

Válasz Dr. Palkovics László opponensi véleményére

Köszönöm opponensemnek a doktori értekezésem alapos, mindenre kiterjedő bírálatát és elsősorban azt, hogy a dolgozat olyan technikai és tartalmi hiányosságaira mutatott rá, amelyek sajnos elkerülték a figyelmemet. Továbbá köszönöm a dolgozattal és tudományos eredményeimmel kapcsolatos pozitív, elismerő megjegyzéseit is.

Az opponensi megjegyzésekre és kérdésekre az alábbiakban válaszolok.

Megjegyzés az ábrához: Sajnos nagyon sok esetben az ábra címe és magyarázó szövege a következő oldalra került, ezt a szöveg szerkesztésével a legtöbb esetben orvosolható lett volna.

Egyetértek a bírálóval – sajnos sokszor elkerülte a figyelmem, hogy az ábra címe és a magyarázó szöveg a következő oldalra került. Annak ellenére, hogy ezt a szerkesztési gyakorlatot (ábra és a magyarázó szöveg külön oldalon) sok tudományos folyóiratban is alkalmazzák (nyilván a helykihasználás miatt), egy értekezésben ezt, ha lehet, célszerű elkerülni.

Megjegyzés a Tartalomjegyzékhez: A tartalomjegyzékben pl. az anyag és módszer fejezetben nem található meg a fejezeteken belüli alfejezetek, és az azokon belüli részek sem. Ezért szerencsésebb lett volna a decimális számozás. Szerencsés lett volna, ha a dolgozat rövidítések jegyzékét is tartalmazná.

Az opponensem által említett szerkesztési hibák kiküszöbölése (alfejezetek jelölése a tartalomjegyzékben, címek decimális számozása, rövidítések jegyzéke) valóban segíthette volna a dolgozat jobb átláthatóságát, megértését.

Megjegyzés a Bevezetéshez: Nagyon fontos tisztázni, hogy a betegségek ellen nem tudunk védekezni és a növények sem védekeznek. A kórokozók ellen lehetséges csak a védekezés. Nem helyes kifejezés a betegség ellenállóság, sem a betegségekkel szembeni rezisztencia, még akkor sem, ha sokszor a szakirodalomban így szerepel.

Egyetértek a bírálóval, hogy a betegségek ellen nem tudunk védekezni, ill. a növények nem a betegséggel szemben mutatnak rezisztenciát, hanem a kórokozóval szemben. Az, hogy ennek ellenére a szakirodalom (még az újabbak is) rendszeresen betegség ellenállóságról – és nem kórokozó rezisztenciáról – beszél, feltehetően két oka lehet. 1/ a fertőzött növények védekezési reakciói közvetve valóban a betegség ellen irányulnak, amennyiben a sikeres védekezés látható eredménye a betegség gátlása / visszaszorítása. 2/ a nemesítési gyakorlatban (növénypopulációk rezisztenciájának értékelésekor) a kórokozókkal szemben ellenálló növényegyedek azonosítása első lépésben a legkönnyebben a makroszkopikus tünetek (pl. HR), ill. azok hiánya alapján lehetséges.

Megjegyzés az Irodalmi áttekintéshez, 1/: A Pályázó azt írja (6. old.), hogy az ún. I. típusú nemgazda ellenálló képességnél a nem-adaptált patogén által megtámadott növény nem mutat tüneteket, feltehetően azért, mert a kórokozó gyorsan és hatékonyan gátlódik, elsősorban az első növényi védelmi vonal (PTI, bazális rez.) aktiválódása miatt. Ugyanakkor pár sorral lejjebb azt írja, hogy a nemgazda rezisztencia általában akkor tünetmentes (I. típusú), amikor az adott kórokozó gazda- és nemgazda növénye közötti filogenetikai távolság nagy (pl. dohány és árpa) és ezért a fertőzést beindító kórokozó effektorok feltehetően nem tudnak kapcsolódni a megfelelő növényi célfehérjékhez. Ezek így ellentmondó megállapítások.

De ugyanígy az is megkérdőjelezhető és viszonylagos, hogy mekkora filogenetikai távolságot jelent a kórokozó gazda és nem gazdanövénye közötti genetikai távolság? Nem feltétlenül a gazdanövény számít, hanem maga a kórokozó genetikai állománya, tulajdonságai, képes-e megfertőzni egy adott növényt, vagy sem.

