

## Válasz opponenseim doktori értekezésemről készült bírálatára

Először is nagyon szeretném megköszönni opponenseimnek, hogy elvállalták doktori értekezésem bírálatát és köszönöm elismerő szavaikat szakmai teljesítményemről. Igen resteltem, hogy az elkészült értekezés minősége elmaradt az elvárttól.

Az értekezést igyekeztem a lehető legkörültekintőbben elkészíteni, ami úgy látszik nem sikerült maradéktalanul. Sajnálom, hogy ilyen sok, jogosan kifogásolt hiba (túlzó, sokszor nem megfelelő mozaikszo használat, helytelenül leírt, rosszul toldalékolt vírusnév, az angol kifejezések nem megfelelően használt magyar megfelelő használata, a tézisek és a dolgozat eltérő címe, az ékezetes betűk nem konzekvens használata, rossz szimbólumokkal írt irodalmi hivatkozás) benne maradt a végső változatban.

Köszönöm, hogy ezen hibák ellenére opponenseim elismerik új tudományos eredményeimet és ezek alapján javasolják számomra az MTA doktori cím odaítélését.

Lukács Noémi és Putnoky Péter is megkérdezte, hogy vajon milyen mechanizmus alapján lehetne magyarázni a különböző típusú VSR fehérjék azonos hatását a miR168 indukcióra? Született-e kísérletek lezárása óta olyan irodalmi adat, amely a megfigyelésekre magyarázatot ad?

Ez egy nagyon izgalma és jó kérdés!

A miR168-on keresztül történő AGO1 szabályozás egy alternatív útvonal, mely a VSR-ek elsődleges géncsendesítést gátló funkcióján kívül is képes a gazdanövény válaszüreakcióját blokkolni. Rendkívül érdekes nemcsak az, hogy mennyire elterjedt ez a „másodlagos” funkció, de az is, hogy vajon mi ennek a mechanizmusa.

A miR168 indukciója a prekursor transzkripció aktivitásának eredménye. Az *Arabidopsis thaliana* miR168a prekursorának promóterében négy abszcizinsav válasz elem (abscisic acid-responsive element - ABRE) található. Ezen ABRE motívumoknak, melyek a miR168 promóterében különböző növényfajok esetében is megtalálhatóak, szerepe van az abszcizinsav sav kezelés és abiotikus stresszek során szintén indukálódó miR168 expresszió kifejeződésében (doi: 10.1104/pp.111.188789). Ezen szabályozóelemek jelenléte felveti annak lehetőségét, hogy a VSR-ek is ezeken keresztül fejtik ki indukáló hatásukat.

A vizsgált VSR-ek mindegyike indukálta a miR168 expresszióját tranziens kísérletekben, és a vizsgált vírusok szintén elérték ezt a hatást különböző növényi gazdáiban. A vizsgált VSR-ek, mint fehérjék, azonban nagyon különbözőek, nem találtunk bennük semmi közös vonást, olyat, ami a miR168 prekursor transzkripcióját esetleg indukálhatná. Ugyan azt nem tudjuk, hogy a miR168-on keresztül történő AGO1 gátlás hogyan valósul meg, az biztos, hogy ennek kulcsfontosságú jelentősége van a vírusfertőzés során az antivirális géncsendesítés gátlásában. A mi munkánkon kívül nem talákoztunk olyan kutatással, melyben a VSR-ek miR168 indukciós képességét vizsgálták volna. Ismert azonban, hogy a VSR-ek más, több különböző mechanizmussal képesek az AGO funkcióját gátlani. Az uborkamozzaik vírus Fny törzsének 2b fehérje az AGO PAZ doménjével lép kölcsönhatásba, a BYV P0 fehérjéje a még nem töltött AGO1 degradációját iniciálja. A VSR-ek egy másik nagy csoportja (ide tartozik a TCV CP-(p38) fehérjéje is), pedig a GW motívumaikon keresztül képesek mimikálni a nem vírusfertőzött sejt endogén, AGO-hoz kötődő fehérjéit, és ennek segítségével kötődnek az AGO-hoz gátolva annak aktivitását.

