éva tudományos segédmunkatársnak a munkám molekuláris módszertani részében nyújtott segítségért.

Külön köszönettel tartozom Csáky Júliának a mintagyűjtések során nyújtott segítségéért továbbá a fotók rendelkezésemre bocsájtásáért Dr. Gáborjányi Rihárdnak, Dr. Cseh Eszternek és Dr. Pájtli Évának.

Továbbá hálával tartozom a családomnak és páromnak, Mikó- Baráth Máténak a támogatásukért.

11. Publikációk, előadások

Magyar nyelvű szakcikk:

Cseh E., Palkovics L., **Apró M.**, Gáborjányi R. és Takács A. P. (2012): Hazai szőlő levélsodródás vírus 3 izolátumok (Grapevine leafroll-associated virus 3, GLRaV-3) molekuláris jellemzése. *Növényvédelem* 48 (7): 297-302.

Apró M., Cseh E., Gáborjányi R., Csáky J. és Takács A. P. (2014): Magyarországon előforduló szőlővírusok 2013. évi vizsgálata. *Georgikon for Agriculture* 19 (1): 78-83.

Apró M. és Takács A. P. (2014): A szőlővírusok által okozott élettani változások. *Növényvédelem* 50 (1): 27-34.

Apró M., Cseh E., Gáborjányi R. és Takács A. P. (2014): Magyarországi szőlőültetvények vírusfertőzöttsége. *Borászati füzetek* 21 (2): 8-11.

Apró M., Cseh, E. Gáborjányi R. és Takács A. P. (2014): Leggyakoribb vírusbetegségek a hazai szőlőültetvényekben. *Kertészet és Szőlészet* 63 (29): 16-19.

Apró M., Cseh, E. Gáborjányi R. és Takács A. P. (2015): Szőlő levélsodródás vírus-3 (Grapevine leafroll-associated virus 3, GLRaV-3). *Agrofórum Extra* 61: 84-87.

Magyar nyelvű előadások:

Cseh E., Palkovics L., **Apró M.**, Takács A. P és Gáborjányi R. (2012): Magyarországról származó szőlő levélsodródás vírus 3 izolátumok (*Grapevine leafroll-associated virus 3*, GLRaV-3) molekuláris vizsgálata. 58. Növényvédelmi Tudományos Napok, Budapest. 37. (Abstr.)

Apró M., Cseh E., Járvás M., Csáky J. és Takács A. P. (2013): Magyarországon előforduló szőlővírusok 2012. évi vizsgálata. 59. Növényvédelmi Tudományos Napok, Budapest. 53. (Abstr.)

Poszterek:

Apró M, Cseh E, Gáborjányi R és Takács A. P. (2014): Magyarországon előforduló szőlőpatogén Nepo-, Macula-, és Alfamovirusok vizsgálata. 60. Növényvédelmi Tudományos Napok, Budapest. 99. (Abstr.)

Apró M, Pájtli É., Palkovics L., Takács A. P. (2016): Magyar GLRA-3 izolátumok változó köpenyfehérjéjének (dCP) első hazai vizsgálata molekuláris módszerekkel. 62. Növényvédelmi Tudományos Napok, Budapest. 81. (Abstr.)

Idegen nyelvű szócikkek:

Cseh, E., Palkovics, L., **Apró, M.,** Gáborjányi, R., Kocsis, L. and Takács, A. P. (2013): Occurrence and evolutionary relationship of grapevine leafroll- associated virus 3 isolates in Hungary. J. Plant Pathol. 95: (Suppl. 1) 51-54.

Apró, M., Gáborjányi, R, Cseh, E. and Takács, A. P. (2015): Occurrence of grapevine viruses in different Hungarian vineyards in 2014. Georgikon for Agriculture 19 (1): 74-77.

Idegen nyelvű előadás:

Cseh, E., **Apró, M.** and Takács, A. (2013): Importance of virus-free propagative material of grapevine. 2. Transylvanian Horticulture and Landscape Studies Conference. Tirgu Mures, Romania 14. (Abstr.)

Cseh, E., Palkovics, L., **Apró, M.,** Gáborjányi, R. and Takács, A. P. (2012): Occurrence and evolutionary relationship of Grapevine leafroll associated virus 3 isolates in Hungary. Proceedings of Patholux 2012 Conference on Impact of Plant pathogens on the Quality of Crops and Wine. Luxembourg, 72-73.

Apró, M., Cseh, E., Gáborjányi, R., Horváth, J., Takács, A. (2014): Survey of grapevine virus diseases in Hungary. 29th International Horticultural Congress. Brisbane 723.

Más témában megjelent publikációk, előadások:

Apró M., Cseh E., Daragó Á., Papp M., Gáborjányi R., Horváth J. és Takács A. P. (2011): Búzaminták vírusfertőzöttsége Dél-Magyarországon 2010-ben. XXI. Növényvédelmi Fórum, Keszthely 13. (Abstr).

Apró M., Papp M., Cseh E., Gáborjányi R., Horváth J. és Takács A. P. (2011): Dél-Magyarországi gabonatermő területek vírusfertőzöttsége. Acta Agraria Debreciensis, 16. Tiszántúli Növényvédelmi Fórum, Debrecen 43: 52-55.

Murithi, H. M., Cseh, E., **Apró, M.**, Horváth, J., Gáborjányi R., Fári, M. and Takács, A. (2011): Characterization of virus susceptibility of heirloom tomato varieties. 4th. Conference of the IWGLVV, Malaga, Spain. p. 107.

Apró M., Kelemen A., Papp M., Cseh E. és Takács A. (2012): A gabonavírusok károsítása Dél-Magyarországon. XVIII. Ifjúsági Tudományos Fórum, Keszthely 1-6.

Cseh E., **Apró M.**, Bese G., Krizbai L., Bóka K., Gáborjányi R. és Takács A. P. (2012): A paradicsom bronzfoltosság vírus (Tomato spotted wilt virus, TSWV) magyarországi kimutatása farkasalma (*Aristolochia clematitis*) növényben. XXII. Növényvéd. Fórum, Keszthely 48-50. (Abstr.)

