

Opponensi vélemény

Pogány Miklós

**NEKROTRÓF ÉS HEMIBIOTRÓF GOMBAKÓROKOZÓK KÖLCSÖNHATÁSAI
MODELL- ÉS HASZONNÖVÉNYEKKEL**

című doktori értekezéséről

A gombakórokozók jelentős károkat okoznak ültetvényeinkben, annak ellenére, hogy a növények felismerik őket és megpróbálnak védekezni ellenük. Pogány Miklós ennek a „párbeszédnek” a növényi oldalról történő megismerését tűzte ki célul, vizsgálatai a szöveti nekrozist okozó gombák kórfolyamatainak vizsgálatára irányultak. A kórokozók a termést mennyiségi és minőségi szempontból egyaránt veszélyeztetik. A növénytermesztés hatékonyságának növelése a világ élelmiszer-biztonsága szempontjából a jelenben és a jövőben egyaránt létfontosságú. A téma tehát időszerű és a kutatás eredményei hosszútávon gazdasági és környezetvédelmi szempontból is jelentősek lehetnek.

A Jelölt kutató munkájának öt témáját mutatja be az értekezésben, melyekből hét közlemény született, a legrégebbi 2009-ben, a legújabb 2022-ben. Ezek a közlemények rangos nemzetközi növényes folyóiratokban, pl. a Plant Physiology-ban, jelentek meg, de van köztük magyar nyelvű szaklap is, a Növényvédelem. A Jelölt három cikknek első, négynek utolsó szerzője. Az MTMT2 nyilvántartása szerint ezen kívül még 23 lektorált folyóiratcikknek a szerzője/szerzőtársa, melyekre a tudományos fokozat 2002-ben történt megszerzése után összesen 602 független hivatkozást kapott. Ezek közül 166 idézéssel kiemelkedik az értekezésben is bemutatott 2009-es Plant Physiology-ban megjelent publikáció, melynek Pogány Miklós az első szerzője. Az értekezés hiteles adatokat tartalmaz. A bemutatott eredmények a Jelölt és munkatársainak saját eredményei.

Az értekezés az irodalom jegyzékkel és mellékletekkel együtt 127 oldal terjedelmű, fő fejezeteit illetően (Bevezetés, Általános irodalmi áttekintés, Anyag és módszer, Eredmények, Összefoglalás, tézispontok) hagyományos felépítésű. Stílusa jó, helyesírási hiba is csak elvétve fordul elő benne. Az ábrák és táblázatok minősége és élessége azonban általában véve alatta van az elvártnak, különösen igaz ez pl., a 2. táblázatra vagy a 13. ábrára. Az „Irodalmi áttekintés” kellő információt hordoz az eredmények megértéséhez és kitér a releváns legfrissebb publikációkra is. Az „Anyag módszer” fejezetben a Jelölt felsorolja a legfontosabb módszertani elemeket, melyek molekuláris biológiai, analitikai, mikroszkópos, bioinformatikai és mikrobiológiai eszközök használatán alapulnak és hivatkozik azokra a cikkekre, melyekben ezek részletes leírása megtalálható. Jó lett volna azonban, ha a Jelölt ezeket a cikkeket kapcsolta volna az értekezéshez, hogy ne kelljen az interneten keresgélni őket. Az „Eredmények” fejezet az öt témának megfelelően öt alfejezetre tagolt, ami az eredmények könnyű áttekintését teszi lehetővé. Számomra meglepő módon azonban ez a fejezet nemcsak a kísérleti eredményeket tartalmazza, hanem az első két alfejezet, ami a korábbi publikációkon alapul, kitér azoknak a témához köthető tudományterületre gyakorolt hatására is, amit nem tartok odavalónak. Érzek benne némi öndicséretet is, pedig a Jelölt ezt nyilván nem annak szánta. Az értekezés külön „Diskuszió” fejezetet nem tartalmaz, a következtetések közvetlenül az eredmények, illetve a harmadik téma esetében, melyben a Furmint szőlő aszúsodásának transzkriptom szintű vizsgálatához kapcsolódó eredmények kerültek ismertetésre, a következtetések részeredményenként kerültek bemutatásra. Az „Összefoglalás” kellőképpen tömör és lényegre törő.

Az értekezésben bemutatott eredmények közül a legértékesebbnek az extracelluláris ROS (reactive oxygen species)-termelő rendszerek működését és lehetséges kölcsönhatásait leíró modell megalkotását tartom, amit a Jelölt munkatársaival együtt az *Alternaria brassicicola* nekrotrof gombakórokozóval fertőzött *Arabidopsis thaliana* növényekkel végzett kísérleteire alapozott. Ezen kívül jelentős új eredménynek tartom az aszúsodással kapcsolatos vizsgálatok eredményét és a *Nicotiana benthamiana* modellszervezetként való használatát a *Cercospora nicotianae* fonalas gomba okozta tünetek és molekuláris szintű változások vizsgálatára is.

Van azonban az értekezésnek néhány pontja, ami nem teljesen érthető számomra. A 3. ábra a *poliamin-oxidázok* (PAO) öt izoformájának génexpressziós aktivitását mutatja *Alternaria brassicicola*-val történt fertőzés után a vízzel kezelt kontrollhoz viszonyítva *Arabidopsis* modell növényben. A megállapítás, mely szerint „Huszonnégy órával az *Alternaria* fertőzés után a vizsgált PAO izoformák egyike sem mutatott magasabb transzkripciós aktivitást, mint ami a fertőzetlen növényekben tapasztalható volt.” tökéletesen igaz. Ugyanakkor azonban az is nyilvánvaló az ábrából, hogy az PAO5 expressziója a fertőzés hatására csökkent. **Kérdésem 1:** Mi ennek a magyarázata és miért nem tért ki erre a Jelölt a dolgozatban?