A kísérleteink óta eltelt időben számos vírus VSR-ét jellemezték. Az irodalmat átböngészve azonban nem találtuk nyomát annak, hogy akár a mechanizmust, akár az újonnan jellemzett VSR-ek miR168 indukáló tulajdonságát vizsgálták volna. Ahhoz, hogy a mechanizmusra bármilyen hipotézist állítsunk fel, amely meglétét kísérletesen vizsgálni lehet, jó lenne minél több, eltérő funkcióval rendelkező VSR miR168 indukáló képességét vizsgálni. Terveink szerint a jövőben vizsgálunk majd fásszárúakat fertőző vírusokban jelenlevő VSR-eket olyan szempontból, hogy vajon mennyire hasonlítanak, vagy különböznek eltérő gazdanövényekben. Ezen VSR-ek miR168 indukáló képességét vizsgálva azt is meg lehet majd állapítani, hogy ez az indukáló képesség függ-e, vagy független a különböző gazdanövényeken található variánsok esetében. Az esetleg található eltérések segíthetnek olyan kísérletek tervezésében, melyek közelebb visznek minket a mechanizmus felderítéséhez.

Az tehát, hogy a miR168 indukció végül is mennyire elterjedt a VSR-ek között és milyen mechanizmuson keresztül történik nagyon érdekes lenne vizsgálni a jövőben.

Egy másik, többször előforduló kérdés, hogy: *„Milyen standardizálásokat ill. bioinformatikai változtatásokat javasolna az sRNS HTS rutin diagnosztikai bevezetésének elősegítésére? A sRNS HTS technika nem túl munkaigényes és költséges ahhoz, hogy elfogadott diagnosztikai rutin eljárás legyen?”*

Egy adott gazdanövényben az adott földrajzi területen jelenlevő vírusok kimutatására az sRNS HTS és a nagy-áteresztőképességű RNS szekvenálás kombinációja ad majd megoldást.

Utóbbi esetben a jelenlevő kórokozó (vírus, viroid) RNS genomjának szekvenciáját, illetve DNS vírusok esetében a transzkriptálódott mRNS szekvenciáját állapítjuk meg. E módszerek esetében azonban a probléma sokszor az, hogy a szekvenált RNS-ek csak nagyon kis %-a keletkezik a jelenlevő vírusokról Szerencsére egyre több fásszárú növényi gazda genomja ismert, így a bioinformatikai módszerekkel viszonylag egyszerűen lehet majd szűrni a nem gazda specifikus RNS-ekre, melyek között a vírus RNS-eket is keresni lehet majd. További segítség lehet egy speciális, ún. „ribodepleció” RNS szekvenálási eljárás használata. Ebben az esetben egy növényi riboszómális RNS-ekre speciális ellenanyaggal a szekvenáló könyvtár készítése előtt eltávolítják az igen nagy mennyiségben jelenlevő rRNS-eket, így a „leolvasott” szekvenciák nagyobb része lesz számunkra hasznos információ. Ebben az esetben azonban a könyvtárkészítés válik bonyolultabbá, ami jelentősen megemeli a szekvenálás költségét. A módszerek további, eddig még nem megoldott problémája, hogy egyelőre nem sikerült minden vírusra és gazdanövényre egyaránt megbízhatóan működő bioinformatikai munkafolyamatot „pipeline”-t optimalizálni. Ugyan vannak próbálkozások a pipeline-ok standardizálására, de egyelőre még nem született optimális megoldás. Egy nemzetközi felmérés, melyben mi is részt vettünk során 21 csoport kapott 10 sRNS HTS adatszettet, amiben növényi vírusokat kellett előrejelezni. Az eredmény azt mutatta, hogy a különböző pipeline-ok használata még ugyanazonon minták esetében is nagyon eltérő eredményt eredményezhet (doi: 10.1094/PHYTO-02-18-0067-R).

Mai véleményem szerint az sRNS HTS valóban túl munkaigényes és költséges ahhoz, hogy rutin diagnosztikai vizsgálat legyen.

