



**ÍNVAZÍV GYOMOK ÉS LEVÉLTETVEK KAPCSOLATA, SZEREPÜK MINT
NÖVÉNYI VÍRUSREZERVOÁROK**

Doktori (PhD) értekezés

Szabó Károly-Attila

Gödöllő

2020

A doktori iskola megnevezése: Növénytudományi Doktori Iskola

Tudományága: Növénytermesztés és Kertészeti Tudományok

Vezetője: Prof. Dr. Helyes Lajos egyetemi tanár

Professzor, a Növénytudományi Doktori Iskola Vezetője

Szent István Egyetem

Témavezető: Dr. Balog Adalbert egyetemi tanár

Sapientia Erdélyi Magyar Tudományegyetem

Marosvásárhelyi Kar

Kertészmérnöki Tanszék

.....

Az iskolavezető jóváhagyása

.....

A programvezető jóváhagyása

.....

A témavezető jóváhagyása

1. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

1.1 Invazív gyomok jelentősége

Elsősorban az Amerikai kontinens felfedezése után számos új növényfaj került be Európába és vadult is ki.

A biológiai invázió a biodiverzitást negatívan befolyásolja világszerte különböző léptékben. Az elmúlt évek kutatásai elsősorban ezeknek az invázióknak a negatív hatásukra keresnek választ és esetleges megoldást. Kisebbségi a vizsgálat például a paraziták és patogének terjesztésében (Callaway & Maron, 2006), fásszáru invazív növények hatása az erdők tápanyag-gazdálkodásában, az erdők vízkészlet háztartásában, vagy ugyancsak az erdők tűzvédelmi problémáinak vizsgálatára. Azonban ezeknél sokkal súlyosabb a kár, amelyet okoznak, ez a biodiverzitás csökkenése (Hejda et al., 2009). Munkánk céljai között szerepelt, hogy megvizsgáljuk és összehasonlítsuk az három invazív gyom (*Erigeron annuus*, *Conyza canadensis*, *Solidago canadensis*) populációját eltérő művelésű (intenzív, extenzív) területek között. Vizsgálatokat végeztünk intenzív mezőgazdasági területeken, ahol az intenzív talajművelés mellett műtrágyákat és kémiai növényvédő szereket használtak (HIF-high-input-fields), valamint olyan extenzív mezőgazdasági területeken, ahol ezeknek a hiánya volt a jellemző (LIF-low-input-fields).

Megvizsgáltuk, hogy a domináns invazív gyomfajokon, melyek a leggyakrabban előforduló helyi, őshonos levéltetű fajok, azok milyen arányban vannak jelen a környező, leggyakrabban termesztett mezőgazdasági kultúrákban (kukorica, burgonya és lucerna).

A levéltetvek általi gazdanövény preferencia vizsgálatokra stresszfehérje elemzést végeztünk, továbbá célunk volt azonosítani az invazív gyomokban leggyakrabban előforduló növényi vírusokat.

Összeségében az invazív gyomok szerepét, mint vírusrezervoárok, és potenciális veszélyforrások vizsgáltuk a mezőgazdasági kultúrákra, azt feltételezve, hogy a helyi levéltetű populációk könnyen adaptálódva az invazív gyomokra, komoly vírusvektorokká válnak, a vírusvektor potenciáljuk ugyanakkor nagyban függhet a környezettől és a kezelések típusától.

3.ANYAG ÉS MÓDSZERTAN

3.1 Területek bemutatása - Invazív gyomok felmérése

Terepi gyomfelvételezésünket és a levéltetvek gyűjtését 2015 és 2016 vegetációs időszakában végeztük Romániában, Erdély központi illetve keleti régiójában úgy az intenzíven művelt (HIF), mint a kevésbé intenzív (LIF) területeken.

Az Erdély központi részén elhelyezkedő Szász régió szolgált a kevésbé intenzíven művelt területeknek. Ez a kb. 7440 km² terület fizikai adottságaiból adódóan nem válhat egy intenzív mezőgazdasági zónává, mivel szűk völgyek és meredek domboldalak alapvetően a kisparcellás (0,3-0,5ha) művelést engedik, sok esetben ezen területek művelését is felhagyják, teret engedve az invazív fajok terjedésének (Zimmermann et. al., 2015). Ennek köszönhetően nagy fajgazdagság és nagy biodiverzitás jellemző erre a vidékre (Akeroyd & Page, 2011). A kultúrnövények közül a legmeghatározóbb fajok a kukorica, lucerna, burgonya.

A másik kísérleti területünként az Erdély keleti részén, a Csíki-medencében található, intenzívebben művelt területek szolgáltak. Ezekre a tájakra a nagyobb parcellák és az intenzív termesztés miatt a nagyarányú műtrágya- és peszticid használat volt jellemző. Ezen a területen a fő gazdasági növénykultúrák a burgonya, lucerna, kukorica, búza és cukorrépa.