Varga, I., Baltazár T., **Apró, M.**, Poczai, P. and Hyvönen, J. (2012): Optimizing conditions for sporulation of European mistletoe hyperparasitic fungus (*Phaeo botryosphaeria visci*): effect of light and different media. 6th International Plant Protection Symposium at Debrecen University (6IPPS). 17-18 Oct.2012. Debrecen, Hungary. Journal of Agricultural Sciences, 50:60-66. ISSN: 1588-8363.

Apró M., Kelemen A., Csáky J., Papp M. és Takács A. P. (2012): Gabonavírusok előfordulása Dél-Magyarországon 2012-ben. Journal of Agricultural Sciences, Acta Agraria Debreceniensis. 6. Tiszántúli Növényvédelmi Fórum, Debrecen 50: 17-19. (Abstr.)

Apró M. és Takács, A. P. (2012): Az elmúlt időszak klimatikus hatása a gabonavírusok előfordulására Dél-Magyarországon. Vajdasági Magyar Tudományos Diákköri Konferencia, 11. VMTDK-rezümékötet. Szabadka 62-63. (Abstr.)

Cseh, E., **Apró, M.**, Bese, G., Krizbai, L., Bóka, K., Gáborjányi, R. and Takács, A. P. (2013): Tomato spotted wilt virus (TSWV) in Birthwort (*Aristolochia clematitis* L.) in Hungary. *Acta Phytopathol. Entomol. Hung.* 48 (1): 33–38.

Cseh, E., **Apró, M.**, Bese, G., Krizbai, L., Bóka, K., Gáborjányi, R., Horváth, J. and Takács, A. P. (2013): Tomato spotted wilt virus (TSWV) first isolated from Birthwort (*Aristolochia clematitis* L.) in Hungary. 16th European Weed Research Society Symposium. Samsun, Turkey 136. (Abstr.)

Apró M., Csáky J., Kelemen A., Papp M. és Takács, A. P. (2013): Gabonavírusok előfordulása Dél-Magyarországon 2013-ban. *Acta Agraria Debreceniensis.* 18. Tiszántúli Növényvédelmi Fórum. Debrecen. 53: 13-15.

Takacs A., Horvath J., Gaborjanyi, R., Papp, M., **Apro, M.** and Kelemen, A. (2015): Brome streak mosaic virus (BrsMV) with an increasing importance in Southern Hungary. 5th Scientific Future Group Conference. Global Summit on Virology. Dubai, UAE. Upcoming Conferences.(Abstr.)

12. Mellékletek

1. melléklet. A szerológiai elemzésre gyűjtött minták adatai

| minta | fajta | gyűjtés helye | ideje | tünet | vírus |
|-------|----------------|---------------|-------------|-----------|-----------------|
| 1 | Merlot | Zalaháshágy | 2012.06.03. | LR, R, RW | GLRaV-1, GVA |
| 2 | Merlot | Zalaháshágy | 2012.06.03. | LR, R, RW | GLRaV-1, GVA |
| 3 | Kadarka | Borota | 2012.09.17. | LR, R, RW | GLRaV-1, GVA |
| 4 | Kadarka | Borota | 2012.09.17. | RW | GVA |
| 5 | Kadarka | Borota | 2012.09.17. | MP | |
| 6 | Kadarka | Borota | 2012.09.17. | MP | |
| 7 | Kadarka | Borota | 2012.09.17. | MP | |
| 8 | Kadarka | Borota | 2012.09.17. | SL | |
| 9 | Góhér fehér | Sümeg | 2012.09.04. | YM | |
| 10 | Góhér fehér | Sümeg | 2012.09.04. | YM | |
| 11 | Arany sárfehér | Sümeg | 2012.09.04. | MP | |
| 12 | Arany sárfehér | Sümeg | 2012.09.04. | MP | |
| 13 | Bakator | Sümeg | 2012.09.04. | MP | |
| 14 | Bakator | Sümeg | 2012.09.04. | MP | |
| 15 | Lisztes fehér | Sümeg | 2012.09.04. | YM | |
| 16 | Lisztes fehér | Sümeg | 2012.09.04. | YM | |
| 17 | Pinot noir | Pannonhalma | 2012.09.20. | LR, R, RW | GLRaV-1, GVA |
| 18 | Pinot noir | Pannonhalma | 2012.09.20. | LR, R, RW | GLRaV-1, GVA |
| 19 | Pinot noir | Pannonhalma | 2012.09.20. | LR, R, RW | GLRaV-1, GVA |
| 20 | Pinot noir | Pannonhalma | 2012.09.20. | LR, R, RW | GLRaV-1, GVA |
| 21 | Cabernet franc | Pannonhalma | 2012.09.20. | LR, R, RW | GLRaV-1, GVA |
| 22 | Cabernet franc | Pannonhalma | 2012.09.20. | LR, R | GLRaV-1 |
| 23 | Cabernet franc | Pannonhalma | 2012.09.20. | LR, R | GLRaV-1 |
| 24 | Cabernet franc | Pannonhalma | 2012.09.20. | LR, R | GLRaV-1 |
| 25 | Cabernet franc | Pannonhalma | 2012.09.20. | LR, R | |
| 26 | Cabernet franc | Pannonhalma | 2012.09.20. | SL | |
| 27 | Cabernet franc | Pannonhalma | 2012.09.20. | SL | |
| 28 | Merlot | Pannonhalma | 2012.09.20. | LR, R, RW | GLRaV-1, GVA |
| 29 | Merlot | Pannonhalma | 2012.09.20. | LR, R, RW | GLRaV-1, GVA |
| 30 | Pinot noir | Pannonhalma | 2012.09.20. | R, LR, RW | GLRaV-1, GVA |
| 31 | Kékfrankos | Kiskunhalas | 2012.09.17. | R | |
| 32 | Kékfrankos | Kiskunhalas | 2012.09.17. | R, LR | GLRaV-1 |