A dolgozat említett részén (6. old.) valóban arról van szó, hogy 1/ az ún. I. típusú, tünetmentes nemgazda rezisztenciánál a kórokozó gyorsan gátlódik az első növényi védelmi vonal (PTI) aktiválódása miatt, és 2/ ez a

tünetmentes védekezés akkor alakul ki, amikor a kórokozó gazda- és nemgazda növénye közötti filogenetikai távolság nagy és ezért a kórokozó effektorok nem tudnak kapcsolódni a növényi célfehérjékhez. A két megállapítás látszólag valóban ellentmondó, hiszen nem állhat fenn egyszerre aktív növényi védekezés (PTI), ill. a kórokozó és növény interakciójának hiánya (inkompatibilitás) – de nem is erről van szó. Az első növényi védelmi vonal (PTI) aktiválódása *után* a tünetmentes (I.) nemgazda rezisztenciánál a kórokozó ezt a védelmet nem tudja áttörni (az effektorok nem tudnak növényi célfehérjékhez kapcsolódni), ezért a fertőzési folyamat rögtön az elején megreked. Ugyanakkor a tünetes (általában HR-rel járó) II. típusú nemgazda ellenálló képességnél a PTI aktiválódása *után* a kórokozó pár effektora képes, legalább részlegesen, kapcsolódni a növényi célfehérjékhez (a gazda- és nemgazda növény között kicsi a filogenetikai távolság). Így kialakul egy korlátozott, néhány növényi sejtre kiterjedő fertőzés, mielőtt a növény beindítja a második védelmi vonalat (effektorok által indukált immunitás, ETI), és kialakul a II. típusú (tünetes) nemgazda rezisztencia.

Egyetértek opponensemvel, hogy egy kórokozó fertőzés kimenetelénél nem feltétlenül a gazdanövény (pl. a gazda- és nemgazda növény közötti filogenetikai távolság) számít, hanem a kórokozó genetikai állománya, tulajdonságai, fertőzőképessége is. Az I. típusú, tünetmentes-, ill. a II. típusú, tünetes (HR) nemgazda rezisztencia eltérő élettani hátterének, dinamikájának lehetséges magyarázatánál Schulze-Lefert és Panstruga (2011) feltehetően abból indultak ki, hogy egy adott kórokozó milyen genetikai hátterű növényeket tud / nem tud megfertőzni? Ez tehát inkább egy kóréletteni megközelítés, ami elsősorban a (gazda) növény szemszögéből vizsgálja a fertőzési folyamat lehetséges kimenetelét. A másik megközelítése ennek a kérdésnek az, amit az opponens említ a megjegyzésében: egy adott növényt milyen genetikai állományú kórokozók tudnak / nem tudnak megfertőzni – ez a kérdésnek inkább a kórtani megközelítése, ami főleg a kórokozó szemszögéből vizsgálja a fertőzési folyamat lehetséges kimenetelét.

Megjegyzés az Irodalmi áttekintéshez, 2/: Nem helyes az a kifejezés, hogy „szisztémikus növényi szövetek” (13. old.).

Egyetértek, valóban nem helyes és nem szerencsés ez a kifejezés, hogy „szisztémikus növényi szövetek”. Nyilván a kórokozó fertőzés lehet szisztémikus, de nem a fertőzött növényi szövetek. Sajnos a – főleg angol – szakirodalomban ez a kifejezés gyakran előfordul. Az adott helyen (13. old.) a szalicilsavnak a szisztémikus szerzett rezisztenciában játszott szerepének növényoltásos kísérletekkel való igazolásáról van szó - szerencsésebb lett volna itt azt írni, hogy az „elsődleges fertőzésnek/stressznek nem kitétt, távoli növényi szövetek”.

Megjegyzés az Irodalmi áttekintéshez, 3/: Az indukált szisztémikus rezisztencia (Induced Systemic Resistance, ISR) bemutatásakor (13. old.) említi a növényi növekedést serkentő baktériumok között a *Streptomyces* fajokat, de azt nem szabad elfelejteni, hogy ezek antibiotikumot termelő fajok. Hasonló a helyzet, amikor a növényi növekedést serkentő gombák között említi a *Trichoderma* fajokat, amelyek viszont hiperparazita gombák.

Sajnos valóban meg kellett volna említenem ebben a részben (ISR bemutatása, 13. old.), hogy pl. a *Streptomyces*, ill. *Trichoderma* fajok nemcsak ISR-t tudnak kiváltani, de a kórokozók ellen antibiotikumot termelnek, ill. hiperparaziták is lehetnek. Ugyanakkor ezeknél a növényi növekedést serkentő baktériumoknál és gombáknál az ISR indukáló képesség és az antibiózis / hiperparazitizmus relatív szerepe a kórokozók visszaszorításában fajonként és a környezet hatására is változó lehet és tárgyalása meghaladja ennek a dolgozatnak a kereteit.

Megjegyzés az Irodalmi áttekintéshez, 4/: A kórokozókkal szembeni fogékonyság, nem igazán jó kifejezés (22. oldal), a kórokozóval szemben ellenálló, vagy rezisztens.