A gyomfelvételezéshez és a levéltetvek begyűjtésére mindkét terület típusnál lokalizáltunk két-két mintaterületet, melyek 10-15 km-re voltak egymástól. Ezeken végeztük a vizsgálatokat mindkét évben. Mindegyik területen lokalizáltunk két transzektet (10 m hosszú -1 m széles) melyek körülbelül 1 km-re helyezkedtek el egymástól és amelyek mellett megtalálható volt mind a három fő kultúrnövény (kukorica, burgonya, lucerna). A pontos behatárolásért bemértük a GPS koordinátáját minden transzektnek. Ezek után a transzektet 10 db 1 m²- darabra osztottuk, melyeket utána 10x10 cm kis parcellácskákra, és ezeken a kis területeken megvizsgáltuk a gyomborítást (őshonos fajokat, illetve invazív fajokat egyaránt) (Andújar et. al., 2010).

Mivel a másik célunk az volt, hogy megvizsgáljuk ezeken a gyomnövényeken előforduló levéltetvek faji összetételét és azok populációját, ezért a levéltetveket vagy a levéltetvekkel borított

növényrészeket 96%-os alkoholba eppendorf csőbe tettük és a laboratórium fagyasztójában -20°C-on tároltuk meghatározásig. (Blackman & Eastop, 2007; Szalay-Marzsó, 1969).

3.2. POD-enzim aktivitás mérése és összehasonlítása a gyomnövényekben

A növénymintákat évente a mintagyűjtésekkor szedtük a transzektekből, mindenik minta levéltetvek által károsított fiatal hajtásrész volt, ezeket műanyag tasakban tároltuk -20°C-on az enzim aktivitás mérésekig (n=10 növényminta/1 m², így 100/transzekt).

3.3. A levéltetvek kolonizációja a gyomnövényekről a kultúrnövényekre

A vizsgálathoz a levéltetűfajokat a Marosvásárhelyi Sapiientia Erdélyi Tudományegyetem területén e célra kijelölt kísérleti parcellán ültetett és felállított gyomnövényekről, valamint kultúrnövényekről gyűjtöttük 2017-ben.

Egy parcellába felállítottunk egy 5 oszlopból és 8 sorból álló kísérletet, úgy, hogy egy oszlopba váltakozva 4 darab seprence és 4 darab betyárkóró került, amelyek köré 25cm távolságra meghatározott sorrendbe egy-egy lucernát, kukoricát, és burgonyát tartalmazó cserepet tettünk. Minden ilyen négyes csoport alkotott egy „kísérleti csoportot”.

2017 június 12.-én gyűjtöttük az első mintákat, random, nem egymás melletti kísérleti csoportból, úgy, hogy mind a két fajból származó gyomnövény által meghatározott kísérleti csoportokból 3 legyen. Majd az ezt követő minden hét első napján, ha az időjárás is kedvező volt, ugyan úgy, mint az első gyűjtésnél, 2017 július 17-ig mintákat gyűjtöttünk.

3.4. Levéltetvek gyomokról kultúrnövényekre való áttelepülésének vizsgálata genomiális DNS elemzéssel

3.4.1. Polimeráz láncreakció

A gyomnövényekről és kultúrnövényekről befogott levéltetvek mikroszatelita alapú vizsgálatát két primerrel végeztünk, melyeket (Wilson et al., 2004) által írt cikk alapján választottuk ki.

3.4.8. Poliakrilamid gélelektroforézis

A PCR termékek 10 µl-ét 7%-os native poliakrilamidgélben (poliakrilamidgélelektroforézis-PAGE) szeparáltunk (10 cm), és megfestettük RedSafe DNS kötőfestékkel. Ezt követően a DNS-eket UV fényben vizualizáltuk a GelDoc (Biorad) rendszer alkalmazásával.

3.4.9. Mikroszatellit elemzés

A mikroszatellit elemzések során minden levéltetűnél összehasonlítottuk az egyezéseket minden mikroszatellit esetében. Az adatok jobb átláthatósága kedvéért minden mikroszatellit esetében külön mutatjuk be 24 esetet.

3.5. Növényi vírusok kimutatása - Minták gyűjtése

A mintákat az adott területen lévő leggyakoribb és invazívnek számító gyomnövényfajok képezték, a betyárkóró (*Conyza canadensis*), az egynyári seprence (*Erigeron annuus*) és a kanadai aranvessző (*Solidago canadensis*). A minták gyűjtése 2017-ben történt, két területről. Az első terület Tusnádon volt, ahol intenzíven művelt területek domináltak, a másik Segesvár környéke volt, itt felhagyott vagy extenzíven művelt területek voltak. A gyomnövények útszélekről, sáncokról és parcellák széléről voltak gyűjtve. Minden terület úgy volt kiválasztva, hogy a környező mezőgazdasági területeken burgonya, kukorica és takarmánylucerna termesztése történjen.

