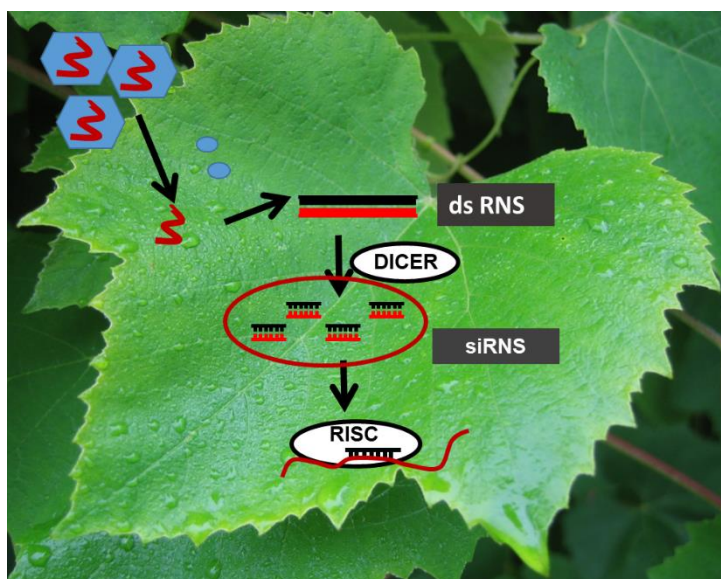


Várallyay Éva

**Növényeket fertőző vírusok diagnosztikája,
gazdanövényre gyakorolt hatásának vizsgálata
és felhasználása a molekuláris biológiában**

Az akadémiai doktori értekezés tézisei



Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóintézet

Gödöllő, 2020

Bevezetés

A vírusok és viroidok a legegyszerűbb saját örökítőanyaggal rendelkező „élőlények” a földön. Életük teljes mértékben a gazdaszervezetre utalt. Alapvető életműködésükhöz minimálisan a genomjuk sokszorozását végző replikázt, a nukleinsavat burkoló köpenyfehérjét és a gazdanövényben való elterjedést segítő mozgási fehérjét kódolják. Az állati vírusokhoz hasonlóan, a növényi vírusok sem képesek minden növényt fertőzni, általában speciális gazdakörrel rendelkeznek. A vírus növényben való sokszorozódása és elterjedése (a fertőzés) kisebb nagyobb mértékben megváltoztatja a növény anyagcsere-folyamatait, ennek eredménye a fertőzés során megjelenő tünetek megjelenése. A gazdaságilag fontos növényeinken megjelenő tünetek, amik akár a gyökeret vagy hajtást, akár a virágot vagy termést változtatják meg, okozzák közvetlenül a vírusfertőzés eredetű gazdasági károkat. Ugyan a vírusfertőzési folyamatokat, az előforduló természetes és mesterséges rezisztenciák mechanizmusát kiterjedten kutatják, a vírusfertőzés tüneteinek hátterében álló folyamatok molekuláris mechanizmusa még nem teljesen ismert.

A vírusfertőzés során a növény nem passzívan szenved el a fertőzést, a vírus replikációja, illetve a növényi RNS-függő RNS polimerázok (RNA dependent RNA polymerase - RdRp) működése során keletkező vírus eredetű kétszálú (double stranded – ds) RNS intermedierek bekapcsolják a növény RNS alapú védekező rendszerét, az RNS interferenciát (RNA interference - RNSi). Ezen RNS alapú szabályozó mechanizmus jelenlétének felfedezése a 2000-es évek elején, éppen a víruskutatásoknak volt köszönhető. Azt, hogy az RNSi szabályozó molekulái 21-24nt hosszú kisRNS-ek (small RNA – sRNS), transzgénikus növények mellett, először vírusfertőzött növényekben mutatták ki. Az RNSi folyamatok vizsgálata során derült fény ugyancsak arra, hogy ennek a rendszernek az egyik lefontosabb funkciója a fertőző vírusok elleni védekezés és hogy a vírusok ezeket az eliminációjukra irányuló folyamatokat blokkolni képesek a genomjukban kódolt virális RNSi gátló fehérjék (viral silencing repressor - VSR) segítségével. A VSR-ek felfedezése és jellemzése komoly segítséget nyújtott a kutatóknak az RNSi folyamatokban résztvevő fehérjék feltérképezésében.

Az antivirális RNSi folyamatok vizsgálata során fény derült az RNSi, mint alapú endogén szabályozás léteire is, így arra, hogy a genomban nem kódoló információként jelen levő hosszabb, rövidebb RNS-sé átíródó szakaszok védelmet nyújtanak a parazita transzpozonok aktivitása ellen, hogy részt vesznek a genom működését meghatározó metilációs mintázat kialakításában, és hogy az élőlények endogén folyamatait is szabályozzák. Az RNS alapú szabályozás megléte pedig új eszközöket adott a genomban kódolt információk meghatározására és a biotechnológia számára is.

Az RNS alapú szabályozás felfedezése mellett az elmúlt 20 év legnagyobb molekuláris biológiát érintő forradalma a szekvenálási technikák fejlődésében zajlott. Az új, nagy-áteresztő képességű (high-throughput sequencing - HTS) szekvenálási technikáknak köszönhetően új dimenziók nyílnak a genomokban kódolt és az adott élet helyzetekben (biotikus és abiotikus stresszek során) kifejeződő információ meghatározására. Mivel a földön élő élőlények genetikai kódja univerzális, a szekvenálási technikák a vírusok kimutatásának diagnosztikai módszereit is alapvetően megváltoztatták. A szekvenálás alapú metagenomikai módszereknek köszönhetően nap, mint nap új vírusokat írnak le, ami nemcsak a vírus rendszer- és nevezéktant állítja folyamatos kihívás elé, hanem újra és újra felveti a kérdést, hogy a vírusfertőzés valóban minden esetben kedvezőtlen hatású-e a gazdaszervezetre nézve?

A vegetatívan szaporított növények esetében a vírusdiagnosztika meghatározó, hiszen ennek érzékenységtől függ az, hogy a szaporítandó növényben jelenlevő összes virális kórokozóról tudomást szerzünk-e. Amennyiben nem, a szaporítás során nemcsak a fajtát, hanem a kórokozót is szaporítani fogjuk, ami alapvetően meghatározza a hosszú évekre, vagy akár évtizedekre tervezett szőlő-, vagy gyümölcsfaültetvény egészségügyi állapotát. Az új, szekvenáláson alapuló diagnosztikai módszerek e kihívásokra is választ jelenthetnek.