A RBOHD NADPH-oxidáz molekuláris kölcsönható partnereinek keresése során egy 2500 *Arabidopsis* transzkriptum kifejeződésének vizsgálatára alkalmas cDNS chip felhasználásával a *rboh*d mutánsban 12 olyan gént azonosított a Jelölt, melyek transzkripciója szignifikánsan eltért a vad típusú növényekben tapasztalt értéktől, majd arra a következtetésre jutott, hogy az „RBOHD fehérje által termelt extracelluláris ROS valószínűleg nem tölt be számottevő transzkripciós aktivátor szerepet, inkább részleges negatív szabályozó hatással bír az *Arabidopsis* gének egy részére nézve.” **Kérdésem 2:** Hogyan jutott a Jelölt erre a következtetésre?

A 48. oldalon olvashatjuk, hogy „Az *rboh*d mutáns növényekben intenzívebb a sejtek elhalása, mint a vad típusú növényekben, a *prx33/34* hiányos növényekben viszont enyhébbek a gomba által okozott nekrotikus tünetek. Az RBOHD által termelt ROS tehát inkább visszaszorítja a fertőzött növények sejtelhalását, a PRX33/34 peroxidázok által termelt ROS pedig nyilvánvalóan elősegíti a sejtek elhalását.” **Kérdésem 3:** Nincs ellentmondás a két kijelentés között?

A hidegedzés hatását a Jelölt egy 1500 EST-t tartalmazó gén-chip segítségével vizsgálta. Mivel a hidegedzés jelentősen fokozta a növények oxidatív stresszel szembeni toleranciáját, ezért várható volt, hogy a redox folyamatokhoz köthető génekben transzkripciós változások következnek be, de az elemzés a reálisan elvárhatónál sokkal kevesebb eltérően kifejeződő transzkriptumot mutatott és ezek között nem voltak olyan aktivált gének, amelyek az árpasejtek antioxidáns folyamataiban vettek volna részt. **Kérdésem 4:** Érdemes lenne-e ezt újra megvizsgálni a microarray-nél fejlettebb RNS-szekvenálási technikával?

A Furmint szőlő aszúsodásának transzkriptom szintű vizsgálatával kapcsolatban komoly aggályaim vannak. Nem tudom, hogy mennyire lehet összehasonlítani és következtetéseket levonni három szőlőfajta nemesrothadása és szürkerothadása során tapasztalt génexpressziós változásokból úgy, hogy ezek csak fényképek vagy leírások alapján hasonló fázisban lévő bogyókból vett mintákból származó adatok, ráadásul csak egyetlen időpontból, tehát nem látható egy tendencia sem, amiből esetleg bármire következtetni lehetne. Ennek ellenére a Jelölt az értekezésben hosszasan, egyenként taglalja az egyes géncsoportokban bekövetkezett változásokat. Ugyanakkor hiányolom az ép Furmint bogyók transzkriptom mintázatának és a korábbi (I.-II.) aszúsodott fázisok transzkriptom mintázatának átfogó összehasonlítását és egy modell felállítását. **Kérdésem 5:** Nem lenne érdemes az adatokat újra elemezni és többféle bioinformatikai analízis módot alkalmazni,


mint pl. a „functional interaction network” analízis vagy a „weighted gene coexpression network analysis” (WGCNA)?

A Jelölt az új eredményeket 9 tézispontban foglalta össze, melyek közül rövidített és összevont formában az alábbiakat fogadom el:

- 1) Az RBOHD NADPH-oxidáz és PRX33 és PRX34 sejtfa peroxidázok egyaránt hozzájárulnak a nekrotróf *Alternaria brassicicola* fertőzése nyomán fellépő oxidatív robbanáshoz *Arabidopsis*-ban elősegítve ezáltal annak kolonizációját.
- 2) Az RBOHD által termelt reaktív oxigén származékok gátolják, a PRX33/34 peroxidázok által termelt reaktív oxigén származékok viszont fokozzák a gomba által okozott sejthalál folyamatot.
- 3) Az RBOHD az etilénnel, a szalicilsavval és az ERECTA Ser/Thr protein kinázzal kölcsönhatásban fejt ki a sejthalál szabályozásában betöltött szerepét.
- 4) Hidegedzés fokozza a gabonafélék ellenállóságát különböző oxidatív stresszt okozó kémiai kezelésekkel és a nekrotróf *Pyrenophora teres* f. *teres* gombakórokozóval szemben.
- 5) A *Nicotiana benthamiana* és a hemibiotróf *Cercospora nicotiana* növény-gomba kölcsönhatás molekuláris növénykórtani kutatások céljára használható, új modell rendszer.
- 6) Szürke- és nemesrothadás elkülönítésére alkalmas illékony szerves komponensek azonosítása Furmint szőlőbogyókból.
- 7) Az abszcizinsav feltehetőleg fontos szereppel bír a Furmint szőlőfajta aszúsodásában.

Bár magát az értekezést nem tartom tökéletes műnek, de az abban szereplő eredmények és a Jelölt egész munkássága alapján a doktori cím odaítélését megalapozottnak tartom és támogatom.

Gödöllő, 2023. május 2.



Dr Bánfalvi Zsófia