| minta | fajta | gyűjtés helye | ideje | tünet | vírus |
|--------------|--------------|----------------------|--------------|--------------|-----------------|
| 33 | Kékfrankos | Kiskunhalas | 2012.09.17. | R | |
| 34 | Kékfrankos | Kiskunhalas | 2012.09.17. | R | |
| 35 | Kékfrankos | Kiskunhalas | 2012.09.17. | SL | |
| 36 | Kékfrankos | Kiskunhalas | 2012.09.17. | SL | |
| 37 | Kékfrankos | Kiskunhalas | 2012.09.17. | R | |
| 38 | Kékfrankos | Kiskunhalas | 2012.09.17. | R, LR | GLRaV-1, GVA |
| 39 | Kékfrankos | Kiskunhalas | 2012.09.17. | R, LR | GLRaV-1, GVA |
| 40 | Kékfrankos | Mór | 2012.09.20. | R, LR | GLRaV-1 |
| 41 | Kékfrankos | Mór | 2012.09.20. | R | |
| 42 | Kékfrankos | Mór | 2012.09.20. | R | |
| 43 | Kékfrankos | Mór | 2012.09.20. | SL | |
| 44 | Kékfrankos | Mór | 2012.09.20. | LR, R | GLRaV-1 |
| 45 | Kékfrankos | Mór | 2012.09.20. | LR, R | |
| 46 | Kékfrankos | Érsekhalmá | 2012.09.17. | LD | |
| 47 | Kékfrankos | Érsekhalmá | 2012.09.17. | LD | |
| 48 | Kékfrankos | Érsekhalmá | 2012.09.17. | LR, R, RW | GLRaV-1, GVA |
| 49 | Kékfrankos | Érsekhalmá | 2012.09.17. | LR, R, RW | GLRaV-1, GVA |
| 50 | Kékfrankos | Érsekhalmá | 2012.09.17. | LD | |
| 51 | Kékfrankos | Érsekhalmá | 2012.09.17. | LD | |
| 52 | Kékfrankos | Érsekhalmá | 2012.09.17. | SL | |
| 53 | Kékfrankos | Érsekhalmá | 2012.09.17. | SL | |
| 54 | Zweigelt | Sopron | 2012.10.05. | LR, R, RW | GLRaV-1 |
| 55 | Zweigelt | Sopron | 2012.10.05. | LR, R, | |
| 56 | Zweigelt | Sopron | 2012.10.05. | SL | |
| 57 | Zweigelt | Sopron | 2012.10.05. | LR, R | |
| 58 | Zweigelt | Sopron | 2012.10.05. | LR, R, RW | GLRaV-1, GVA |
| 59 | Zweigelt | Sopron | 2012.10.05. | LR, R, RW | GLRaV-1, GVA |
| 60 | Zweigelt | Sopron | 2012.10.05. | LR, R, RW | GLRaV-1, GVA |
| 61 | Zweigelt | Sopron | 2012.10.05. | LR, R, RW | GLRaV-1, GVA |
| 62 | Kékfrankos | Pusztamérge | 2012.09.17. | LR, R | GLRaV-1 |
| 63 | Kékfrankos | Pusztamérge | 2012.09.17. | LR, R | GLRaV-1 |
| 64 | Kékfrankos | Pusztamérge | 2012.09.17. | LR, R | GLRaV-1 |
| 65 | Kékfrankos | Pusztamérge | 2012.09.17. | LR, R, RW | GLRaV-1, GVA |
| 66 | Kékfrankos | Pusztamérge | 2012.09.17. | LR, R, RW | GLRaV-1, GVA |
| 67 | Kékfrankos | Pusztamérge | 2012.09.17. | LR, R | GLRaV-1 |
| 68 | Kékfrankos | Pusztamérge | 2012.09.17. | LR, R, RW | GLRaV-1, GVA |
| 69 | Kékfrankos | Tata | 2012.09.20 | MP | |

| minta | fajta | gyűjtés helye | ideje | tünet | vírus |
|--------------|--------------------|----------------------|--------------|--------------|--------------|
| 70 | Kékfrankos | Tata | 2012.09.20 | MP | |
| 71 | Kékfrankos | Tata | 2012.09.20 | MP | |
| 72 | Kékfrankos | Tata | 2012.09.20 | MP | |
| 73 | Kékfrankos | Tata | 2012.09.20 | MP | |
| 74 | Pinot noir | Tata | 2012.09.20 | SL | |
| 75 | Pinot noir | Tata | 2012.09.20 | SL | |
| 76 | Pinot noir | Tata | 2012.09.20 | MP | |
| 77 | Cserszegi fűszeres | Tata | 2013.06.06. | NS, Y | |
| 78 | Cserszegi fűszeres | Tata | 2013.06.06. | NS, Y | |
| 79 | Cserszegi fűszeres | Tata | 2013.06.06. | NS, Y | |
| 80 | Cserszegi fűszeres | Tata | 2013.06.06. | NS, Y | |
| 81 | Cserszegi fűszeres | Tata | 2013.06.06. | Y | |
| 82 | Cserszegi fűszeres | Tata | 2013.06.06. | NS, Y | |
| 83 | Cserszegi fűszeres | Tata | 2013.06.06. | NS, Y | |
| 84 | Cserszegi fűszeres | Tata | 2013.06.06. | Y | |
| 85 | Pinot noir | Pannonhalma | 2013.06.06. | Ch | |
| 86 | Pinot noir | Pannonhalma | 2013.06.06. | SL | |
| 87 | Pinot noir | Pannonhalma | 2013.06.06. | Ch | |
| 88 | Pinot noir | Pannonhalma | 2013.06.06. | Ch | |
| 89 | Pinot noir | Pannonhalma | 2013.06.06. | SL | |
| 90 | Pinot noir | Pannonhalma | 2013.06.06. | SL | |
| 91 | Pinot noir | Pannonhalma | 2013.06.06. | Ch | |
| 92 | Pinot noir | Pannonhalma | 2013.06.06. | Ch | |
| 93 | Olaszrizling | Pannonhalma | 2013.06.06. | SL | |
| 94 | Chardonnay | Pannonhalma | 2013.06.06. | SL | |
| 95 | Ezerjő | Mór | 2013.06.06. | LD | |
| 96 | Ezerjő | Mór | 2013.06.06. | LD | |
| 97 | Ezerjő | Mór | 2013.06.06. | VN | |
| 98 | Chardonnay | Mór | 2013.06.06. | MP | |
| 99 | Chardonnay | Mór | 2013.06.06. | R | |
| 100 | Chardonnay | Mór | 2013.06.06. | R | |
| 101 | Chardonnay | Mór | 2013.06.06. | Y, LD | GCMV |
| 102 | Chardonnay | Mór | 2013.06.06. | LD | |
| 103 | Chardonnay | Mór | 2013.06.06. | LD | |
| 104 | Chardonnay | Mór | 2013.06.06. | SL | |
| 105 | Chardonnay | Mór | 2013.06.06. | SL | |
| 106 | Kékfrankos | Érsekhalma | 2013.06.06. | SL | |
| 107 | Kékfrankos | Érsekhalma | 2013.06.06. | Ch | |
| 108 | Kékfrankos | Érsekhalma | 2013.06.06. | SL | |
| 109 | Kékfrankos | Érsekhalma | 2013.06.06. | SL | |
| 110 | Kékfrankos | Érsekhalma | 2013.06.06. | R | |