A laboratóriumban azokból a begyűjtött gyom mintákból történt az RNS kivonása új generációs kis RNS követéssel, amelyeken a legnagyobb levéltetű egyedszám volt. A levéltetvek a vírusok legfontosabb vektorai, ők a gyomnövényeket nyári tápnövényként használják amelyekről majd ismét a kultúrnövényre vándorolnak vissza, így ezen növények vizsgálata volt a legcélravezetőbb. Voltak minták, amelyek tünetmentesek voltak, de voltak olyanok is, amelyeken látszott a vírusfertőzés (4.Ábra és 5.Ábra).

3.6. Teljes nukleinsav kivonás

Az új generációs kisRNS követés első lépése a totál nukleinsav kivonása. Az RNS megóvása végett végig jégben dolgoztam.

3.7. Kis RNS könyvtár készítés és szekvenálás

Ezután a kisRNS könyvtár készítése következett, amelynek fő lépései a következők: kisRNS frakció izolálása a totál RNS kivonatból, adapter ligálás, reverz transzkripció, PCR amplifikáció, és cDNS tisztítása gélből.

3.8. Növényi vírusok kimutatása invazív gyomokban és kultúrnövényekben

Az adott területen megtalálható leggyakoribb és invazívnak számító gyomnövényfajokban előforduló növényi vírusokat vizsgálata új generációs kis RNS követéssel történt az alábbi szempontok és mintaszámok alapján .

3.8. Adatok statisztikai kiértékelése

A nyers adatok bevitele excelbe mind a gyomok, mind a levéltetvek esetében dátumok és gyűjtési helyes szerint történt. Ezt követően az adatok eloszlás vizsgálata zajlott. Mivel a gyomok boritottsági adatai nem mutattak normál eloszlást, ezért nem parametrikus Kruskal-Wallis, majd ezt követően a Mann-Whitney U tesztel hasonlítottuk össze azok boritottságát az eltérő kezelésben részesített területek között.

A levéltetvek esetében a sárga szilvalevéltetű (*Brachycaudus helichrysi*) és a zöld burgonya-levéltetű (*Aulacorthum solani*) előfordulása az egyényári seprencén az eltérő kezelésű területeken normál eloszlást mutatott, ezért az adatokat ANOVA és Tukey tesztel hasonlítottuk össze 95%/os konfidencia intervalumot tekintve szignifikáns eltérésnek. A többi gyomfajon a levéltetvek gyakorisága szintén nem mutatott normál eloszlást, ezért it is Kruskal-Wallis, majd ezt követően a Mann-Whitney U tesztel hasonlítottuk össze az adatainkat. A vizsgált kultúrnövényeken tapasztalt *B. helichrysi* levéltetű faj relatív előfordulását szintén ANOVA és

Tukey tesztel végeztük. A peroxidáz stresszfehérje kimutatás adatai esetében páros t tesztet alkalmaztunk, mivel ebben az esetben csak a kezeléseket (intenzív vs. extenzív) hasonlítottuk össze egymással. A kimutatásokat a PAST programcsomag segítségével végeztük el.

A. B. helychrisi és az *A. solani* levéltetvek átvándorlási intenzitásának statisztikai vizsgálata Chi négyzet tesztel történt, ugyanakkor itt meg kell jegyezni, hogy ez elsősorban a sárga szilvalevéltetű esetében tekinthető megfelelően érzékenynek, a másik levéltetű faj esetében az alacsonyabb egyedszámok miatt az elemzés nem volt kellően pontos. A kimutatást SPSS-ben végeztük el.

Külön elemeztük kis skálán az RNS és DNS alapú vírusok szekvenciák szerinti gyakoriságát gyom és kultúrnövények és kezelések között, ezt ún. Heatmap-en ábrázoltuk. A szekvencia számokat gyom és kultúrnövények és kezelések között ANOVA és Tukey teszt segítségével hasonlítottuk össze.

A kezeléseket és a levéltetvek egyedszámának a hatását főkoordináta (PCoA) módszer segítségével vizsgáltuk, melynek során a kezeléseket (intenzív vs. Extenzív) és a levéltetvek gyakoriságát vettük figyelembe mint fő faktorok. Az elemzéseket szintén a PAST programcsomaggal végeztük.

3.9. Bioinformatikai adatelemzés

Szekvenálható sRNS könyvtár készítés

A szekvenáló könyvtár készítéséhez azRNS kivonatokból poliakrilamid gélen való elválasztás segítségével kitisztítottuk az sRNS frakciót. Ehhez ismert szekvenciájú adaptereket ligálunk, majd cDNS-t írunk át, amit néhány ciklusban PCR reakcióban amplifikálunk. Az így elkészített „sRNS könyvtárát” méret alapján újból gélből tisztítottuk. Kísérleteinkben az Illumina „TruSeq Small RNA Library Prep” kitjét használjuk. A módszer részletes leírását magyarul Czotter Nikoletta doktori dolgozata (<http://konyvtar.uni-pannon.hu/en/node/381>), angolul a Czotter és mtsai (Czotter *et al.*, 2018) könyvfejezet tartalmazza.