Rutin diagnosztikai célokra azt gondolom, hogy a jövőben továbbra is inkább az RT-PCR-ek, vagy az izotermális amplifikáción alapuló, akár a terepen is használható LAMP módszer terjed majd el.

A következőkben opponenseim további kérdéseire adok választ. A követhetőség kedvéért pontokba szedtem válaszaimat és az adott pontnál idézem az opponensem által felvetett problémát és ez után adok rá választ.

## Válasz Dr. Tóbiás István doktori értekezéséről készült opponensi véleményére

Nagyon köszönöm Tóbiás József igazán körültekintő, precíz bírálatát. Kérdéseire az alábbi válaszokat adom.

1/A vírusnevek helyesírására nem könnyű feladat és sokszor kaptam már kritikát miatta a cikkek bírálata során is – Éppen ezért többször és alaposan áttanulmányoztam az erre vonatkozó szabályokat, mely szerint jelenleg:

„A virus name should never be italicized, even when it includes the name of a host species or genus, and should be written in lower case. This ensures that it is distinguishable from a species name, which otherwise might be identical. The first letters of words in a virus name, including the first word, should only begin with a capital when these words are proper nouns (including host genus names but not virus genus names) or start a sentence.” Fordításban: A vírus nevét sohasem írjuk dőlt betűvel, még akkor sem, ha a gazda faj, vagy genus nevét tartalmazza és mindig kisbetűvel írjuk. Ez biztosítja azt, hogy a fajnevektől meg tudjuk különböztetni – egyébként megegyeznének. A vírus nevének első betűje csak akkor lehet nagybetű, ha az tulajdonnév (ez vonatkozik a gazda genus névre, de nem a vírus genus nevére), vagy mondat kezdődik vele.” (<https://talk.ictvonline.org/information/w/faq/386/how-to-write-virus-species-and-other-taxa-names>)

Ezt a szabályt próbáltam követni a dolgozatban, de sajnos néhol követtem el hibákat.

2/” *A Tartalomjegyzékben nem szerencsés a rövidítések alkalmazása, a HTS helyett jobb lett volna kiírni a magyar megfelelőjét. A 6.2.3 és a 6.2.4 fejezetek esetén konklúziót írt, elég lett volna a cím.*”

Opponensemnek igaza van, a tartalomjegyzékben és a fejezetcímekben helyesebb lett volna kiírni a szavakat és nem rövidítéseket használni. A tudományos közlemények fejezetcímei esetében különböző stratégiákat figyelhetünk meg. Új, és számomra nagyon szimpatikus irányzat, amikor a konklúzió maga a fejezetcím. A 6.2.3 és a 6.2.4 fejezetek esetén én ezt az új irányzatot követtem.

3/” *Az irodalmi áttekintés nagyon egyenetlenre sikerült. A növényi virológia (rövid) története részt gyakorlatilag irodalmi hivatkozás nélkül tekintette át. Ebben a részben csupán két hivatkozás van, mindkettő az RNS interferenciával kapcsolatos.*”

Az akadémiai doktori értekezéseknek nincsenek jól meghatározott formai követelményei. Mivel dolgozatomban a hangsúlyt a saját eredményeim bemutatására szerettem volna fordítani, a terjedelmi korlátok betartása határt szabott az irodalmi bevezetőnek. Ezt szem előtt tartva a fejezet célja nem is a vonatkozó irodalmak teljes áttekintése volt, hanem csak egy valóban bevezető, magyarázó fejezet elkészítése.