| minta | fajta | gyűjtés helye | ideje | tünet | vírus |
|--------------|----------------|----------------------|--------------|--------------|---------------------|
| 111 | Kékfrankos | Érsekhalma | 2013.06.06. | MP | |
| 112 | Kékfrankos | Érsekhalma | 2013.06.06. | MP | |
| 113 | Kadarka | Borota | 2013.06.06. | R | |
| 114 | Kadarka | Borota | 2013.06.06. | R | |
| 115 | Kadarka | Borota | 2013.06.06. | SL | |
| 116 | Kadarka | Borota | 2013.06.06. | SL | |
| 117 | Kadarka | Borota | 2013.06.06. | LD | |
| 118 | Kadarka | Borota | 2013.06.06. | LD | |
| 119 | Kadarka | Borota | 2013.06.06. | LD | |
| 120 | Kékfrankos | Kiskunhalas | 2013.06.06. | SL | |
| 121 | Kékfrankos | Kiskunhalas | 2013.06.06. | SL | |
| 122 | Kékfrankos | Kiskunhalas | 2013.06.06. | R, LR | GLRaV-1 |
| 123 | Kékfrankos | Kiskunhalas | 2013.06.06. | R, LR | GLRaV-1 |
| 124 | Kékfrankos | Kiskunhalas | 2013.06.06. | R | |
| 125 | Kékfrankos | Kiskunhalas | 2013.06.06. | LD | |
| 126 | Kékfrankos | Kiskunhalas | 2013.06.06. | LD | ArMV |
| 127 | Kékfrankos | Kiskunhalas | 2013.06.06. | LD, R | GLRaV-1, ArMV |
| 128 | Kékfrankos | Kiskunhalas | 2013.06.06. | LD, R | GLRaV-1, ArMV |
| 129 | Kékfrankos | Kiskunhalas | 2013.06.06. | R, LR | GLRaV-1 |
| 130 | Kékfrankos | Pusztamérges | 2013.06.06. | SL | |
| 131 | Kékfrankos | Pusztamérges | 2013.06.06. | SL | |
| 132 | Kékfrankos | Pusztamérges | 2013.06.06. | MP | |
| 133 | Kékfrankos | Pusztamérges | 2013.06.06. | LD | GFkV |
| 134 | Kékfrankos | Pusztamérges | 2013.06.06. | NS | |
| 135 | Kékfrankos | Pusztamérges | 2013.06.06. | NS | |
| 136 | Kékfrankos | Pusztamérges | 2013.06.06. | NS | |
| 137 | Bakator | Sümeg | 2013.05.29. | MP | |
| 138 | Bakator | Sümeg | 2013.05.29. | MP | |
| 139 | Bakator | Sümeg | 2013.05.29. | MP | |
| 140 | Góhér fehér | Sümeg | 2013.05.29. | NS | |
| 141 | Góhér fehér | Sümeg | 2013.05.29. | NS | |
| 142 | Góhér fehér | Sümeg | 2013.05.29. | Y | |
| 143 | Lisztés fehér | Sümeg | 2013.05.29. | Y | |
| 144 | Arany sárfehér | Sümeg | 2013.05.29. | NS | |
| 145 | Boglárka | Szigetvár | 2013.09.11. | LD | |
| 146 | Irsai Olivér | Szigetvár | 2013.09.11. | NS | GLRaV-1, GLRaV-3 |
| 147 | Irsai Olivér | Szigetvár | 2013.09.11. | MP | |
| 148 | Cardinal | Szigetvár | 2013.09.11. | MP | |
| 149 | Tramini | Szigetvár | 2013.09.11. | NS | |
| 150 | Tramini | Szigetvár | 2013.09.11. | NS | |