A dolgozat 22. oldalán (Irodalmi Áttekintés) szerepel ez a mondat: „A GSH antioxidáns hatása a patogenezis előrehaladott szakaszában hozzájárulhat a biotróf kórokozókkal (pl. lisztharmat- és rozsdagombák) szembeni fogékonysághoz”. Itt nem tudok egyetérteni opponensemvel, amikor azt mondja, hogy a „kórokozókkal szembeni

fogékonyság” nem igazán jó kifejezés. Az adott kontextusban esetleg úgy árnyalható a kifejezés, hogy „a kórokozók fertőzésére kialakuló fogékonyság” vagy „a kórokozók fertőzése nyomán kialakuló fogékonyság”.

Megjegyzés az Anyag és módszer fejezethez: Itt opponensem több hiányosságot, elírást is megemlít – ezekre az alábbiakban válaszolok:

- A tartalomjegyzékben 'és' nélkül szerepel az Anyag és Módszer fejezet – ez sajnos elkerülte a figyelmem.
 - A PVX rezisztencia gént egységesen kell jelölni itt *RxI* és az *StRxI*-ként, kétféleképpen van jelölve – valóban, ezt a gént (is) egységesen kellett volna jelölni a dolgozatban: vagy mindenhol, mint *RxI* vagy csak mint *StRxI*.
 - A °C különbözőképpen szerepel, a tizedes vessző helyett néhol pont található – sajnos a jelölések egységesítése itt is elkerülte a figyelmemet.
 - Az 1. táblázatot miért jelöli 0-1. táblázatnak, utána az eredményekben található egy 1. táblázat. – a ténylegesen először bemutatott 1. táblázatot azért jelöltem 0-1. táblázatnak, mert ez már utólag került be a dolgozatba, amikor a többi táblázat már ott szerepelt. Így a többi táblázatot nem kellett átszámolni. Ugyanakkor valóban az lett volna a szerencsés, ha ezt mégis megteszem és így a dolgozatban a táblázatok számozása végig konzekvens marad.
 - A vírusok kimutatásánál használt ELISA vizsgálat leírásánál nem szerepel, hogy mikor tekintették pozitív eredménynek a kapott abszorbancia értékeket – Az ELISA módszerrel történő vírus kimutatásnál a 0,1 (A₄₀₅) értékeknél nagyobb eredményt tekintettük pozitív eredménynek, ez sajnálatos módon kimaradt a módszer leírásából.
 - A génkifejeződés vizsgálatához, ill. vírus kimutatáshoz a növényi RNS mintában reverz transzkripciót (RT) végeztek (36. oldal). A negatív kontrollnál miért nem használtak reverz transzkriptázt? – Valóban, az RT során az általunk alkalmazott negatív kontrollból nem a növényi RNS minta, hanem a reverz transzkriptáz hiányzott, így ez a kontroll alkalmas volt arra, hogy a mintákból kiszűrjük a genomi DNS szennyeződést.
 - A 0-1 táblázat alatt a rövidítések értelmezésére nincs szükség, azok a szövegrészben is megtalálhatók – Ez szerintem csak az említett 2 dohányfaj (*N. tabacum*, *N. glutinosa*) esetén igaz, a többi rövidítés értelmezése nincs benne a szövegrészben.
- A 0-1 táblázatban a PCR termék hossza (bázispár mértékegység) a táblázat fejlécében szerepelhetne – valóban, a PCR termék hossza (bp) szerepelhetne volna a táblázat fejlécében is.

Megjegyzés az Eredmények fejezethez:

Az Eredmények fejezet tartalmaz néhány olyan részletet, ami az Anyag és módszer fejezetben is megtalálható.

Néhány mondat megfogalmazása megnehezíti az érthetőséget, pl „az optimális szulfát ellátottság, ill. a glutation és a PR gének által meghatározott növényi védekezés jelentősen indukálódik akkor is, ha a HR-típusú lokális nekrotizissal visszatorzulása nem jár együtt a vírus rezisztencia hasonló mértékű fokozódásával (a HR-típusú nekrotizissal visszatorzulásánál a rezisztencia nagyobb mértékben fokozódik)”

Valóban, az Eredmények tartalmaz egy-két olyan részletet, amely az Anyagok és Módszerekben is megtalálható. Pl. az Eredményekben, a 43. és 48. oldalon rövid, egy-egy mondatos utalás van arra, hogy újra létrehoztuk a *N. glutinosa* és *N. clevelandii* keresztezéséből származó *N. edwardsonii* fajhibridet (*N. edwardsonii* var. Columbia). Azt gondolom, hogy ez nem tekinthető ismétlésnek, hanem inkább a jobb megértést segítheti.