4/” *A növény védekezése a vírusfertőzésekkel szemben – RNS interferencia fejezet nagyon egyoldalú és hiányos. Nincsenek megemlítve a növényi rezisztencia (R) fehérjék, a hyperszenzitív reakció (HR), a szisztemikusan szerzett rezisztencia (SAR), a tünetmentes extrém rezisztencia (burgonya X vírus és burgonya kölcsönhatásban) vagy a reaktív oxigénformák. Érdekes lenne tárgyalni, hogy van-e valamilyen kapcsolat az RNS alapú rezisztencia és a fenti rezisztencia mechanizmusok között? Ebben a részben már 12 irodalmi hivatkozás szerepel.*”

A növény védekezése a vírusfertőzésekkel szemben – RNS interferencia fejezetben valóban „csak” az RNS interferenciára vonatkozó irodalmat szerettem volna áttekinteni – ami így sem fért bele kellő részletességgel a dolgozatba. Az RNS interferencia és fenti

rezisztenciamechanizmusok vizsgálata és tárgyalása ugyan nagyon érdekes, de túlmutatott volna a dolgozat keretein.

5/” *A „HTS” részben 2 Massari et al hivatkozás szerepel, melyek közül az egyik helytelen dátummal, 2017 helyett 2018 szerepel.”*

Valóban elírás történt, a HTS részben Massart hivatkozásánál valóban a 2017 a helyes.

6/” *A Növényeket fertőző vírusok és viroidok részben 4 irodalmi hivatkozás van, ezek mindegyike viroidra vonatkozik.”*

A megfigyelés helyes. Ennek oka az, hogy míg a viroidokról a bevezető későbbi részén már nem esik szó, fontosnak tartottam ezt a pár irodalmat itt szerepeltetni. A vírusokról később, a 3.9 fejezetben részletesen esik szó, az ezekre vonatkozó hivatkozások, ott szerepelnek.

6/” *A 3.8 fejezetben írja „A molekuláris vizsgálatokat legtöbbször ELISA tesztekkel végzik...”, itt valószínűleg diagnosztikai vizsgálatokra gondolt.”*

Igen, ez a mondat a diagnosztikai módszerek fejezetben szerepel, valóban a diagnosztikai vizsgálatokra gondoltam.

7/” *A kutatásokban szereplő vírusok áttekintésénél nagyon jól szemlélteti a genomszerveződést, de jó lett volna egységesen minden ábrán feltüntetni a viriont is.”*

A virionok szemléltetése nem minden esetben került fel az adott vírust bemutató ábrára. Egyetértek opponensemvel, hogy valóban egységesebb lett volna, ha minden ábra ezt is tartalmazza.

8/” *A vegetatív szaporítást bemutató 3. ábrát elhagytam volna, mivel az nem való MTA disszertációba.”*

A 3.ábra valóban egyszerű, de nagyon jól szemlélteti a virológiai felméréseink fontosságát és végső következtetését, azt, hogy sokszor a fertőzések oka a fertőzött szaporítóanyag használat, így fontosnak tartottam, hogy szerepeljen a dolgozatban.

9/” *A szőlőt fertőző vírusok részben nagyon helyesen tünetcsoportokat állított fel, azonban ebből a felsorolásból hiányzik a sárga foltok, mozaik tünettípus, holott ide tartoznak olyan jelentős szőlőpatogén vírusok tünetei, mint a szőlő króm mozaik vírus, a paradicsom fekete gyűrűsfoltosság vírus, vagy a szőlő fertőző leromlás vírus és az Arabisz mozaik vírus sárga törzse és az érsárgulás törzse.”*

A szőlőt fertőző vírusok bemutatása fejezetben valóban szerepelnek azok a tünetcsoportok, melyek alapján régebben a szőlőt fertőző vírusokat csoportosították. Mivel azonban azonos tünetek is kialakulhatnak különböző vírusok miatt, illetve egyes tünetek kialakulásának oka több különböző vírus együttes fertőzése ez az osztályozás egyre bonyolultabb. Éppen ezért a részletes ismertetést már az ICTV rendszertani kategóriái alapján készítettem el. A hiányolt vírusok a 3.9.3.1 részben, a szőlőt fertőző nepovírusok fejezetben kerültek tárgyalásra

10/” *Az Anyagok és módszerek részben a szerző szavaival élve „dióhéjban” foglalta össze a molekuláris technikákat, ami esetünkben elfogadható, mert megadta a hozzáférhetőséget is. Több puffer összetételét megadja, kivéve a „kisRNS” puffert. Használja a „mock fertőzés” fogalmát, holott ez mock inokuláció.”*

Valóban a kis RNS puffer összetétele kimaradt. Ez a következő: 50% deionizált formamid, 0.5% SDS, 5xSSPE, 5xDenhardt's (50x es Invitrogen reagensből hígítva), 20 mg/ml hering sperma DNS.