Szekvenálás

Az elkészített könyvtárakat Illumina platformon az UD-Genomednél szekvenáltattuk 50bp-os leolvasással. A szekvenálás kiválasztásánál figyelembe vettük, hogy a read-ek száma

(szekvenálás mélysége) összefügg a szekvenáló berendezéssel és azzal is, hogy hány mintát szekvenáltunk együtt.

A HTS eredményének, a szekvenált olvasatok (readek) bioinformatikai elemzése

A bioinformatikai elemzéseket szekvencia elemző programcsomagokkal végezhetjük. Munkánk kezdetén ingyenes programokat és scirpteket használtunk (alább ezeket a lépések találhatóak részletesebben), később pedig a CLC Genomics Workbench és a Geneious programcsomagokat. Az elemzések első lépésében minőségellenőrzés után eltávolítottuk a ligálással az sRNS-ekhez illesztett szekvenciákat. Ezt követően a vírus azonosításhoz két bioinformatikai stratégiát alkalmaztunk egymással párhuzamosan.

A nem redundáns sRNS szekvenciákat direkt módon az NCBI RefSeq adatbázis vírus referencia szekvenciáihoz (növény és gerinctelen gazda) illesztettük fel. Az illesztéshez a BWA aln programot használtuk (Li & Durbin, 2009).

Az sRNS szekvenciákat *de novo* összeszereltük, hosszabb „kontig” szekvenciákba, 13-as, 15-ös és 17-es kmer érték beállítása mellett, a Velvet Software segítségével (Zerbino & Birney, 2008) és a kapott kontig szekvenciákat az NCBI RefSeq adatbázis növény vírus referencia szekvenciáihoz illesztettük MegaBLAST programmal (Morgulis *et al.*, 2008).

A bioinformatikai elemzések eredménye egy víruslista, melynek eredményei molekuláris biológiai módszerekkel (pl. RT-PCR) igazolhatóak.

A bioinformatikai elemzések során nyert tapasztalataink alapján 2017-ben megvásároltuk a Qiagen CLC Genomic workbench software-ét és későbbi munkáink során már ezt a programot használtuk. Az elemzés alapvetően azonban követte korábbi stratégiánkat: az sRNS readekből hosszabb kontigokat építettünk (a program, 'de novo assembly' parancsával), melyeket az NCBI növényi vírus referenciagenomjaihoz illesztettünk. Pozitív találat esetén a readeket (redundáns és nem redundáns readeket is) az adott vírus referenciagenomjára illesztettük ('Map to reference' paranccsal), és az illeszkedő readekből egy normalizált (read/million read) adatot és a vírus lefedettségi %-át számoltuk ki. E három paraméter figyelembevételével állapítottuk meg az adott ültetvény vírusfertőzöttségét.

4. EREDMÉNYEK

4.1 Invazív gyomok előfordulási gyakorisága a vizsgált területeken

Az eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy három invazív gyomfaj uralta a területeket, ezek az egynyári seprence (*Erigeron annuus*) a kanadai aranyvessző (*Solidago canadensis*) és a betyárkóró (*Erigeron canadensis*) voltak. Az eltérő kezelésben részesített területek között szignifikáns eltérés volt tapasztalható a gyomok borításában. Míg az extenzíven kezelt területen az egynyári seprence borítása meghaladta a 97%-ot, mellette a kanadai aranyvessző volt jelen 2,5%-ban. Az intenzíven kezelt területen az egynyári seprence borítása 84,5% volt, mellette a

4.2 Levéltetvek gyakorisága az invazív gyomokon

Mindkét kezelésű területen két levéltetű faj volt jelen nagyobb egyedszámban az invazív gyomokon. Ezek a sárga szilvalevéltetű (*Brachycaudus helichrysi*) és a zöld burgonya-levéltetű (*Aulacorthum solani*) voltak. Kis mennyiségben és csak a kanadai aranyvesszőn megjelent még a lucerna levéltetű (*T. trifolii*) is. Ez utóbbi fajjal nem végeztünk további vizsgálatokat. Relatív előfordulásukat tekintve mindhárom gyomnövényen a sárga szilvalevéltetű volt jelen a legnagyobb egyedszámban.

Külön vizsgálva a levéltetvek előfordulását a három invazív gyomon, és kezelések között, elmondhatjuk, hogy a sárga szilvalevéltetű az extenzíven kezelt területeken volt jelen szignifikánsan nagyobb egyedszámban az egynyári seprencén, de ugyanez elmondható a burgonya-levéltetűről is .

Összeségében elmondható, hogy a 13%-nyi többlet eltérés az egynyári seprence borítottságában több mint 30% magasabb populációabundanciát eredményez a sárga szilvalevéltetű előfordulásában az extenzíven kezelt terület esetében. Ugyancsak magasabb sárga szilvalevéltetű abundancia volt megfigyelhető a kanadai aranyvessző és a betyárkóró esetében is .