| minta | fajta | gyűjtés helye | ideje | tünet | vírus |
|--------------|--------------------|----------------------|--------------|--------------|---------------------|
| 151 | Kékoportó | Szigetvár | 2013.09.11. | VN | |
| 152 | Kékoportó | Szigetvár | 2013.09.11. | SL | |
| 153 | Kékoportó | Szigetvár | 2013.09.11. | R | GLRaV-1 |
| 154 | Kékfrankos | Ordacsehi | 2013.09.08. | MP | |
| 155 | Narancsízú | Ordacsehi | 2013.09.08. | MP, NS | |
| 156 | Kékfrankos | Ordacsehi | 2013.09.08. | VN | |
| 157 | Kadarka | Ordacsehi | 2013.09.08. | VN | |
| 158 | Csabagyöngye | Ordacsehi | 2013.09.08. | SL | |
| 159 | Chasselas | Ordacsehi | 2013.09.08. | NS | |
| 160 | Csabagyöngye | Ordacsehi | 2013.09.08. | NS | |
| 161 | Izabella | Ordacsehi | 2013.09.08. | MP | |
| 162 | Kékfrankos | Sághegy | 2013.09.09. | NS | |
| 163 | Chasselas | Sághegy | 2013.09.09. | SL | |
| 164 | Olaszrizling | Sághegy | 2013.09.09. | SL | |
| 165 | Tramini | Aszófő | 2013.09.08. | NS | GLRaV-3 |
| 166 | Olaszrizling | Aszófő | 2013.09.08. | MP | |
| 167 | Pinot gris | Aszófő | 2013.09.08. | NS | |
| 168 | Olaszrizling | Aszófő | 2013.09.08. | NS | |
| 169 | Zweigelt | Aszófő | 2013.09.08. | R | GVA |
| 170 | Zweigelt | Aszófő | 2013.09.08. | SL | |
| 171 | Olaszrizling | Becehegy | 2013.09.04. | MP | |
| 172 | Olaszrizling | Becehegy | 2013.09.04. | SL | |
| 173 | Olaszrizling | Becehegy | 2013.09.04. | LD | |
| 174 | Olaszrizling | Becehegy | 2013.09.04. | MP | |
| 175 | Olaszrizling | Becehegy | 2013.09.04. | Y | |
| 176 | Olaszrizling | Becehegy | 2013.09.04. | MP | |
| 177 | Olaszrizling | Becehegy | 2013.09.04. | LR | |
| 178 | Kékfrankos | Becehegy | 2013.09.04. | SL | |
| 179 | Kékfrankos | Becehegy | 2013.09.04. | Y | |
| 180 | Olaszrizling | Becehegy | 2013.09.04. | YM | |
| 181 | Pinot gris | Csobánc | 2013.09.02. | R | GLRaV-3 |
| 182 | Pinot gris | Csobánc | 2013.09.02. | SL | |
| 183 | Cabernet sauvignon | Csobánc | 2013.09.02. | R, LR | GVA, GLRaV-3 |
| 184 | Pinot gris | Csobánc | 2013.09.02. | R | GVA |
| 185 | Cabernet sauvignon | Csobánc | 2013.09.02. | R, LR | GLRaV-3, GLRaV-1 |
| 186 | Pinot gris | Csobánc | 2013.09.02. | SL | |
| 187 | Pinot noir | Csobánc | 2013.09.02. | R | |
| 188 | Kékfrankos | Csobánc | 2013.09.02. | SL | |
| 189 | Kékfrankos | Csobánc | 2013.09.02. | R | |
| 190 | Pinot noir | Csobánc | 2013.09.02. | R | |
| 191 | Olaszrizling | Siklós | 2013.09.24. | SL | |

| minta | fajta | gyűjtés helye | ideje | tünet | vírus |
|--------------|--------------------|----------------------|--------------|--------------|-----------------|
| 192 | Olaszrizling | Siklós | 2013.09.24 | SL | |
| 193 | Olaszrizling | Siklós | 2013.09.24 | R | |
| 194 | Olaszrizling | Siklós | 2013.09.24 | LD | |
| 195 | Olaszrizling | Siklós | 2013.09.24 | LD | |
| 196 | Olaszrizling | Siklós | 2013.09.24 | LD | |
| 197 | Olaszrizling | Siklós | 2013.09.24 | LD | |
| 198 | Merlot | Mágocs | 2013.10.07. | NS | |
| 199 | Merlot | Mágocs | 2013.10.07. | R | |
| 200 | Merlot | Mágocs | 2013.10.07. | NS | |
| 201 | Merlot | Mágocs | 2013.10.07. | SL | |
| 202 | Merlot | Mágocs | 2013.10.07. | R | |
| 203 | Merlot | Mágocs | 2013.10.07. | R | |
| 204 | Zengő | Gyöngyös | 2013.10.04. | Y, LR | |
| 205 | Zengő | Gyöngyös | 2013.10.04. | MP | |
| 206 | Zengő | Gyöngyös | 2013.10.04. | Y, LR | |
| 207 | Chasselas | Gyöngyös | 2013.10.04. | LR | |
| 208 | Chasselas | Gyöngyös | 2013.10.04. | Y, LR | GLRaV-1, GVA |
| 209 | Irsai Olivér | Gyöngyös | 2013.10.04. | SL | GLRaV-1 |
| 210 | Cserszegi fűszeres | Gyöngyös | 2013.10.04. | MP | |
| 211 | Zweigelt | Gyöngyös | 2013.10.04. | R, LR | GLRaV-1 |
| 212 | Olaszrizling | Gyöngyös | 2013.10.04. | VM | |
| 213 | Olaszrizling | Gyöngyös | 2013.10.04. | LD | |
| 214 | Zweigelt | Gyöngyös | 2013.10.04. | R, LR | GLRaV-6 |
| 215 | Olaszrizling | Gyöngyös | 2013.10.04. | MP | |
| 216 | Kékfrankos | Kőszeg | 2013.09.27. | SL | |
| 217 | Kékfrankos | Kőszeg | 2013.09.27. | SL | |
| 218 | Kékfrankos | Kőszeg | 2013.09.27. | R | GVA |
| 219 | Kékfrankos | Kőszeg | 2013.09.27. | R | |
| 220 | Kékfrankos | Kőszeg | 2013.09.27. | R | |
| 221 | Kékfrankos | Kőszeg | 2013.09.27. | NS | |
| 222 | Kékfrankos | Kőszeg | 2013.09.27. | NS | |
| 223 | Kékfrankos | Kőszeg | 2013.09.27. | NS | |
| 224 | Kékfrankos | Kőszeg | 2013.09.27. | MP | |
| 225 | Kékfrankos | Kőszeg | 2013.09.27. | MP | |
| 226 | Chardonnay | Kőszeg | 2013.09.27. | SL | |
| 227 | Chardonnay | Kőszeg | 2013.09.27. | CM, Ch | GCMV |
| 228 | Chardonnay | Kőszeg | 2013.09.27. | CM | GCMV |
| 229 | Chardonnay | Kőszeg | 2013.09.27. | CM | GCMV |
| 230 | Olaszrizling | Keszthely | 2013.09.27. | SL | |
| 231 | Zöld veltelini | Szalafő | 2013.05.20. | LD | |
| 232 | Kékfrankos | Eger | 2013.10.05. | R | GLRaV-1 |