Célkitűzések

Doktori értekezésemben azon munkáimat foglaltam össze, melyekben a növényeket fertőző vírusok gazdanövényre gyakorolt hatásának molekuláris mechanizmusát vizsgáltam, célzott fertőzésekben használható rekombináns vírus vektort (VIGS) vektort építettem és használtam, valamint egy új, sRNS HTS-en alapuló diagnosztikai módszert adaptáltam és használtam szőlő és gyümölcsfák vírusfertőzöttségének jellemzésére. Konkrét céljaim a következők voltak:

A vírusok gazdanövényre gyakorolt hatásának tanulmányozásakor:

- 1/ Megvizsgálni azt, hogy vajon a különböző vírusok nem rokon VSR-ek egyaránt képesek-e a miR168 indukcióján keresztül transzlációsan gátolni a gazda Argonaute 1 aktivitását?
- 2/ Bizonyítani, hogy a CymRSV p19 mir168 indukáló képessége független a szupresszor s RNS kötő képességétől, de azzal párhuzamosan képes a gazda vírusfertőzésre indukálódó RNSi folyamatait gátolni.
- 3/ Jellemezni az akut és perzisztens vírusfertőzési folyamatok során bekövetkező génexpressziós és fiziológiai változásokat, melyeknek szerepe lehet a fertőzésre jellemző tünetek kialakulásában.

VIGS vektorokkal kapcsolatos kísérleteimben:

- 4/ A pillangósvirágúak génexpressziós változásainak tanulmányozására alkalmas VIGS vektor készítése.
- 5/ VIGS használatával megvizsgálni azt, hogy a liztharmat rezisztencia gén (mlo) gén csendesítése búza növényen a növények liztharmat-ellenállóságát eredményezi-e?
- 6/ *N. benthamiana*, *S. lycopersicum*, *Capsicum annuum* és *Triticum aestivum* növényeken vizsgálni azt, hogy az elterjedt VIGS vektorok valóban csak a célzott gének szintjét változtatják-e meg?

Az sRNS HTS használatával kapcsolatban:

- 7/ Adaptálni, az sRNS HTS-t és a hozzá kapcsolódó bioinformatikai eljárásokat, mint vírusdiagnosztikai módszert.
- 8/ sRNS HTS-sel felmérni hazánk termő- és alany- szőlőültetvényeinek vírusfertőzöttségét.
- 9/ Csonthéjas gyümölcsfa törzsültetvények vírusfertőzöttségét vizsgálni sRNS HTS-sel.
- 10/ Szekvencia információt gyűjteni a hazánkban leírt, szőlő vonalas mintázottság vírusról

Eredmények – új tudományos eredmények

1. Egymástól független vírusok is képesek a gazdanövény Argonauta 1 fehérjéjének miR168 által történő regulációjára

A növényi vírusok sok esetben indukálják a miR168 miRNS-t, amely a gazdanövényben a mikro RNS szabályozás központi regulátorának és az antivirális géncsendesítésben kulcs szerepet betöltő fehérjéjének, az Argonauta 1-nek a szintjét szabályozza. Munkánkban az mutattuk be, hogy a miR168 által szabályozott AGO1 szint csökkenés hosszú ideig jelen lehet a vírusfertőzött növényben, s mivel így a miRNS alapú szabályozás megváltozik, fontos szerepet játszhat a tünetek kialakulásában. Azt is bebizonyítottuk, hogy a különböző rendszertani osztályokba tartozó RNS vírusokkal való fertőzés során a miR168 gén prekursor expressziójának transzkripciója az, ami indukálódik. Tranziens expressziós vizsgálatokkal azt is bizonyítottuk, hogy a különböző, egymástól függetlenül evolválódott géncsendesítést gátló fehérjék mindegyike képes volt a miR168 expressziójának indukálására. A miR168 indukciója a fertőzés korai szakaszában történik és a gazda endogen AGO1 fehérje szintjének csökkenését okozza. Az, hogy az egymással nem rokon vírusok mindegyike képes a miR168 szint indukciójára, azt mutatja, hogy ez az aktivitás hozzájárulhat a gazdanövény védekezési reakcióinak csökkentéséhez annak érdekében, hogy a vírusfertőzés hosszútávon sikeres lehessen.

É. Várallyay and Z. Havelda (2013): Unrelated viral suppressors of RNA silencing mediate the control of ARGONAUTE1 level. **Molecular Plant Pathology** 14: (6) pp. 567-575. IF:4,485, idegen hivatkozás: 39

2. A hatékony szupresszor aktivitáshoz a p19 géncsendesítést gátló fehérje egymástól független tulajdonságaira van szükség

A növényi vírusok általános tulajdonsága, hogy géncsendesítést gátló fehérjéik aktivitásának köszönhetően, a miR168 mikro RNS indukcióján keresztül, képesek szabályozni a gazdanövény Argonauta 1 fehérjéjének szintjét, ami a gazda RNS alapú védekezésének kulcs molekulája. Ahhoz, hogy a géncsendesítést gátló fehérjék miR168 indukciójában betöltött szerepét vizsgáljuk, a tombusvírusok p19-ének olyan mutánsát állítottuk elő (p19-3M), amely nem képes fő funkciójára, a sRNS-ek kötésére. A p19-3M mutáns vírussal való fertőzés során a vad típussal való fertőzéshez képest enyhébb tüneteket figyeltünk meg, annak ellenére, hogy nagymennyiségű vírus eredetű szabad sRNS keletkezett. A vírusfertőzött növények vizsgálata azt mutatta, hogy a p19-3M indukálja a miR168 szintet és ezen keresztül csökkenti az antivirális AGO1 szintjét, ami megnövekedett virális RNS szintet eredményez. Ugyanezt az eredményt kaptuk akkor is, ha a p19 sRNS kötő kapacitását a fertőzés során a defektív interferáló RNS-ekről keletkező sRNS-ekkel telítettük. Eredményeink azt mutatják, hogy a p19 géncsendesítést gátló fehérje, a vírusfertőzés hatékonysága érdekében két, egymástól független funkcióján, a sRNS kötésen és

a miR168 mediált AGO1 szabályzáson, keresztül is képes a gazda géncsendesítési folyamatait gátolni.

É. Várallyay, E. Oláh and Z. Havelda (2013): Independent paralleled functions of p19 plant viral suppressor of RNA silencing required for effective suppressor activity. **Nucleic Acid Research** 42: pp. 599-608. **IF:9,112**, idegen hivatkozás: **20**

3. Az akut vagy perzisztens vírusfertőzések során kialakuló gén-expressziós és fiziológiai változásoknak fontos szerepe van a fertőzés során kialakuló tünetek kialakulásában

A növényeket igen sok vírus fertőzheti, akár egy időben is, de a vírusok különböző életciklusa miatt csupán a fertőzések töredékének van végzetes hatása a gazda sorsára. Az akut fertőzéskor súlyos tünetek jelennek meg, ami akár a gazdanövény pusztulását is okozhatja. Ezzel szemben perzisztens fertőzéskor a vírus sokáig túlél a növényi gazdában, akár tünet nélkül vagy enyhe tüneteket okozva. A növényi vírusok által okozott akut fertőzések igen komoly gazdasági és ökológiai kárt okoznak, így kiemelten fontos lenne annak megértése, hogy milyen alapvető különbségek vannak az akut és a perzisztens fertőzések között. Kísérleteinkben teljes transzkriptom szinten vizsgáltuk a különböző vírusok által okozott génexpressziós változásokat *Nicotiana benthamiana* modellnövényben, és *Solanum lycopersicum*-ban, egy gazdaságilag fontos lágyszárú vírusgazdában. Megmutattuk, hogy a perzisztens fertőzéshez képest az akut fertőzésekre jellemző a gazdanövény gének expressziójának jelentős csökkenése (shut-off), a fotoszintézis kapcsolt gének gátlása és a stressz gének indukciója. Azt is bizonyítottuk, hogy ezek a változások nem a fertőzés által okozott nekrosis következményei, és függetlenek a virális géncsendesítést gátló fehérje jelenlététől.