4.3 A levéltetvek táplálkozásának igazolása stresszfehérjék kimutatásával

A Peroxidáz stresszfehérje kimutatása minden esetben sikeres volt, ennek magass értéke igazolta, hogy az invazív gyomokon a vizsgált levéltetvek folyamatosan jelen voltak és

táplálkoztak. Eltérés volt ugyanakkor megfigyelhető az egynyári seprence esetében az eltérő kezelésben részesített területek között abban az esetben, ha a POD kimutatása 10 μ l mennyiségben történt. Minden más gyomnövényen szintén kimutatható volt a stresszfehérje növekedés, ugyanakkor nem volt eltérés a különböző kezelésben részesített területek között.

4.4 Levéltetvek kolonizációja invazív gyomokról a kultúrnövényekre.

Minden esetben sikerült kimutatni, hogy a sárga szilvalevéltetű és a zöld-burgonya levéltetű is jelentős egyedszámban kolonizálja szárnyas egyedei révén a kultúrnövényeket. Genomiális DNS elemzésekkel kimutatható volt, hogy a gyomokon előforduló kolóniákból származó egyedek azok amelyek a kultúrnövényeket is kolonizálják.

Összeségében kimutatható, hogy a Sárga szilva levéltű viszonylag nagy arányban vándorolt át gyomokról kultúrnövényekre viszont az átvándorlás attól függően változott, hogy mely gyomnövény köré voltak felállítva a kísérlet során a kultúrnövények. Ennek alapján elmondhatjuk hogy:

- A legtöbb *B. helichrysi* levéltetű egyed a kukoricán fordul elő, mégpedig azokon a kukorica egyedeken, amelyek az egynyári seprence gyomnövény faj körül voltak felállítva a kísérlet alatt, míg a betyárkóró esetében a begyűjtött egyedek száma kisebb volt.
- A következő legnagyobb levéltetű egyedszámmal rendelkező kultúrnövény a lucerna volt, ugyanakkor az egynyári seprence gyomnövény faj mellett felállított lucerna egyedeken a levéltetvek abundanciája szintén magasabb volt, szemben a betyárkóró mellet vizsgált lucernával.
- A burgonyán fordult elő a legkevesebb levéltetű egyedszám, ebben az esetben nem volt eltérés a két gyomnövény mellé helyezett burgonya egyedek között (12. ábra).

A Chi négyzet teszt segítségével kimutatható volt a két levéltetű faj gyomokról kultúrnövények felé való átvándorlási intenzitása. Az eredmények alapján elmondhatjuk, hogy a sárga szilva levéltetveknél szignifikánsan a legerőteljesebb átvándorlást figyelhetjük meg az egynyári seprencéről a kukorica növényre, míg szignifikánsan alacsony átvándorlás történt a burgonyára. Ugyancsak jelentős átvándorlás volt megfigyelhető a lucerna felé is. Nagyon alacsony az átvándorlása az egynyári seprencéről a kultúrnövényekre a zöld-burgonya levéltetvek esetében .

Megvizsgálva annak a lehetőségét, hogy mindkét gyomnövény (egynyári seprence és betyárkóró) egyszerre van jelen, mekkora az átvándorlás intenzitása, megfigyeltük, hogy a sárga szilva levéltetű átvándorlása az egynyári seprencéről szignifikánsan a legmagasabb a kukorica irányába volt, míg a legalacsonyabb átvándorlás a lucerna irányába volt megfigyelhető. A betyárkóróról szignifikánsan a legnagyobb levéltetű átvándorlás a burgonya irányába volt megfigyelhető, míg a legalacsonyabb akárcsak a *E. annuus* gyomnövény esetében a lucernára való átvándorlás volt.

4.5 Növényi vírusok kimutatása invazív gyomokban és kultúrnövényekben

A kisRNS könyvtárak által 9-20 millió read-et, azaz 9-20 millió 21-24 nt hosszú szekvenciát kaptunk. Az elemzések során 16 vírust sikerült kimutatni. Az azonosított növényi vírusok az alábbi táblázatokban vannak feltüntetve, bemutatva azok eddig jelzett gazdanövényei, valamint a leggyakrabban jelzett vektorai (9-10. Táblázatok)

9.Táblázat. RNS alapú vírusok bemutatása

	Vírus neve	Génusz	Genom	Gazdanövények	Terjedés
PVY	Potato virus Y	Potyvirus	RNS	<i>Solanaceae</i> család több mint 60 fajtát	Levéltetvek: <i>Myzus persicae</i> , <i>Myzus ornatus</i> , <i>Macrosiphum euphorbiae</i> , <i>Aulacorthum circumflexum</i> , <i>Aphis nasturtii</i> , <i>Aphis gossypii</i> , <i>Brachycaudus helichrysi</i> , és szaporító anyaggal
CIYVV	Clover yellow vein virus	Potyvirus	RNS	6 család (<i>Fabaceae</i> , <i>Cucurbitaceae</i> , <i>Solanaceae</i> , <i>Poaceae</i>) 25 fajtát	<i>Myzus persicae</i> , <i>Acyrtosiphon pisum</i> , <i>Aulacorthum solani</i> és <i>Macrosiphum euphorbiae</i>
ZTMV	Zucchini tiger mosaic virus	Potyvirus	RNS	<i>Cucurbitaceae</i>	L. Xiao és mtsai. valamint S. E. Webb. és mtsai. 2016-ban Kínában és Floridában, Da Wang és mtsai. 2019-ben Hawaiiion írták le, vektorai ismeretlenek
PVS	Potato virus S	Carlavirus	RNS	Többnyire a <i>Solanaceae</i> család	<i>Myzus persicae</i> (Wetter & Völk, 1960); <i>Aphis frangulae</i> , <i>A. nasturtii</i> , <i>Macrosiphum euphorbiae</i>