| minta | fajta | gyűjtés helye | ideje | tünet | vírus |
|--------------|-----------------|----------------------|--------------|--------------|---------------------|
| 233 | Kékfrankos | Eger | 2013.10.05. | R, LR | GLRaV-3, GLRaV-1 |
| 234 | Kékfrankos | Eger | 2013.10.05. | R | GLRaV-3 |
| 235 | Merlot | Eger | 2013.10.05. | SL | GFkV, GCMV |
| 236 | Merlot | Eger | 2013.10.05. | R, LR | GLRaV-3 |
| 237 | Olaszrizling | Eger | 2013.10.05. | MP | GLRaV-1 |
| 238 | Olaszrizling | Eger | 2013.10.05. | SL | |
| 239 | Olaszrizling | Eger | 2013.10.05. | Y, LR | GLRaV-1 |
| 240 | Hárslevelű | Tokaj | 2013.10.05. | MP | GLRaV-1 |
| 241 | Hárslevelű | Tokaj | 2013.10.05. | SL | |
| 242 | Furmint | Tokaj | 2013.10.05. | MP | GLRaV-1 |
| 243 | Furmint | Tokaj | 2013.10.05. | MP | |
| 244 | Furmint | Tokaj | 2013.10.05. | MP | GVA |
| 245 | Furmint | Tokaj | 2013.10.05. | SL | |
| 246 | Sárga muskotály | Tokaj | 2013.10.05. | YM | GLRaV-1, GCMV |
| 247 | Sárga muskotály | Tokaj | 2013.10.05. | SL | |
| 248 | Kékfrankos | Miskolc | 2013.10.05 | R | GLRaV-1 |
| 249 | Kékfrankos | Miskolc | 2013.10.05 | R | |
| 250 | Kékfrankos | Miskolc | 2013.10.05 | SL | |
| 251 | Kékfrankos | Miskolc | 2013.10.05 | R, LR | GLRaV-1 |
| 252 | Kékfrankos | Miskolc | 2013.10.05 | R | GLRaV-1 |
| 253 | Kékfrankos | Miskolc | 2013.10.05 | R | |
| 254 | Olaszrizling | Miskolc | 2013.10.05 | SL | |
| 255 | Olaszrizling | Miskolc | 2013.10.05 | MP | |
| 256 | Tramini | Zalaháshágy | 2013.10.03 | Ch, LD | |
| 257 | Kövidinka | Zalaháshágy | 2013.10.03 | LD | |
| 258 | Furmint | Zalaháshágy | 2013.10.03 | Ch, LD | |
| 259 | Furmint | Zalaháshágy | 2013.10.03 | SL | |
| 260 | Furmint | Zalaháshágy | 2013.10.03 | LD | |
| 261 | Hárslevelű | Zalaháshágy | 2013.10.03 | R | |
| 262 | Hárslevelű | Zalaháshágy | 2013.10.03 | YM | |
| 263 | Merlot | Zalaháshágy | 2013.10.03 | LD | |
| 264 | Olaszrizling | Zalaháshágy | 2013.10.01. | LD | |
| 265 | Pinot gris | Szentbékkála | 2013.10.10. | LD | GFLV |
| 266 | Olaszrizling | Budafok | 2014.05.19. | LD, Y | GLRaV-1 |
| 267 | Olaszrizling | Budafok | 2014.05.19. | SL | |
| 268 | Olaszrizling | Budafok | 2014.05.19. | SL | |
| 269 | Olaszrizling | Budafok | 2014.05.19. | SL | |
| 270 | Olaszrizling | Budafok | 2014.05.19. | MP | |
| 271 | Olaszrizling | Budafok | 2014.05.19. | MP | |
| 272 | Rajnai rizling | Budafok | 2014.05.19. | MP | |

| minta | fajta | gyűjtés helye | ideje | tünet | vírus |
|--------------|----------------|----------------------|--------------|--------------|--------------|
| 273 | Rajnai rizling | Budafok | 2014.05.19. | Y | |
| 274 | Rajnai rizling | Budafok | 2014.05.19. | Y | |
| 275 | Rajnai rizling | Budafok | 2014.05.19. | YM | |
| 276 | Rajnai rizling | Budafok | 2014.05.19. | VM | |
| 277 | Rajnai rizling | Budafok | 2014.05.19. | MP | |
| 278 | Rajnai rizling | Budafok | 2014.05.19. | NS | |
| 279 | Rajnai rizling | Budafok | 2014.05.19. | NS | |
| 280 | Királyleányka | Balatonboglár | 2014.05.12. | LD | |
| 281 | Királyleányka | Balatonboglár | 2014.05.12 | LD | |
| 282 | Királyleányka | Balatonboglár | 2014.05.12 | SL | |
| 283 | Királyleányka | Balatonboglár | 2014.05.12 | LD | |
| 284 | Királyleányka | Balatonboglár | 2014.05.12 | LD, St | |
| 285 | Királyleányka | Balatonboglár | 2014.05.12 | LD, St | |
| 286 | Királyleányka | Balatonboglár | 2014.05.12 | LD, St | |
| 287 | Merlot | Balatonboglár | 2014.05.12 | LD,St | |
| 288 | Merlot | Balatonboglár | 2014.05.12 | LD, St | |
| 289 | Chardonnay | Balatonboglár | 2014.05.12 | LD | |
| 290 | Chardonnay | Balatonboglár | 2014.05.12 | LD | |
| 291 | Chardonnay | Balatonboglár | 2014.05.12 | LD | |
| 292 | Chardonnay | Balatonboglár | 2014.05.12 | LD | |
| 293 | Chardonnay | Balatonboglár | 2014.05.12 | SL | |
| 294 | Chardonnay | Balatonboglár | 2014.05.12 | LD | |
| 295 | Chardonnay | Balatonboglár | 2014.05.12 | LD | |
| 296 | Chardonnay | Balatonboglár | 2014.05.12 | LD, St | |
| 297 | Tramini | Balatonboglár | 2014.05.12 | LD, St | |
| 298 | Tramini | Balatonboglár | 2014.05.12 | LD, St | |
| 299 | Kékfrankos | Sopron | 2014.08.15. | SL | |
| 300 | Kékfrankos | Sopron | 2014.08.15. | R, LR | GLRaV-3 |
| 301 | Kékfrankos | Sopron | 2014.08.15. | R | |
| 302 | Kékfrankos | Sopron | 2014.08.15. | R, LR | GLRaV-3 |
| 303 | Kékfrankos | Sopron | 2014.08.15. | SL | |
| 304 | Kékfrankos | Sopron | 2014.08.15. | NS | |
| 305 | Kékfrankos | Sopron | 2014.08.15. | NS | |
| 306 | Kékfrankos | Sopron | 2014.08.15. | R | |
| 307 | Kékfrankos | Sopron | 2014.08.15. | R | |
| 308 | Kékfrankos | Sopron | 2014.08.15. | SL | |
| 309 | Kékfrankos | Sopron | 2014.08.15. | MP | |
| 310 | Kékfrankos | Sopron | 2014.08.15. | MP | |
| 311 | Kékfrankos | Sopron | 2014.08.15. | LD | |
| 312 | Kékfrankos | Sopron | 2014.08.15. | LD | |
| 313 | Kékfrankos | Sopron | 2014.08.15. | LD | |