A fertőzött növényekről készült hőkamerás felvételek és klorofill fluoreszcencia mérések eredményei jól korreláltak a megfigyelt molekuláris váltásokkal. A gazdaságilag sokkal fenyegetőbb akut fertőzés során tapasztalt fiziológiai változások alapjául szolgálhatnának egy, a gazdaságilag fontos növények vírusfertőzését monitorozó, távérzékelési rendszer kialakításához.

Mivel az általunk azonosított molekuláris és fiziológiai változások az adott vírusfertőzésre jellemzőek, az így nyert ismeretek felhasználhatóak lesznek az újonnan leírt vírusok megjelenésének kockázatelemzésekor is.

R. Pesti, L. Kontra, K. Paul, I. Vass, T. Csorba, Z. Havelda and **Éva Várallyay*** (2019) Differential gene expression and physiological changes during acute or persistent plant virus interactions may contribute to viral symptom differences. **PLoS ONE** 14(5): e0216618. doi.org/10.1371/journal.pone.0216618. **IF:2,776** idegen hivatkozás: **1**

4. VIGS vektor fejlesztése a pillangósvirágúakat fertőző SHMV tobamovírusból

A pillangósok modellnövénye, a *Medicago truncatula*, számos szempontból nagyon jól jellemzett, de vírusszorgaként csak kevésbé ismert. A növényi vírusokat, mint vektorokat használva nemcsak fehérjéket termeltethetünk a növényi gazdában, hanem VIGS vektorokat készíthetünk belőlük. Ezeket a vektorokat használva pedig gyorsan nyerhetünk információt egyszerre akár sok gén funkciójáról.

Számos *N. benthamianát* fertőző VIGS vektort fejlesztettek már, de ezek közül később csak viszonylag keveset lehetett más gazdanövényen használni.

A *Sunnehemp mozaik vírus* (SHMV) szisztemikusan, tünetek nélkül fertőzi a *M. truncatulát*. Ahhoz, hogy az SHMV-ből egy a *M. truncatula* gének funkciójának vizsgálatára alkalmas VIGS vektort fejlesszünk az SHMV klónozásával egy fertőzőképes transzkriptumot hoztunk létre. Munkán során két különböző VIGS vektort állítottunk elő. Az egyikben a klónozó régió a köpenyfehérje gén SHMV promoterének megduplázásával íródik át, míg a másik esetben ez a duplikált promoter egy rokon vírusból, a ToMV-ből származik annak elkerülésére, hogy a vírus replikációja során a duplikált promoter kirekombinálódjon a vírusból. Az így elkészített VIGS vektorok hatékonyan expresszálták és csendesítették is a GPF-t, és *N. benthamiana* növényen hatékonyan csendesítették a Phytoene deszaturázt is. *M. truncatula* növényen azonban csak az egyik vektor bizonyult hatékonynak.

É. Várallyay*, Zs. Lichner, J. Sáfrány, Z. Havelda, P. Salamon, Gy. Bisztray and J. Burgyán (2010): Development of a virus induced gene silencing vector from a legumes infecting tobamovirus **Acta Biologica Hungarica** 61(4):457-69. IF:0,793, idegen hivatkozás: 8

5. Vírus indukált géncsendesítéssel kialakított lisztharmatrezisztencia búzán

A lisztharmat a gabonafélék egyik legnagyobb károkat okozó betegsége. Genetikai vizsgálatok kimutatták, hogy az Mlo gén hiánya az árpán széles spektrumú lisztharmat rezisztenciát eredményez. E gén hiányának köszönhető, hogy a köztermesztésben levő árpafajták nagy része rezisztens e kórokozóval szemben. Munkánk során a célunk az volt, hogy a búza Mlo-t géncsendesítéssel inaktiváljuk és vizsgáljuk azt, hogy e gén hiányában kialakul-e a széles spektrumú lisztharmat-rezisztencia. Mivel a búza nehezen transzformálható, első lépésben mi VIGS-szel akartuk ellenőrizni, hogy munkahipotézisünk igaz-e: az Mlo gén csendesítésével kialakítható-e lisztharmat-rezisztencia búzán? Laboratóriumunkban adaptáltuk az árpa csíkos mozaik vírus alapú VIGS vektort és létrehoztunk egy rekombináns vírust, mely tartalmazta a búza Mlo gén egy darabját. A rekombináns vírussal fertőzve a búzát azt vártuk, hogy mivel a vírus endogén búza Mlo darabot is tartalmaz, a géncsendesítés nemcsak a vírus ellen,

hanem az endogén Mlo ellen is beindul majd. Ennek ellenőrzésére a növényekből RNS kivonatokat készítettünk és megvizsgáltuk, hogy keletkeznek-e a folyamatra jellemző Mlo specifikus sRNS-ek. Azt találtuk, hogy azok a növények, melyeket sikerült a vírussal megfertőznünk, nemcsak vírus, hanem Mlo specifikus siRNS-t is tartalmaznak, a géncsendesítés tehát az endogén Mlo ellen is aktiválódott. Ezen növények leveleit lisztharmattal megfertőzve azt tapasztaltuk, hogy azokon a leveleken, melyekben megjelent az Mlo specifikus sRNS, a lisztharmat spórák megrekedtek az elsődleges csírázás stádiumában, sem másodlagos micéliumot, sem spóratartókat nem fejlesztettek. A kontroll – Mlo RNS-t nem tartalmazó – vírusokkal fertőzött búzalevelek lisztharmatfertőzésével összehasonlítva megállapítottuk, hogy az Mlo géncsendesített búzák ellenállóbbak lettek a lisztharmatfertőzéssel szemben.