A mock inokuláció/fertőzés esetében valóban a mock fertőzés összetételt használtam, lehet, hogy a mock inokuláció tényleg helyesebb lett volna.

11/” *A jelölt használja az akut és perzisztens vírusfertőzések fogalmát, ami véleményem szerint nem fejezi ki a valós helyzetet. Kísérletei során kompatibilis gazda-parazita kapcsolatokat vizsgál, melyeknél mindkét esetben a kapcsolat tartósan fennáll (tehát perzisztens). A betegség lefolyása egyik esetben gyors (akut), a másik esetben lassú (az akut ellentéte a krónikus). Bár ezek a fogalmak elsősorban a humán gyógyászatban használatosak, a növényvirológiában hazánkban V. Németh Mária használta ezeket a vírustünetek és a betegség lefolyásának jellemzésére.”*

Az akut és perzisztens fertőzés elnevezések miatt folyamatosan sok kritikát kaptam/kapok. A kísérleteink szempontjából nem a fertőzés lefolyásának ideje, hanem a fertőzést kísérő tünetek súlyossága alapján különítettük el a fertőzéseket. A perzisztens fertőzés helyett használt krónikus fertőzés kifejezés használata is egy jó megoldásnak tűnik.

12/” *A levéltünetek nem láthatók a 40., 45., 56., 61. és 63. ábrán, a 68. és 69. ábra nincs kellőképpen megmagyarázva, a 85. és 86. ábrán a felirat eltolódott és a Northern hibridizációt bemutató panelek az esetek nagy részében nem vagy alig értékelhetők.”*

Sajnos a hivatkozott ábrákon szereplő képek valóban nagyon kicsik és a tünetek nem láthatóak, a kicsinyítés a minőség rovására ment. A 68,69.ábra magyarázatra szorul – ezt részletesebb ábrafelirattal kellett volna szerepeltetni. (Az ezeken az ábrákon szereplő oszlopdiagrammok a vizsgált 18 kis RNS könyvtárban szekvenált olvasatok méreteloszlását mutatják %-ban.). A 85. ábrán valóban eltolódott a felirat. A dolgozatban szereplő Northern blottok esetében próbáltam az ábraaláírásban megadni az értelmezésükhöz szükséges összes információt, de sajnos úgy látszik, hogy ez több esetben nem sikerült.

13/” *A filogenetikai elemzéseket megjelenítő ábránál jó lett volna feltüntetni, hogy a különböző génbanki azonosítók, kódszámok mit takarnak. Sajnos az ábránál általában nem szerepel, hogy milyen szekvenciák vagy szekvencia részletek lettek összehasonlítva.”*

A filogenetikai fák esetében az adott ábrán általában csak egy vírus különböző variánsainak szekvenciája szerepel a génbanki azonosító és az ország megjelölésével. Az általunk meghatározott szekvenciákat színessel jelöltem. Valóban jó lett volna egy sokkal részletesebb magyarázat, felírva az összes felhasznált génbanki tétel eredetét, de sajnos ez, térbeli korlátok miatt, kimaradt. Sajnos szintén térbeli korlátok miatt kimaradt a használt indítószekvenciák jegyzéke, ezt egy függelékként lehetett volna a dolgozatban szerepeltetni. Az indítószekvenciákat tartalmazó táblázatok a szakcikkekben szerelnek, és ezekben mindig feltüntettük, hogy használatuk során az adott vírus mely része sokszorozódik. Valóban szerencsés lett volna a filogenetikai fáknál ezt külön jelezni.

14/” *A 103. ábra és az aláírás külön oldalra került.”*

Sajnos valóban. Nagyon próbáltam ügyelni, hogy ilyen ne forduljon elő, de sajnos úgy tűnik nem voltam elég figyelmes.