	Vírus neve	Génusz	Genom	Gazdanövények	Terjedés
PVM	Potato virus M	Carlavirus	RNS	<i>Solanaceae</i> és <i>Chenopodiaceae</i>	<i>Myzus persicae</i>
PVX	Potato virus X	Potexvirus	RNS	<i>Solanaceae</i>	Szöcske: <i>Melanoplus differentialis</i> , <i>Tettigonia viridissima</i> Gomba: <i>Synchytrium endobioticum</i> , mechanikai átvitel
OVX	Opuntia virus X	Potexvirus	RNS	Fügekaktusz, <i>Cactaceae</i> , <i>Chenopodium quinoa</i>	Koenig R. És mtsai. 2004-ben írták le először, vektora ismeretlen
BLRV	Bean leafroll virus	Luteovirus	RNS	65 faj: <i>Vicia</i> , <i>Pisum</i> , <i>Medicago</i> , <i>Trifolium</i> , <i>Lathyrus</i> és <i>Trigonella</i>	<i>Acyrtosiphon pisum</i>
SCBMV	Squash chlorotic leaf spot virus	Picornavirales	RNS	<i>Cucurbitaceae</i>	Mechanikai átvitel, molytetvek

10.Táblázat. DNS alapú vírusok bemutatása

	Vírus neve	Génusz	Genom	Gazdanövények	Terjedés
TVCV	Tobacco vein clearing virus	Solendovirus	DNS	<i>Nicotiana</i> fajok	Maggal
SPSMV- 1	Sweetpotato symptomless mastrevirus 1	Mastrevirus	DNS	Édesburgonya	Kabóca
DMV	Dahlia mosaic virus	Caulimovirus	DNS	<i>Dahlia</i> fajok, <i>Asteraceae</i> , <i>Solanaceae</i> , <i>Chenopodiaceae</i> , <i>Amaranthaceae</i>	13 levéltetű faj, főleg az <i>Aphis fabae</i> , <i>Myzus persicae</i> és a <i>Macrosiphum euphorbiae</i>

	Vírus neve	Génusz	Genom	Gazdanövények	Terjedés
SPuV	Soybean mild mottle pararetrovirus	Caulimovirus	DNS	Szójabab	Junping Han és mtsai. 2012-ben szekvenálta a teljes genomot, azóta nem jelent meg publikáció
PBCoV	Pineapple bacilliform comosus virus	Caulimovirus	DNS	Ananász	Pajzstetvek
SCBGDV	Sugarcane bacilliform Guadeloupe D virus	Caulimovirus	DNS	Cukornád	Csíraplazma
HzNV-2	Helicoverpa zea nudivírus 2	Baculovirus	DNS	Bagolylepke (<i>Helicoverpa zea</i>)	Szaporodás során

5.KÖVETKEZTETÉSEK

A vizsgálatok alapján elmondható, hogy a tájidegen invazív gyomok magas helyi, őshonos levéltetű populációt tartanak fenn.

Kimutatható, hogy a sárga szilva – levéltetűt (*Bachycaudus helichrysi*) volt jelen a legtöbb gyom esetében, majd ezt követte a már jóval kevesebb egyedszámú zöldfoltos burgonya – levéltetű (*Aulacorthum solani*), valamint a *Therioaphis trifolii* levéltetű. Nem sikerült kimutatni a Burgonya levéltetű (*Macrosiphum euphorbiae*) jelenlétét, holott sok irodalmi hivatkozás jelzi a fajt invazív gyomokon (Francis et al., 2010; Srinivasan & Alvarez, 2011).

Az áttelepedési kísérletek során kimutatható volt, hogy a legtöbb *B. helichrysi* levéltetű egyed a kukoricára ment át, elsősorban akkor, ha *E. annuus* gyomnövény faj közelében volt.

Hasonlóan, a sárga szilva – levéltetű faj mind a betyárkóróról, mind a seprencéről a kukorica felé vándoroltak át magas egyedszámban, ezt követte a lucerna, majd a burgonya. Mindezen eredmények eddig nem voltak más kutatás során igazolva. A sárga szilvalevéltetű egyil fontos tápnövényeként elsősorban a napraforgó volt eddig feltüntetve, átfogó filogeográfiai vizsgálatok nem igazolták sem mutatták ki, hogy a *B. helichrysi* megjelenik kukoricán (Popkin et al., 2017). Ennek pontosabb igazolása további kísérletek elvégzését igényli.