Várallyay E*, Giczey G., Burgyán J. (2012): Virus induced gene silencing of Mlo genes induces powdery mildew resistance in *Triticum aestivum*. **Archives of Virology** 157:1345–1350. **IF:2,03**, idegen hivatkozás: 24

6. VIGS vektorok használatakor nem célzott változások is történhetnek a gazda génexpressziójában

A vírus-indukált géncsendesítés (VIGS) során rekombináns vírusokat használunk a gazdanövény génjeinek funkciójának azonosítására, de sokszor figyelmen kívül hagyjuk azt, hogy a vírusvektor is befolyásolhatja a gazdanövény génexpresszióját. Munkánk során az ilyen, nem célzott változásokat vizsgáltuk annak érdekében, hogy megállapíthassuk, hogy milyen gyakran fordul ez elő. Különböző VIGS vektorok fertőzése során endogén gének expresszióját Northern blottal vizsgálva monitoroztuk négy különböző gazdanövény génexpressziós változásait. Eredményeink azt mutatták, hogy meglehetősen gyakran következnek be nem célzott változások. Ráadásul a bekövetkező génexpressziós változások során igen sok esetben olyan gének kifejeződése módosul, melyeket a kísérletek kiértékelésekor elterjedten referencia génként használnak. Azt is bemutattuk, hogy a TRV VIGS során a vektorba épített idegen szekvencia jelenléte önmagában, így a belső PDS kontrol használatakor is, nem célzott változást okoz a génkifejeződés vizsgált szintjein. Eredményeink rávilágítanak arra, hogy ugyan a VIGS nagyon hatékony és hasznos eszköz a gének funkciójának nagy-átersztőképeségű vizsgálatakor, a VIGS vektor önmagában, hasonlóan más patogénekhez, szignifikáns génexpressziós változásokat is okozhat. Így kísérleteink során nemcsak a vizsgált, hanem a referenciaként használt gének kiválasztásánál is körültekintő figyelemmel kell eljárunk.

Oláh, R. Pesti, D. Taller, Z. Havelda and **É. Várallyay*** (2016) Non-targeted effects of VIGS vectors on host endogenous gene expression, **Archives of Virology** 161:2387–2393 doi:10.1007/s00705-016-2921-9. **IF:2,058**, idegen hivatkozás: 2

7. Az sRNS HTS, mint vírusdiagnosztikai módszer optimalizálása fásszárú növények fertőzöttségének vizsgálatára

Évelő fásszárú növényeinket, mint a szőlő és a gyümölcsfák, igen sokféle vírus fertőzheti meg különböző kombinációkban. Mivel ezeket a növényeket a fajtafenntartás miatt vegetatívan szaporítjuk, a szaporítóanyag (mind a nemes, mind az alany) vírusmentessége kiemelt jelentőséggel bír az ültetvény élettartamára és profitabilitására. A szekvenálási technológiák gyors fejlődése új utat nyitott a metagenomikai alapú vírusdiagnosztikai módszerek számára. A gazdanövényben, a vírusfertőzés során indukálódó védekező folyamatok során keletkező sRNSHTS-sel való meghatározása alkalmas eszköz arra, hogy gyakorlatilag a növényben jelen levő összes virális kórokozóról tudomást szerezzünk, és így új, a korábbiaknál érzékenyebb diagnosztizálásra ad lehetőséget. A módszer a sRNS-ek Illumina platformon történő szekvenálásán és a kapott eredmények bioinformatikai elemzésén alapul. Könyvfejezetünkben lépésről lépésre ismertettük az új diagnosztikai eljárást, a fásszárú növényekből történő RNS tisztítással kezdődően az eredmények független módszerrel való visszaigazolásáig.

Czotter, N., Molnár, J., Pesti, R., Demián, E., Baráth, D., Varga, T., **Várallyay, É.*** (2018) Use of siRNAs for Diagnosis of Viruses Associated to Woody Plants in Nurseries and Stock Collections. In: *Viral Metagenomics: **Methods and Protocols***. (Pantaleo, V. and Chiumenti, M., eds.). New York, NY: Springer New York, pp. 115-130. doi.org/10.1007/978-1-4939-7683-6_9 idegen hivatkozás: 1

8. sRNS HTS-sel határoztuk meg több termő és szőlő alany ültetvény viromját

Mivel a vírusfertőzések ellen nem rendelkezünk hatékony növényvédelmi eszközökkel, terjedésüket kontrollálni szükséges, főként egy olyan, vegetatívan szaporított növény esetén, mint a szőlő. A metagenomikán alapuló vírusdiagnosztika abban különleges, hogy a vizsgált növényben jelenlevő összes kórokozó kimutatására alkalmas, így használata lecsökkenti a fertőzött szaporítóanyag használatának kockázatát az új ültetvények telepítésekor. Munkánkban, ezen új, nagyátersztőképeségű technikák egy speciális változatát, a sRNS-ek szekvenálásán alapuló vírusdiagnosztikát használtuk fel arra, hogy meghatározzuk Magyarország termő szőlő ültetvényeinek viromját. A vírus eredetű sRNS-ek szekvenálásával nemcsak a rutinszerűen vizsgált vírusokat jelenlétét mutattuk ki, hanem olyanokat is, melyek jelenléte hazánkban eddig nem volt ismert. A vírusok előfordulása nem mutatott összefüggést az ültetvény korával és különböző vírus izolátumok filogenetikai vizsgálata is arra utalt, hogy a fertőzések elsődleges oka a fertőzött szaporítóanyag használat volt. Eredményeink, melyeket független molekuláris biológiai módszerekkel is igazoltunk, további kérdéseket vetnek fel, melyeket feltétlenül tisztáznunk kell,

mielőtt a módszert megbízható, rutin tesztként használnánk a szőlő vírusdiagnosztikájában.

N. Czotter, J. Molnar, E. Szabó, E. Demian, L. Kontra, I. Baksa, Gy. Szittya, L. Kocsis, T. Deak, Gy. Bisztray, G. E. Tusnady, J. Burgyan and **E. Varallyay*** (2018) NGS of virus-derived small RNAs as a diagnostic method used to determine viromes of Hungarian vineyards., **Frontiers in Microbiology** 9, 122 doi.org/10.3389/fmicb.2018.00122. **IF:4,259**, idegen hivatkozás: **8**

A szőlőt több, mint 80 vírus és viroid fertőzheti meg, jelenlétük komoly termésveszteséget és az ültetvény leromlását okozhatja. Magyarország termő szőlőültetvényeinek felmérése során kapott eredményeink arra utaltak, hogy a kórokozók terjedésének hátterében legtöbbször a fertőzött szaporítóanyag áll. Megvizsgáltuk, hogy vajon a felhasznált alanyok is lehetnek-e ezeknek a fertőzéseknek a forrásai, így 17 alanyültetvény és két alanyfajta gyűjtemény virológiai felmérést végeztük el sRNS HTS-sel. A vírusok jelenlétét RT-PCR-rel is teszteltük. Eredményeink azt mutatják, hogy bár az alanyfajta gyűjteményekben kimutathatóak voltak különböző vírusok, az ültetvények ugyanakkor mentesek voltak azoktól a vírusoktól, melyek jelenlétét hatóságilag rendszeresen ellenőrzik.