15/” A 46. oldalon ír a glutation-S-transzferáz, a „patogén kapcsolt”(PR), SAR és hősokk (HSP) gének vizsgálatáról. Itt nem világos, hogy melyik géneket vizsgálta, hiszen a GST géneket, a kórfolyamathoz kapcsolt (PR) géneket és a HSP géneket is nagy géncsaládok kódolják, a SAR pedig nem egy gén hanem egy rezisztencia forma.”

A GST, PR, HSP és a SAR gének (SAR néven is vannak gének annotálva mind a *N. benthamiana*, mind a *S. lycopersicum* genomjában) valóban sokfélék, egész géncsaládok kódolják. Ezen géncsalád számos képviselőjének expressziós változását tudtuk a microarray chippen, vagy az RNS szekvenálás során beazonosítani – ezt jelzik a kis diagrammon szereplő oszlopok. Ezek közül jeleztük azokat sárgával, melyekkel a Northern hibridizáció során használt radioaktív próbák kimutatni képesek.

16/” A 47. oldalon a vírustünetek felsorolásánál hiányzik a nekrózis, illetve a levél méretének csökkenése helyett inkább növekedésgátlás figyelhető meg.”

Opponensemnek igaza van, sajnos valóban hiányos, illetve pontatlan volt a felsorolás.

17/” Kérdésem, hogy a betegségtünetek (levélfelület lisztharmat borítottsága) is csökkentek-e a géncsendesítés következtében, továbbá a gátlás tartós volt, vagy csak késleltette a fertőzés lefolyását?”

A géncsendesítés a fertőzés előtt történt, a levélre jutott spórák nem tudtak csírázni, így a lisztharmat fertőzés következtében nem is alakult ki lisztharmat borítottság. Mivel a lisztharmatfertőzési tesztet leválasztott leveleken standardizálva végeztük a hatást nem tudtuk hosszabb ideig vizsgálni. Később azonban más kutatócsoportok sikeresen alkalmazott genomszerkesztéssel elő tudtak nullmutáns búza növényeket állítani, melyek szélesspektrumú rezisztenciával rendelkeztek (doi: 10.1038/nbt.2969., doi: 10.1111/pbi.12631.)

18/” A 6.4.2 fejezet az Anyag és módszer részbe tartozik. Nem tartom szerencsésnek a begyűjtött minták kódszámozását és módszerét. A leírásból nem derül ki, hogy a random begyűjtött minták esetén feljegyezték-e a táblaszámot, a sor és tőke számát az esetleges ismételhetség miatt. A korábbi felmérések során szokás volt a minták jelölését úgy végezni, hogy az utaljon a mintavétel helyére is (például BB - Balatonboglár, S- Sopron, To – Tokaj, Ta – Tarcal, P – Pécs, Sze - Szekszárd stb), ami jelentősen növelte az érthetőséget.”

Az anyag módszer fejezetbe az sRNS HTS módszertani leírása került, a mintavételezés leírását szerencsésebbnek tartottam közvetlenül az eredmények bemutatása előtt szerepeltetni, segítve a könnyebb beazonosítást. A kódszámozást a mintavétel helye – borászat, illetve fajta együttes figyelembevételével alakítottuk ki – lehet, hogy lehetett volna szerencsésebb kódot találni. Természetesen a mintagyűjtés random volta nem jelenti azt, hogy nem jegyeztük fel a sor és tőkeszámot, ami alapján a mintázott tőkék visszakereshetőek. Ezek a táblázatok szintén rendelkezésre állnak, de terjedelmi korlátok miatt ezeket a táblázatokat nem szerepeltettük a dolgozatban. A random mintavétel mellett szól, hogy nemcsak az esetlegesen tünetet okozó, hanem a látens fertőzést okozó vírusok jelenlétéről is szeretnénk volna információt nyerni – ahogy ez végül sikerült is.