A vizsgálataink során kimutathatóvá vált, hogy az *E. canadensis* gyomnövényfajról szignifikánsan a legnagyobb levéltetű átvándorlás a burgonya kultúrnövényre történt, míg a legalacsonyabb akárcsak a *E. annuus* gyomnövény esetében a lucernára való átvándorlás volt. Mindezek alapján szintén elmondható, hogy az invazív gyomok magass levéltetű populációt képesek eltartani, azok átvándorlása a kultúrnövények irányába rendkívül intenzív.

A gyomnövényekről és kultúrnövényekről gyűjtött levéltetvek mikroszatelita alapú vizsgálatával bizonyítani tudtuk, hogy az invazív gomokról a kultúrnövényekre való átvándorlás valóban végbemegy.

Összeségében, a területek kezelése meghatározta az invazív gyomok fajösszetételét és egyben azok gyakoriságát is, ami egyben hatással volt a rajtuk előforduló levéltetvekre. A nem kezelt területek esetében a 12%-al magasabb gyomborítás 30%-al magasabb levéltetű abundanciát eredményezett, ami komolyan felveti az extenzíven kezelt, sok esetben védett területek

managementjének a részletes átgondolását. Szintén kijelenthető, hogy az invazív gyomnövények nem csak tájidegen, gyorsan szaporodó, nagy területeket elfoglaló növények, amelyek elnyomják őshonos fajainkat és kompetícióban állnak a kultúrnövényekkel, hanem mint vírus rezervoárok is fontos jelentőséggel bírnak.

A kutatás során sikerült kimutatni 16 vírust, amelyből 9 eddig nem volt hivatalosan jelezve Európában, és amelyek gazdanövényei között nem szerepelt az általam vizsgált három invazív gyomfaj. Pár vírus olyan növényeket illetve rovarokat is fertőz, amelyek hazánkban nincsenek jelen. Bár a visszaigazolása a HzNV-2 vírusnak még folyamatban van, de ez a vírus fontos szerepet kaphat majd a biológiai növényvédelemben a *Helicoverpa zea-t* illetően.

Az eredményekből megfigyelhető, hogy intenzíven és extenzíven kezelt területekről származó növényekben eltérő vírusok vannak jelen, és ezek gyakorisága is eltérő. Intenzív területeken főleg az RNS alapú vírusok domináltak: ZTMV, PVX, OVX, CIYVV, ZTMV, a DNS alapú vírusok közül pedig az SCBGDV jellemzi a területet. Extenzív területeken inkább a DNS alapú vírusok vannak jelen: TVCV, DMV, PBCoV, és az RNS alapúak közül a PVS és PVM. Ezen eltérés talán azzal magyarázható, hogy míg az RNS alapú vírusok egy lépésben tudnak vírusfehérjéket termelni, addig a DNS alapú vírusok ezt csak több lépésben tudják megvalósítani.

Sok esetben, adott vírusok inkább a gyomnövényekre, valamint eltérő vírusok a kultúrnövényekre voltak jellemzőek: a gyomnövényekre a ZTMV, CIYVV, OVX, TVCV, SPSMV-1, a kultúrnövényekre pedig a PVY, PVS, PVX, PVM adtak több találatot.

A vírusok előfordulási intenzitását vizsgálva megállapítható, hogy az intenzíven művelt területeken a vírusok nagyobb valószínűséggel vannak jelen, ami annak köszönhető, hogy az HIF területek genotipikusan és fenotipikusan magasabb diverzitással rendelkeznek, hiszen a terület mozgatva van, így van esélye új fajoknak beférköznie, míg az LIF területek rendszere zártabb.

7.ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

Az eredményeim alapján az alábbi új tudományos eredményeket tartom fontosnak kiemelni.

1. Igazoltam, hogy a vizsgált invazív gyomok (*Erigeron annuus*, *Conyza canadensis*) nagyon magas helyi levéltetűfajt képesek eltartani.
2. Genomiális DNS elemzésekkel igazoltam, hogy az invazív gyomokról a kultúrnövények felé nagyfokú levéltetű átvándorlás van.
3. Igazoltam, hogy a sárga szilvalevéltetű egyik tápnövénye lehet a kukorica.
4. Kimutattam olyan növényi vírusokat, amelyek eddig nem voltak jelezve a vizsgált gyomnövényekben.
5. Kimutattam, hogy a kezeléseknek, vagy azok hiányának nagy szerepe van a vizsált gyomok (*Erigeron annuus*, *Conyza canadensis*) abundanciája révén a levéltetvek egyedsűrűségére, ami meghatározhatja az adott területeken a kultúrnövények vírusfertőzését.
6. Először mutattam ki mesterséges rovarpatogén vírust a vizsgált invazív gyomnövényekben (*Erigeron annuus*, *Conyza canadensis*), ennek a későbbiekben lehet növényvédelmi jelentősége.
7. Kimutattam, hogy a növényi vírusok eltérő gyakorisággal vannak jelen kezelt és nem kezelt területeken, míg az RNS alapú vírusok inkább az intenzíven kezelt területen vannak jelen, addig a DNS alapú vírusok az extenzíven kezelt területekre jellemzőek