A pécsi fajtagyűjteményekben így azonosítottuk az ausztrál szőlő viroidot is, amit addig egy eddig hazánkban nem jelenlevő kórokozónak tartottunk. Azok a vírusok, melyek jelenlétét nem vizsgálják rutinszerűen (szőlő faszöveti barázdáltság vírus, szőlő Pinot gris vírus és a szőlő Syrah vírus-1) majdnem minden ültetvény minden fajtájában jelen voltak. Mivel azonban egy-egy ültetvényen jelen voltak az adott vírussal fertőzött, illetve nem fertőzött fajták is, nagyon valószínű, hogy a fertőzés az alanyültetvények esetében is a fertőzött szaporítóanyagból eredt. A mintázás során több tünetmentes alany ültetvényen is megtaláltuk a szőlő Pinot gris vírus tünetekkel kapcsolt változatát is, ami azért lehet fontos, mert jelenléte érzékeny fajtákon előidézhetheti a vírussal kapcsolt megbetegedés előfordulását.

Demian, E., Jaksz-Czotter, N., Molnar, J., Tusnady, G. E., Kocsis, L. and **Varallyay, E.*** (2020) Grapevine rootstocks can be a source of infection with non-regulated viruses. *European Journal of Plant Pathology* doi.org/10.1007/s10658-020-01942-w. **IF:1,774** idegen hivatkozás:-

9. Kajszi törzsültetvények vizsgálata sRNS HTS-el

A gyümölcsfák, mint a kajszi is, az ültetvényekben akár évtizedekig ki vannak téve vírusok támadásainak. Mivel szaporításuk vegetatív módon történik, ez a veszély nemcsak termőkorban jelentkezik, hanem már a szaporításuk is jelentős forrása lehet a fertőzéseknek. A nagy-áteresztőképességű szekvenáláson alapuló diagnosztikai módszerek lehetőséget adnak arra, hogy a növényben levő összes kórokozó jelenlétére fényt derítsünk. E módszerek egy speciális változatát, a sRNS HTS-t használva vizsgáltuk különböző kajszi fajták izolátorházából és szabadföldi törzsültetvényről származó levélmintáit. Eredményeinkben először azonosítottuk a cseresznye vírus A-t (CVA) és a cseresznye aprógyümölcsűség vírust (LChV1) Magyarországon. A HTS eredményeit független módszerekkel: RT-PCR és a CVA esetében Northern blottal is igazoltuk. A klónozott

vírusspecifikus PCR terméket szekvenciasorrendjének Sanger szekvenálása lehetővé tette filogenetikai rokonságuk vizsgálatát. Bár e kórokozó jelenléte hazánkban eddig nem volt ismert, ahhoz, hogy felmérjük, hogy jelenlétük jelent-e bármilyen kockázatot és hozzájárul-e tünetek kialakulásához, még további vizsgálatok szükségesek.

Baráth, D.; Jaksa-Czotter, N.; Molnár, J.; Varga, T.; Balássy, J.; Szabó, L.K.; Kirilla, Z.; Tusnády, G.E.; Preininger, É.; **Várallyay, É.*** (2018) Small RNA NGS Revealed the Presence of Cherry Virus A and Little Cherry Virus 1 on Apricots in Hungary. **Viruses** 10, 318. doi.org/10.3390/v10060318. **IF:3,811** idegen hivatkozás: 2

10. A Szőlő vonalas mintázottság vírus szekvenciájának meghatározása sRNS HTS-sel

A szőlő vonalas mintázottság egy feltételezetten vírus okozta betegség, melyet 1987-ben Lehoczky János írt le Magyarországon. Lehoczky János nemcsak leírta a megbetegedést, hanem a vírusos tőkékről egy indikátor fajtára oltva a potenciális kórokozót fenntartotta azt Kecskeméten a patológiai gyűjteményben. A tőke azóta is fellelhető ott, bár tünetek nem minden évben jelentkeztek rajta. Felkeresve a kecskeméti patogénkertet, a GLPV-t feltételezetten tartalmazó tőkéről mintát szedtünk és azt a célt tűztük ki, hogy sRNS HTS-sel szekvencia információt gyűjtünk és molekuláris alapon bizonyítjuk a vírus jelenlétét. A vírusos tőkéről gyűjtött mintákból RNS-t tisztítottunk, amit három különböző HTS módszerrel: sRNS, RNS és dsRNS HTS módszerrel vizsgáltunk tovább. Olasz együttműködésben sikerült a vírus mindhárom RNS-ének szekvenciáját meghatározni. Ennek filogenetikai vizsgálata bizonyította, hogy a vírus egy anulavírus. jelenléte független módszerekkel: Rt-PCR és Norther blottal is igazoltuk nemcsak az eredetileg a fenntartásra használt tőkében, hanem érzékeny fajtákra átvitt oltványokban is. A GLPV szekvenciája lehetővé tette a mediterrán szőlő fajtagyűjteményben való jelenlétének vizsgálatát, amely szerint a vírus ezekben a tőkékben nincs jelen. A GLPV fertőzött szőlőben azonosítottunk egy, az RNS 2-ről keletkezett cirkuláris RNS-t. Ez felveti annak a lehetőségét, hogy hatékony VSR hiányában az anulavírusok egy alternatív stratégiát fejlesztettek ki: nem egy fehérjét, hanem egy cirkuláris RNS-t kódolnak, ami segítheti a növény RNSi alapú védekező reakcióinak gátlását a vírusfertőzés során.

Elbeaino, T.; Kontra, L.; Demian, E.; Jaksa-Czotter, N.; Slimen, A.B.; Fabian, R.; Lazar, J.; Tamisier, L.; Digiario, M.; Massart, S.; **Varallyay, E.*** (2020) Complete Sequence, Genome Organization and Molecular Detection of Grapevine Line Pattern Virus, a New Putative Anulavirus Infecting Grapevine. **Viruses**, 12, 602. doi.org/10.3390/v12060602. **IF:3,811** idegen hivatkozás:-

Új tudományos eredmények

1/ Igazoltuk, hogy különböző vírusok nem rokon VSR fehérjéi egyaránt képesek a miR168 indukcióján keresztül transzlációsán gátolni a gazda AGO1 aktivitását.

2/ Kimutattuk, hogy aCIRV p19 VSR fehérjéjének miR168 indukáló képessége független az sRNS kötő képességétől, de azzal párhuzamosan együttműködve képes a gazda RNSi alapú védekezésifolyamatait hatékonyan gátolni.

3/ Akut és perzisztens vírusfertőzési folyamatokat mircoarray és mRNS HTS technikákat használva, *N. benthamiana* és *S. lycopersicum* növényeken, v kimutattuk, hogy akut fertőzés során a gazdagének igen nagy részének expressziós állapota változik. A fotoszintézis gének nagymértékű expressziós változását fiziológiai mérésekkel is párhuzamba állítottuk. Perzisztens vírusfertőzések során kimutattuk, hogy gazdagének expressziós állapota csak kis mértékben változik és gazdanövény stresszének expressziójának indukciója ezekben a fertőzésekben elmarad.