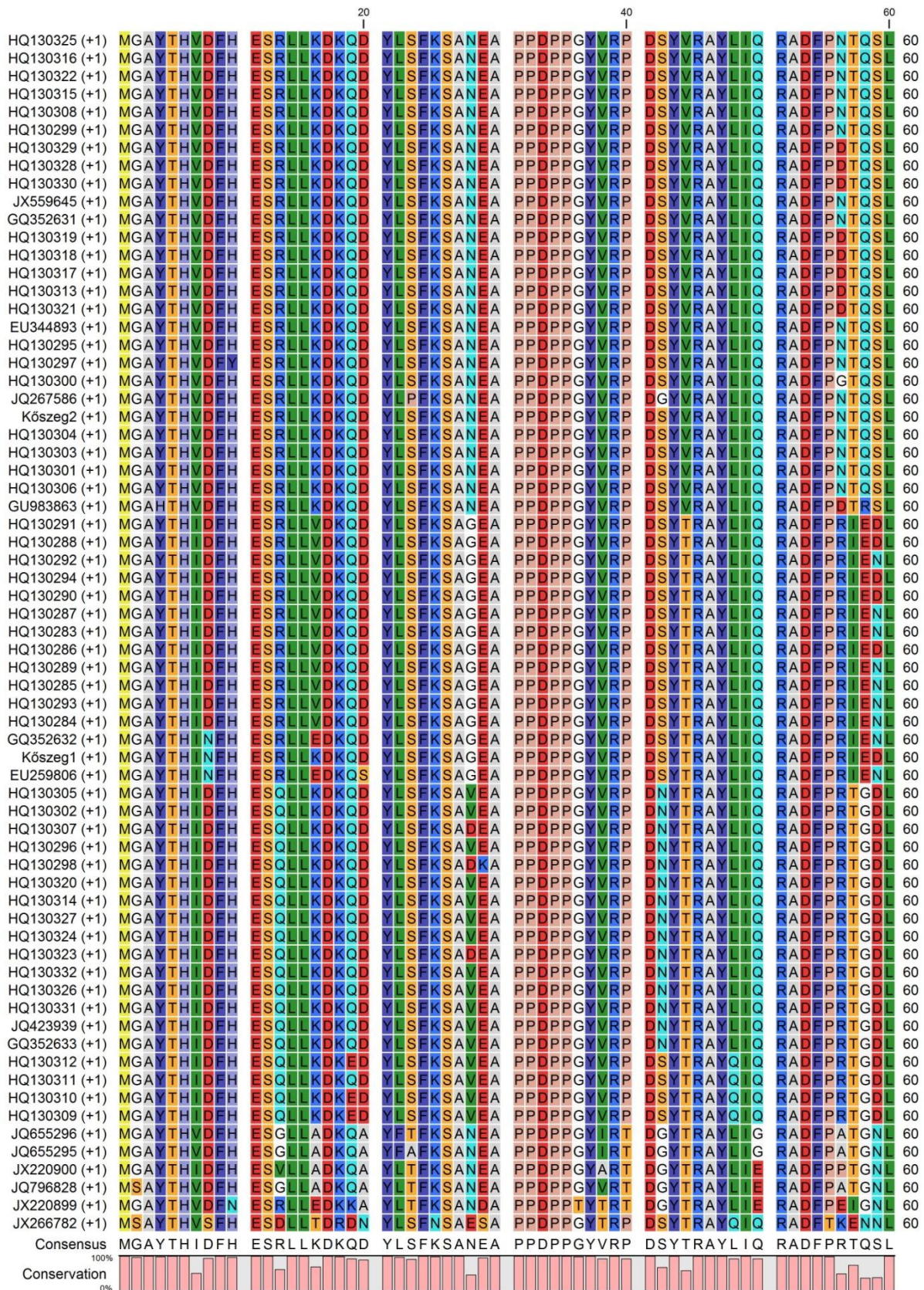
| minta | fajta | gyűjtés helye | ideje | tünet | vírus |
|-------|------------|---------------|-------------|-------|---------|
| 314 | Kékfrankos | Kőszeg | 2014.08.16. | R, LR | GLRaV-3 |
| 315 | Kékfrankos | Kőszeg | 2014.08.16. | R | |
| 316 | Kékfrankos | Kőszeg | 2014.08.16. | SL | |
| 317 | Merlot | Kőszeg | 2014.08.16. | R | |
| 318 | Merlot | Kőszeg | 2014.08.16. | R | |
| 319 | Merlot | Kőszeg | 2014.08.16. | SL | |
| 320 | Kadarka | Szekszárd | 2014.08.20. | NS | |
| 321 | Kadarka | Szekszárd | 2014.08.20. | NS | |
| 322 | Kadarka | Szekszárd | 2014.08.20. | SL | |
| 323 | Kadarka | Szekszárd | 2014.08.20. | R | |
| 324 | Kadarka | Szekszárd | 2014.08.20. | SL | |
| 325 | Kadarka | Szekszárd | 2014.08.20. | SL | |