SZABÓ KÁROLY ATTILA

PUBLIKÁCIÓS LISTA

Doktori témához kapcsolódó publikációk

ISI közlemények:

Idegen nyelvű

1. **Szabó KA**, Várallyay E, Demian E, Kiss J, Bálint J, Loxdale HD and Balog A (2019). Local aphid species infestation on invasive weeds affects virus infection of nearest crops under different management systems. *Frontiers in Plant Science* 11(684); <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00684>. (IF. **4,106**). Scimago rank **D1**.
2. **Szabó KA**, Kiss J, Bálint J, Kőszeghi Sz, Loxdale HD, Balog A. (2019). Low and high input agricultural fields have different effects on pest aphid abundance via different invasive alien weed species. *NeoBiota* 43, 27-45. doi: 10.3897/neobiota.43.31553 (IF. **2,488**). Scimago rank **D1**.
3. Balog A, Loxdale HD, Bálint J, Benedek K, **Szabó KA**, Jánosi-Rancz KT, Domokos E. (2017) The arbuscular mycorrhizal fungus *Rhizophagus irregularis* affects arthropods colonization on sweet pepper in both the field and greenhouse. *Journal of Pest Science*, 90(3): 935–946. (IF. **4,402**). Scimago rank **D1**.

Doktori témához nem kapcsolódó publikációk:

ISI közlemények:

Idegen nyelvű:

1. Turoczi, B., Bakonyi, J., **Szabó, KA.**, Bálint, J., Máthé, I., Lányi, Sz., **Balog, A***. (2020). In vitro and in vivo effect of poplar bud extracts on *Phytophthora infestans*: a new effective biological method in potato late blight control. *Plants* 9(2), 217; <https://doi.org/10.3390/plants9020217>. (IF. **2,632**). Scimago rank **D1**.
2. Bálint J., Thiesz R., Nyárádi II, **Szabó KA.** (2013): Field Evaluation of Traditional Apple Cultivars to Induced Diseases and Pests, *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 41(1): 1-6. (IF. **0,476**). Scimago rank **Q3**.
3. Bálint J., Turóczi B., Máthé I., Benedek K., **Szabó KA.**, Balog A. (2014) In Vitro and In Vivo Effect of Poplar Bud (*Populi gemma*) Extracts on Late Blight (*Phytophthora infestans*). *Acta Universitatis Sapientiae Agriculture and Environment*, 6 (2014) 1-8.
4. Bálint J., **Szabó KA**, Tófalvi B., Puia C., Balog A. (2016) Comparing diseases resistance of local and international plum cultivars (*Prunus domestica*) from Eastern Transylvania, Romania. *Journal of Plant Diseases and Protection* 123: 317. doi:10.1007/s41348-016-0048-6 (IF. **0,485**). Scimago rank **Q3**.
5. János Bálint, Botond Turóczi, István Máthé, Klára Benedek, **Károly-Attila Szabó**, Adalbert Balog (2014). In Vitro and In Vivo Effect of Poplar Bud (*Populi gemma*) Extracts on Late Blight (*Phytophthora infestans*). *Acta Universitatis Sapientiae Agriculture and Environment*, 6 1-8

Kumulatív impakt faktor **14,589**

Idézősek száma - 19

h-index - 3

<https://scholar.google.ro/citations?user=SLFbFuIAAAAJ&hl=en>

Konferencia előadások, posztterek:

Idegen nyelvű

Csorba A.B., Putnoky Cs.B., **Szabó K.-A.**, Balog A., Bálint J., 2019): Testing insecticides efficacy on pollen beetles (*Meligethes aeneus* F.), 5. Transilvanian Horticulture and Landscape Studies Conference, Tîrgu-Mureş

Tófalvi B., Balog A., **Szabó K.-A.**, Bálint J., 2017): Comparing disease and pest resistance of local and international plum cultivars (*Prunus domestica*) from Eastern Transylvania, Romania, 4. Transilvanian Horticulture and Landscape Studies Conference, Tîrgu-Mureş

Demeter A., Koncz R., Miklos CS., **Szabó K.-A.**, Bálint J. 2015): The effects of different insecticides on ticks, 3. Transilvanian Horticulture and Landscape Studies Conference, Tîrgu-Mureş.

Kószeghi SZ., Bálint J., **Szabó K.-A.**, Benedek K. 2015): Comparing the effects of different Benzyladenine concentrations on lemon balm (*Melissa officinalis* L.) micropropagation, 3. Transilvanian Horticulture and Landscape Studies Conference, Tîrgu-Mureş.