4/ Működőképes VIGS vektort készítettem a pillangósvirágúakat fertőző SHMV tobamovírusból.

5/ SHMV VIGS kísérletekkel igazoltuk, hogy az *MLO* gén csendesítése búza növényen a növények lisztharmat-ellenállóságát eredményezi.

6/ Elterjedt VIGS vektorokat használva *N. benthamiana*, *S. lycopersicum*, *C. annuum* és *T. aestivum* növények fertőzésére bemutattuk, hogy alkalmazásuk során sok esetben nemcsak a célzott gének szintje változik meg hanem a molekuláris vizsgálatokban gyakran használt referencia géneké is, így használatuk különös körültekintéssel végezhető csak.

7/ Adaptáltuk az sRNS HTS-t és a kapcsolódó bioinformatikai eljárásokat, mint vírusdiagnosztikai módszert, és részt vettünk a módszer hazai használatának bevezetésében.

8/ sRNS HTS módszerrel virológiai felmérést végeztünk hazánk termő- és szőlőalany ültetvényein, miközben nemcsak először írtuk le több szőlőt fertőző vírus: GPGV, GSyV-1, GVS) jelenlétét hazánkban, hanem arra a következtetésre jutottunk, hogy a vírusfertőzések elsődlegesen a fertőzött szaporítóanyaggal terjednek.

9/ Csonthéjas gyümölcsfa törzsültetvények sRNS HTS-sel történő vírusdiagnosztikájával először írtuk le a CVA, a LChV1 hazai előfordulását.

10/ sRNS HTS-sel szekvencia információt gyűjtöttünk a több, mint 30 éve leírt GLPV mindhárom RNS-éről és így bizonyítottuk, hogy a vírus valóban létezik.

Az értekezés eredményeit bemutató közlemények összesített impakt faktora: **IF:34,879, idegen hivatkozások:104**

Összefoglalás

Kísérleteimben vírusfertőzött növényeket vizsgáltam molekuláris biológiai módszerekkel. Lágyszárú modellnövényeken kutattam, hogy milyen folyamatok állhatnak a vírusfertőzések okozta tünetek kialakulásának hátterében, hiszen ezek a tünetek azok, amik a vírusfertőzésekhez köthető gazdasági károkat okozzák.

A vírusfertőzés tüneteinek kialakulását eredményező molekuláris változások vizsgálata során megállapítottam, hogy a vírusok VSR fehérjéi indukálják az AGO1 szintjét szabályozó miR168 expresszióját, ami a növényi védekezőreakció hatékonyságának csökkenését idézi elő, és e tulajdonság független a speciális gátló funkciójuktól, legtöbb esetben az sRNS kötő képességüktől. Akut és perzisztens vírusfertőzési folyamatokat vizsgálva kimutattuk, hogy akut fertőzés során a gazdagének expressziója tömegesen és eltérően változik, míg a perzisztens vírusfertőzések során ezek a változások nagyban korlátozottak és a gazda stresszgénjeinek expressziója is elmarad. Ezek a visszafogottabb változások a perzisztens fertőzések esetén lehetővé tehetik a gazda és a vírus békés egymás mellett élését, ami evolúciós léptékben akár a gazda és a vírus számára lönyös lehet.

A VIGS vektorokkal kapcsolatos kutatásaim során VIGS vektort építettem egy pillangósvirágúakat fertőző vírusból, és BSMV VIGS vektor használatával igazoltam, hogy az *MLO* gén csendesítése búzában lisztharmatrezisztenciát eredményez. Azt is bemutattam, hogy a VIGS vektorok használata során a vizsgált növényben nem célzott génexpressziós változások is történhetnek, amelyek megnehezíthetik a kísérletek kiértékelését.

Adaptáltam az sRNS-ek nagy-áteresztőképességű szekvenálását és a kapott eredmények bioinformatikai elemzését fásszárúak vírusfertőzöttségének diagnosztizálására. A módszer használatával felmértem több termő és alany szőlőültetvény, valamint kajszi ültetvények vírusfertőzöttségét. A felmérés során több vírus Magyarországi jelenlétét először állapítottam meg. Bemutattam, hogy a módszer arra is alkalmas, hogy a régen, hagyományos módszerekkel azonosított vírusokról szekvenciainformációt szerezzünk. Az ültetvények felmérése során vizsgált vírusvariánsok rokonsági vizsgálatai alapján arra a következtetésre jutottam, hogy a fertőzések hátterében legtöbbször a fertőzött szaporítóanyag használata áll.

Az sRNS-ek nagy-áteresztőképességű szekvenálását, mint vírusdiagnosztikai módszert, sikerült meghonosítanunk és most már egyre több kérdést vizsgálhatunk rutinszerű használatával.

A PhD fokozatom megszerzése óta 40 közleményben foglaltam össze a legfontosabb eredményeimet (IF: 111,949, idegen hivatkozás:1234). Az értekezés alapját a 12.1 fejezetben felsorolt 10 impakt faktoros közlemény és egy könyvfejezet képezte, melyekben 2 esetben első szerző, 9 esetben levelező szerző voltam. Eredményeim nemzetközi konferencián 22 előadás és 28 poszter formájában kerültek bemutatásra, míg hazai konferencián 86 előadás és 13 poszter szerepelt társszerzőségemmel.

A doktori értekezés fokozatszerzésre való benyújtásáig 2 PhD hallgatóm szerzett fokozatot és 23 szakdolgozat készült témavezetésemmel.

Az értekezéshez kapcsolódó további közlemények.

E.Farkas, N. Czotter, R. Lózsa, T. Dula, I. Ember, **É. Várallyay**, E. Szegedi (2014) Conventional PCR primers for the detection of grapevine pathogens disseminated by propagating material. **International Journal of Horticultural Sciences** 20(3-4):69-80

Czotter N, Deák T, Lázár J, Bisztray Gy, Burgyán J, **Várallyay Éva** (2014): Diagnosztikai módszerek fejlesztése a szőlő vírus fertőzöttségének megállapítására. **Növényvédelem** 50(12): 547-555.

Czotter, N., Manduláné Farkas, E., Lózsa, R., Ember, I., Szűcsné Varga, G., **Várallyay, É.**, Szegedi, E. (2015). Primers designed for the detection of grapevine pathogens spreading with propagating material by quantitative real-time PCR. **International Journal of Horticultural Science** 21 (1–2): 21–30.

Czotter, N, E. Szabó, J. Molnár, L. Kocsis, J., T. Deák, Gy. Bisztray, G. E. Tusnády, J. Burgyán, **É. Várallyay**. (2015) First description of Grapevine Syrah virus-1 in vineyards of Hungary, *Journal of Plant Pathology* 97 (S), S74.

Czotter Nikoletta, Szabó Emese, Molnár János, Pesti Réka, Oláh Enikő, Deák Tamás, Bisztray György, Tusnády E. Gábor, Kocsis László, Burgyán József és **Várallyay Éva** (2015) Szőlőültetvényeink metagenomikai diagnosztikája új, hazánkban eddig nem leírt vírusok jelenlétét mutatta ki. **Növényvédelem** 51 (12), 550-559.