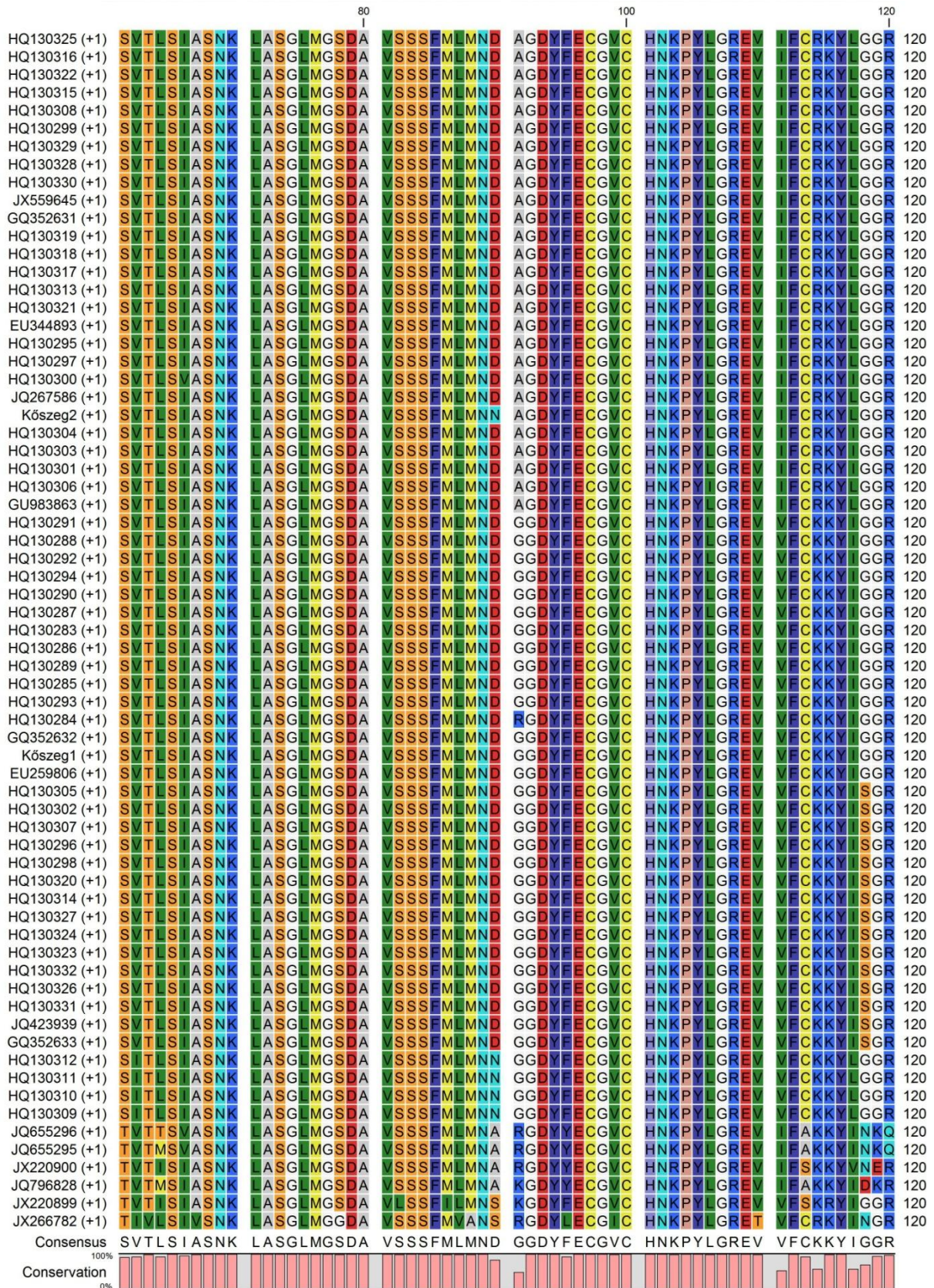
Rövidítések:

Tünetek: Ch (chlorosis)- klorózis, CM (chrome mosaic)- Krómsárga mozaik, LD (leaf deformation)- levéldeformáció, LR (leaf rolling)- Levélsodródás, MP (mosaic pattern)- Mozaikos mintázottság, NS (necrotic spots)- Nekrotikus foltosság, R (redding)- Vörösödés, RW (rugose wood)- Faszöveti barázdáltság, SL (symptomless)- tünetmentes, St (stinting)- törpülés, bokrosodás, rövidszártagúság, Y (yellowing)- sárgulás, YM (yellow mosaic)- Sárgamozaik, VC (vein clearing)- érkivilágosodás, VM (veinal mosaic)- érmenti mozaik, VN (vein necrosis)- Érnekrózis.

Vírusok: AMV (*Alfalfa mosaic virus*)- Lucerna mozaik vírus, ArMV (*Arabis mosaic virus*)- Arabisz mozaik vírus, GCMV (*Grapevine chrome mosaic virus*)- Szőlő krómmozaik vírus, GFkV (*Grapevine fleck virus*) Szőlő látens foltosság vírus, GFLV (*Grapevine fanleaf virus*)- Szőlő fertőző leromlás vírus, GLRaV- 1, -3 -6, (*Grapevine leafroll-associated virus 1, -3, -6,*), Szőlő levélsodródás vírusok 1., 2., 3., 6. és 7. csoportja, GVA (*Grapevine virus A*)- Szőlő A vírus.

2. melléklet. Az általunk vizsgált GLRaV-3 izolátumok és a génbankban található egyéb GLRaV-3 izolátumok Cpm gén aminosav sorrendjének összehasonlítása





HQ130315, HQ130308, HQ130299, HQ130329, HQ130328, HQ130330, HQ130319, HQ130318, HQ130317, HQ130313, HQ130321, HQ130295, HQ130297, HQ130300, HQ130304, HQ130303, HQ130301, HQ130306, GU983863, HQ130291, HQ130288, HQ130292, HQ130294, HQ130290, HQ130287, HQ130283, HQ130286, HQ130289, HQ130285, HQ130293, HQ130284, HQ130305, HQ130302, HQ130307, HQ130296, HQ130298, HQ130320, HQ130314, HQ130327, HQ130324, HQ130323, HQ130332, HQ130326, HQ130331, HQ130312, HQ130311, HQ130310, HQ130309, JQ796828); Kanada (JX559645, JX266782); Dél Afrika (GQ352631, GQ352632, EU259806, GQ352633, JQ655296, JQ655295); Chile (EU344893); Szlovákia (JQ267586); Kína (JQ423939); Új-Zéland (JX220900, JX220899); A magyarországi minták jelölése Kőszeg1 (K2), Kőszeg2 (K3); Consensus, Conservation: a megőrzött aminosavak %-os diagramban kimutatva.