19/” A továbbiakban javasolnám Lehoczky János mintagyűjtési és kódszámozási módszerének átvételét, amellyel a mintagyűjtés pontosan megismételhető.”

Mindent szívesen veszek át, ami Lehoczky János hagyatéka – sajnos az ő mintavételezési és kódszámozási módszerét nem ismerem. Amennyiben lenne erről információ nagyon megköszönném opponensemnek, a megosztaná velem.

20/” *A kevert mintákból sokszor nem mutatható ki vírus, de egyedi mintákból igen. Hány minta keverhető össze, hogy biztosan detektálható legyen a vírus? A vírusok között van-e különbség ebben a tekintetben?*”

Tapasztalataink szerint sRNS HTS-sel a vírusok többsége 10 minta keverékéből már kimutatható, ha csak egy minta fertőzött, de ez valóban vírusrólként változik. Vannak sRNS HTS-sel nagyon rosszul kimutatható vírusok, ezek közé tartozik a GRSPaV (és ma már tudjuk, hogy a szőlő vírus T (GVT is)). Azt, hogy ezen vírusokról miért nem keletkezik sok kis RNS egyelőre nem tudjuk. A virális siRNS-ek mennyisége a növény RNS interferencia folyamatainak, az antivirális DICER aktivitásának, függvényében változik. Elképzelhető, hogy ezek a vírusok (esetleg az általuk kódolt géncsendesítést gátló molekuláik aktivitásának köszönhetően) gátolják a DICER-ek aktivitását, és így a kis RNS-ek keletkezését – de ennek vizsgálata még további kísérleteket igényel.

21/” *A szőlőültetvények vírusfertőzöttségének tapasztalatait és az eredmények összefoglalását a 6.4.2.27 (Szőlő sárga foltosság viroid) fejezetben tárgyalja. Ez megért volna egy külön fejezetet is. Ebben a részben írja „Így sikerült leírnunk számos hazánkban újonnan megjelent virális kórokozót, melyek meglepő módon országszerte széles körben elterjedtek voltak, és az egyes újonnan megjelenő vírusok variánsai esetében nagymértékű genetikai variabilitást tapasztaltunk.”*

Sajnos egy szerkesztési hiba miatt történt az, hogy a 6.4.2.17 fejezet után nem egy új fejezetben tárgyaltam a teljes 6.4.2 fejezet eredményeit.

22/” *Az újonnan megjelent vírusok között felsorolja a Grapevine rupestris vein feathering virus- t is, melyet a 12DF 100 éves ültetvényről is kimutatott. Mikor és hogyan kerülhetett oda?*”

Az újonnan megjelent vírusok elnevezés helyett, az ebbe a kategóriába sorolt vírusokra, ma már a napjainkban leírt új vírusok elnevezést használnám. Ez az elnevezés pontosan leírná azt, hogy ugyan ezen vírusokat csak napjainkban azonosították, nagyon valószínű, hogy már igen régen jelen vannak hazánkban. A GRVFFV nehézkes kimutathatósága és látens jelenléte miatt nagyon valószínű, hogy az európai szőlőültetvények egy régóta jelenlevő kórokozója, ezért lehet jelen egy több, mint 100 éves ültetvényben.

23/” *A szőlő alanyültetvények virológiai felmérésénél 30 fajtáról gyűjtöttek mintát, de nem írja le, hogy melyek voltak azok. A 98. oldalon hibásan hivatkozik a 9. ábrára, itt valójában a 12. ábráról van szó.*”

Valóban, sajnálatos módon az alanyültetvények felvételezéséről szóló táblázat, melyben az ültetvények és a fajtagyűjtemények mintázott fajtáinak felsorolása megtalálható, sem fért bele a dolgozatba. A szakcikkünkben természetesen megtalálható, az értekezésben esetleg függelékként szerepeltethettem volna. Igen, sajnos rossz ábrát hivatkoztam.