Czotter N, Molnár J, Deák T, Tusnády E. G, Kocsis L, Burgyán J, **Várallyay É.** (2016) Magyarországon megjelenő új szőlő vírusok azonosítása kisRNS-ek szekvenálásán alapuló metagenomikai módszerekkel, **Georgikon for Agriculture** 20 (1), 34-38.

Czotter Nikolett, Czákó Kamilla, Várallyay Éva és Szegedi Ernő (2016): Molekuláris diagnosztikai módszerek a szőlő szaporítóanyaggal terjedő károsítóinak kimutatására, **Kertgazdaság** 48(2), 37-44.

Czotter Nikoletta, Demián Emese, Molnár János, Tusnády E. Gábor, Kocsis László, Burgyán József és **Várallyay Éva** (2016): szőlő vírusdiagnosztika új megközelítésben, **Borászati füzetek** 26(4) 22-27.

Endre Barta, Zsófia Bánfalvi, Zoltán Havelda, László Hiripi, Zoltán Jeney, János Kiss, Balázs Kolics, Ferenc Marincs, Dániel Silhavy, **Éva Várallyay** (2016) Agricultural genomics: an overview of next generation sequencing projects at the NARIC-Agricultural Biotechnology Institute, **Hungarian Agricultural Research** 25:10-21

Baráth Dániel, Czotter Nikoletta, Bükki Alexandra, Oláh Beatrix, Balássy Júlia, Varga Tünde, Szabó Luca, Tóth Tímea, Kirilla Zoltán, Kocsis László, Preininger Éva, Lakatos Tamás,

Várallyay Éva (2018): Új csonthéjasokat fertőző vírusok kimutatása Magyarországon, **Georgikon for Agriculture**, 22 (1): 28-33.

Massart, S., Chiumenti, M., De Jonghe, K., Glover, R., Haegeman, A., Koloniuk, I., Komínek, P., Kreuze, J., Kutnjak, D., Lotos, L., Maclot, F., Maliogka, V.I., Maree, H., Olivier, T., Olmos, A., Pooggin, M., Reynard, J.-S.S., Ruiz-García, A.B., Safarova, D., Schneeberger, P.H.H., Sela, N., Turco, S., Vainio, E.J., **Várallyai, E.**, Verdin, E., Westenberg, M., Brostaux, Y. and Candresse, T. (2018) Virus detection by high-throughput sequencing of small RNAs: large scale performance testing of sequence analysis strategies. *Phytopathology*. 2018 Aug 2. doi: 10.1094/PHYTO-02-18-0067-R. **IF:3,264** idegen hivatkozás: **6**

A dolgozat témájához szorosan nem kapcsolódó, a PhD megszerzése után született fontosabb közlemények

Malik Z, Amir S, Pal G, Buzás Zs, **Várallyay É**, Antal J, Szilágyi L, Vekey K, Asbóth B, Patthy A, Gráf, L (1999): Proteinase inhibitors from desert locust, *Schistocerca gregaria*: engineering of both P (1) and P (1)' residues converts a potent chymotrypsin inhibitor to a potent trypsin inhibitor. **Biochim Biophys Acta**. 1434(1):143-50. **IF:2,59**, idegen hivatkozás: **29**

Molnar A, Csorba T, Lakatos L, **Várallyay E**, Lacomme C, Burgyan J.(2005):Plant virus-derived small interfering RNAs originate predominantly from highly structured single-stranded viral RNAs. **Journal of Virology** 79(12):7812-8. **IF:5,178**, idegen hivatkozás: **256**

Valoczi A, **Várallyay E**, Kauppinen S, Burgyan J, Havelda Z. (2006): Spatio-temporal accumulation of microRNAs is highly coordinated in developing plant tissues. **Plant Journal** 47(1):140-51. **IF:6,565**, idegen hivatkozás: **89**

Várallyay E, Burgyán J, Havelda Z. (2007): Detection of microRNAs by northern blot analyses using LNA probes. **Methods** 43(2):140-145. **IF:3,667**, idegen hivatkozás: **49**

Várallyay E, Burgyán J, Havelda Z. (2008): MicroRNA detection by northern blotting using locked nucleic acid probes. **Nature Protocols**. 3(2):190-6. **IF:4,17**, idegen hivatkozás: **274**

Havelda Z., **Várallyay É**+, Válóczy A., Burgyán, J. (2008): Plant virus infection induced persistent host gene down regulation in systemically infected leaves **Plant Journal** 55(2):278-288. **IF:6,493**, idegen hivatkozás: **49**

Várallyay É*, Válóczy A., Burgyán, J., Havelda Zoltán (2009): Vírusos fertőzés indukálta génexpressziós változások vizsgálata növényekben. **Növényvédelem** 45 (3), 109-114.

Várallyay Éva*, Vida Gyula, Giczey Gábor, Veisz Ottó, Burgyán József és Havelda Zoltán (2010): Egyszerű festési eljárás egyszikűek liszttharmatfertőzésének megállapítására és alkalmazása búzafajták jellemzésére. **Növényvédelem** 46 (5), 233-239.

Salamon Pál, **Várallyay Éva**, Nemes Katalin és Salánki Katalin (2010): Termesztett és vadon élő burgonyafélék vírusos betegségei és vírusai magyarországon. 7. Az uborka mozaik vírus (cucumber mosaic virus, cmv) fehér törzsének előfordulása dohányon (*Nicotiana tabacum* l.) És a cmv-ntw izolátum tulajdonságai **Növényvédelem** 46 (5), 218-225.

Éva Várallyay, Anna Válóczy, Ákos Ágyi, József Burgyán and Zoltán Havelda (2010): Plant virus-mediated induction of miR168 is associated with repression of ARGONAUTE1 accumulation **EMBO J**. 20;29(20):3507-19. **IF:10,124**, idegen hivatkozás: **122**

Várallyay E, Havelda Z. (2011): Detection of microRNAs in Plants by In Situ Hybridisation. **Methods Mol Biol**. 732:9-23. idegen hivatkozás: **5**

Zsolt Czimmerer, Julianna Hulvely, Zoltan Simandi, **Eva Varallyay**, Zoltan Havelda, Erzsebet Szabo, Attila Varga, Balazs Dezso, Maria Balogh, Attila Horvath, Balint Domokos, Zsolt Torok, Laszlo Nagy, Balint L. Balint (2013). A versatile method to design stem-loop primer-based quantitative PCR assays for detecting small regulatory RNA molecules. **PLoS One**. 2013;8(1):e55168. doi: 10.1371/journal.pone.0055168. **IF:3,534**, idegen hivatkozás: **44**

Péter Vilmos, Ágnes Bujna, Milán Szuperák, Zoltán Havelda, **Éva Várallyay**, János Szabad, Lucie Kucerova, Kálmán Somogyi, Ildikó Kristó, Tamás Lukácsovich, Ferenc Jankovics, László Henn, Miklós Erdélyi (2013): The miR-282 *Drosophila melanogaster* microRNA gene regulates viability, longevity, and egg production. **Genetics** 195: (2) pp. 469-480. **IF:4,886**, idegen hivatkozás: **44**

Kis A, Tholt G, Ivanics M, **Várallyay É**, Jenes B, Havelda Z. (2015). Polycistronic artificial miRNA-mediated resistance to Wheat dwarf virus in barley is highly efficient at low temperature. **Molecular Plant Pathology**, 2015 Jul 1. doi: 10.1111/mpp.12291. **IF:4,697** idegen hivatkozás: **36**

Baksa I, Nagy T, Barta E, Havelda Z, **Várallyay É**, Silhavy D, Burgyán J, Szittya G (2015) Identification of *Nicotiana benthamiana* microRNAs and their targets using high throughput sequencing and degradome analysis. **BMC Genomics**. 2015 Dec 1;16(1):1025. doi: 10.1186/s12864-015-2209-6. **IF:3,867**, idegen hivatkozás: **18**

Zsolt Czimmerer; Tamas Varga; Mate Kiss; Cesaré Ovando Vázquez; Quang Minh Doan-Xuan; Dominik Rückerl; Sudhir Gopal Tattikota; Xin Yan; Zsuzsanna S. Nagy; Bence Daniel; Szilard Poliska; Attila Horvath; Gergely Nagy; **Eva Varallyay**; Matthew N. Poy; Judith E. Allen; Zsolt Bacso; Cei Abreu-Goodger; Laszlo Nagy. The IL4-STAT6 signaling axis establishes a conserved microRNA signature in human and mouse macrophages regulating cell survival via miR-342-3p (2016) **Genome Medicine** 8:63. **IF:7,071**, idegen hivatkozás: **19**

Gábor Reuter, **Éva Várallyay**, Dániel Baráth, Gábor Földvári, Sándor Szekeres, Ákos Boros, Beatrix Kapusinszky, Eric Delwart, Péter Pankovics (2019) Analysis of a novel RNA virus in a wild northern white-breasted hedgehog (*Erinaceus roumanicus*.) **Archives of Virology**, doi.org/10.1007/s00705-019-04414-7. **IF:2,261** idegen hivatkozás: -

Ezek impakt faktora: **66,086**, idegen hivatkozása: **1006**

Első, utolsó, vagy levelezőszerzős közlemények impakt faktora a dolgozatban tárgyalt közleményeken kívül: **17,961**, idegen hivatkozása: **445**

Szakmai irányítással készült PhD, MSc és BSc dolgozatok

PhD fokozatok: Oláh Enikő (2018), Jaksa-Czotter Nikoletta (2019)

MSc tézisek: Sasvári Zsuzsanna (1994), Sáfrány Judit (2002), Maria Lima Rui (2010), Oláh Enikő (2012), Kuglics Alexandra (2014), Balássy Júlia (2016), Varga Tünde (2016), Houhou Fakhreddine (2016), Amina Fakhreddine (2017), Oláh Beatrix (2017), Kenessey Zoárd Vitold (2017), Estefania Pena (2018), Dino Muratovic (2018), Bükki Alexandra (2018), Petres Martin (2018), Czakó Dávid (2018), Mohammad Omran (2019), Fürtön Alíz (2019), Fábíán Richárd (2020), Vajda Zsófia (2020).

BSc tézisek: Czakó Kamilla (2018), Holczbauer Alíz (2020), Mátyus Nikolett (2020)

Köszönetnyilvánítás

Kutatásaimat az egyetemi diploma megkezdése után, 1990-től a gödöllői Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpontban végzem. PhD dolgozatom és gyerekeim megszületése után a biokémiai munka folytatása helyett Burgyán József Virologia csoportjában kezdtem új kutatásokba. A Virologiai csoport után a Havelda Zoltán által vezetett Növényi Fejlődésbiológiai csoportban folytattam munkámat egészen 2013-ig, amikor saját csoportot alakíthattam.

Köszönöm az intézet vezetőinek: Balázs Ervinnek, Nagy Ferencnek, Kis György Botondnak, Burgyán Józsefnek, Bősze Zsuzsannának, Olasz Ferencnek, Posta Katalinnak, hogy lehetővé tették, hogy az intézetben dolgozhassak.

Kutatásaimhoz az AM, az NKFIH: PD 78049, K 108718, K 115625, K 127951, a GAK2005: Tripatol, és a KTIA_AIK_12 pályázatok nyújtottak anyagi fedezetet. Nemzetközi kapcsolataim megerősödését a COST DIVAS pályázat segítette.

Szeretném megköszönni Burgyán Józsefnek a bizalmat és a lehetőséget, hogy felvett a csoportjába és később csoport alakítással bízott meg – mindkét esetben egy elnyert pályázattal segítve a kutatások elindulását.

Havelda Zoltánnak, férjemnek, köszönöm a közös kutatásokkal eltelt éveket, mely kutatási pályafutásom legeredményesebb időszakának bizonyult – miközben gyerekeinket is sikerült felnevelnünk.

Köszönöm PhD hallgatóimnak: Jaksa-Czotter Nikinek, Demián Emesének, Baráth Daninak, Pesti Rékának, Oláh Enikőnek, hogy tanultak tőlem, és segítettek abban, hogy a csoportunk szakmai sikereket érjen el és baráti, szakmai kapcsolatokat alakítson ki.

Köszönöm szakdolgozóim érdeklődését, kitartását.

Köszönöm Poldán Erzsike, Szigeti Anikó és Carmen Ilescu kiváló asszisztenciáját, ami nélkül nagyon nehéz lett volna.

Köszönöm a Növényi Fejlődésbiológia és Virologia csoport tagjainak folyamatos segítségét. Salamon Palinak a virológia megszerettetését.

Köszönöm csoportvezető kollegáim, barátaim: Silhavy Dani, Hiripi Laci, Szittya Gyuri, Csorba Tibi társaságát.

Köszönöm együttműködő partnereim, a NAIK SZBKI és GYDKI, a Pannon Egyetem Georgikon Kar Kertészeti Tanszék és Növényvédelmi Intézet, a Pécsi Egyetem SZBKI, a NÉBIH Velencei Virologiai labor dolgozóinak szakmai együttműködését és barátságát.

Köszönöm a doktori értekezés kritikus javítását Oláh Robinak és Havelda Zolinak.

Köszönöm Zoli szüleinek a folyamatos támogatást.

Nagy köszönet gyerekeimnek: Lucának és Marcellnek a sok türelemért.

”Gyökerek nélkül nem lehet repülni.” Köszönöm szüleimnek, hogy biztató, inspiráló szeretettel vettek körül és állandó biztonságot nyújtottak.