24/” *Az egész országra kiterjedt felmérések során hazánkban elsőként 3 új vírus előfordulását igazolta. Az újonnan kimutatott vírusok kórtani szerepe azonban nem tisztázott. Nem ismert, hogy okoznak-e tüneteket és azokra mi jellemző. Az új kórokozók leírása esetén elvárt Koch*

*posztulátumok teljesülésének igazolása is várat magára. Vizsgálatai ugyanakkor bizonyítják, hogy a korábban leggyakrabban előforduló és a legtöbb gondot okozó szőlő fertőző leromlás vírus nem mutatható ki, tehát a vírusmentesítési program hatékony volt."*

Valóban, a HTS-sel azonosított vírusok szerepe a tünetek kialakításában, és a Koch posztulátum teljesítése új kihívások elé állítja a virológusokat. Különösen igaz ez fásszárú növények esetében, ahol a fertőzés nagyon nehezen kivitelezhető, a tünetek kialakulásához sokszor évekre van szükség és gyakran fordul elő, hogy önmagában a kórokozó nem, csak más kórokozókkal együtt okoz tüneteket. Ezen kérdések megválaszolása a jelen növényvirológiai kutatások egyik komoly megválaszolandó kérdése lesz. Igen fontosnak tartom opponensem helyes következtetését arról, hogy a felméréseink során igen kevés esetben azonosítottuk vizsgálatköteles vírust, így a vírusmentesítési program hatékonynak mondható. Fontos azonban megjegyezni, hogy e kedvező állapot fenntartásához alapvetően fontos a törzsültetvények virológiai státuszának folyamatos monitorozása, mint ahogy az is, hogy az új ültetvények telepítése kontrollált, magas biológiai értéket képviselő, vírusmentes szaporítóanyagból történjen.

*26/" A disszertáció nagy értékének tartom, hogy a korábban Lehoczky János által izolált új vírus (szőlő vonalas mintázottság vírus, Grapevine line pattern virus) elsődleges szerkezetét és rendszertani helyét meghatározta."*

Köszönöm opponensem elismerő szavait. A GLPV rendszertani besorolásának megállapítása és szabályozása az ICTV feladata. A GLPV besorolását és a vírus nevének hivatalos megállapítását kérvényeztem az ICTV-nél, hiszen a folyamat vége az lesz, amikor a GLPV, mint ICTV által elismert vírus hivatalos lesz. Reményeim szerint ez még az idén rögzítésre kerül.

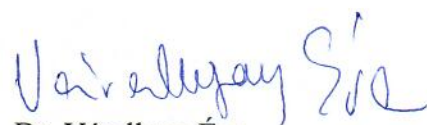
*27/" Javasolnám a továbbiakban Lehoczky János által a világon először izolált szőlő króm mozaik vírus elsődleges szerkezetének meghatározását is. Az eredeti izolátum átoltvá megtalálható volt a kecskeméti gyűjteményben."*

A szőlő króm mozaik vírus két RNS-ének szekvenciáját egy francia kutatócsoportban 1989-ben meghatározta és ezt eredményként a Nucleic Acid Researchben publikálták: [doi.org/10.1093/nar/17.19.7795](https://doi.org/10.1093/nar/17.19.7795) és [doi.org/10.1093/nar/17.19.7809](https://doi.org/10.1093/nar/17.19.7809).

Ettől függetlenül a kecskeméti patogénkertben megtalálható szőlővírusok véleményem szerint is nagy értéket képviselnek. Sajnos a kert állapota folyamatosan romlik, a jelenlevő tőkékről meglevő információ sem teljes. Megfontolandó lenne a jelenlevő tőkék áttelepítése Gödöllőre, ahol az új MATE keretein belül a Szőlészeti és Borászati és a Növényvédelmi intézet közösen gondoskodhatna róla, és végezhetne érdekes és értékes kutatásokat a felhasználásukkal.

Végül szeretném újra megköszönni Tóbiás Istvánnak, hogy elvállalta és elkészítette dolgozatom bírálatát. Remélem a válaszaira adott kérdéseimet elfogadja és továbbra is támogatja számomra az MTA doktori címének odaítélését.

Gödöllő, 2021. július. 21.

  
Dr. Várallyay Éva