Sajnos igaz, hogy néhány szövegrészben egy adott mondat megfogalmazása túl bonyolult, hosszúra sikerült (ilyen az opponensem által említett mondat is), erre jobban kellett volna ügyelnem.

Megjegyzés az Irodalomjegyzékkel kapcsolatban: A folyóiratok rövidítése nem konzekvens, van ahol nincs rövidítés, van ahol részleges, a rövidítés után hol van pont, hol nincs.

Sajnos igaz, az Irodalomjegyzékben a folyóiratok nevének rövidítése nem mindig konzekvens, erre jobban kellett volna figyelnem.

Kérdések:

1/ Mi az oka, illetve háttere a bab xantomónászos betegségénél (kórokozó: *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, Xap) a nekrotikus foltok körül kialakuló sárga udvarnak, más esetekben, más kórokozóknál pedig a haragoszöld udvarnak?

A bab xantomónászos betegségénél – ahogy más hasonló növényi baktériumos betegségeknél is – a fertőzés 3-6. napján jelennek meg a kórokozó (Xap) behatolási pontjain a zsírfoltok. Ezek 2-4 nap múlva nekrotizálódnak, mivel a baktériumok addigra lokálisan túlszaporodnak, és egy részük elpusztul, ill. a megtámadott növényi sejtek erőforrásait (cukrok, víz) kimerítik. A lokálisan nekrotizálódott növényi szövetből ammónia és etilén szabadul fel, ez lehet az egyik oka annak, hogy a fogékony növényekben a nekrotikus léziók körül sárga udvar alakul ki.

A sárgulásos (klorotikus) fogékonysági tünetek kialakulása azonban többféle élettani folyamat eredménye lehet. Egy Xap-ra fogékony és rezisztens babfajta összehasonlító vizsgálata szerint a fogékonyságra jellemző legfontosabb élettani/biokémiai változás a sérült fotoszintézis, ami pl. a csökkent mértékű gázcserében (CO₂-asszimiláció) és a fotoszintetikus pigmentek (Chl a + b, karotinoidok) kisebb koncentrációjában nyilvánult meg, már az inokuláció után 6-12 órával (Silva et al., 2020). További fogékonysági markerek az inokulált levelekben a ROS (hidrogén-peroxid) és a lipid-peroxidációt jelző malondialdehid (MDA) nagymértékű felhalmozódása, ugyanakkor a kisebb antioxidáns enzimaktivitás (APX, POX, SOD) (Silva et al., 2020).

A fentieket megerősíti egy másik munka, ahol szintén Xap-ra fogékony és rezisztens babfajtákat vizsgáltak RNS szekvenálással (Foucher et al., 2020). A fogékony növényben legalább négyszer annyi transzkripció faktor (TF) gén expressziója indukálódott Xap fertőzésre, elsősorban az etilén érzékeléssel kapcsolatos TF gének (*AP2/ERF*, *ETR*), ami a fogékonysági tünetek - nekrotikus léziók körül sárga udvar – kialakulásában az etilén felhalmozódás szerepére utal. Ugyanakkor a fogékonyság során nemcsak a szalicilsav (SA) által irányított növényi védekezési út génjei (pl. *PR1*) represszálódtak, hanem az ezzel összefüggő citokinin-jelátvitel is visszaszorult (nőtt egy citokinin és SA-védekezési inhibitor, az *A-ARR* gén kifejeződése) (Foucher et al., 2020). Mindezek alapján a csökkent citokinin koncentráció is hozzájárulhat a fogékonysági tünetek (sárga udvar) kialakulásához.

Mivel azonban citokinin túltermelő transzgenikus növényekben baktériumfertőzéskor (*P. syringae* pv. *tomato*) visszaszorul a HR-típusú sejt/szövethalál, de nem a baktériumszám (Barna et al., 2008; Sheikh et al., 2014), ezért önmagában a citokinin feltehetően nem tud rezisztenciát indukálni pl. Xap ellen sem. Más esetekben / más kórokozó fertőzéseknél a fogékonyság tünete a nekrotikus léziók körüli zöld udvar lehet, és ennek egyik feltételezhető oka, hogy a növény a nekrozisok körüli szövetekben a citokinin koncentráció növelésével próbál – legalább tüneti szinten – rezisztenciát indukálni. Ugyanakkor az sem kizárható, hogy ezekben a zöld udvarokban a kórokozó (pl. Xap) egy transzkripció-aktiváló (TALE) effektorának segítségével növeli meg átmenetileg a citokinin-szintet azért, hogy a patogenezis kezdeti, biotróf szakaszán túljusson (Foucher et al., 2020).

2/ Más – a szokásostól eltérő – rezisztenciaformák lehetnek azok, ahol a vírus rövidtávú (sejtről-sejtre) terjedése, vagy hosszú távú mozgása gátolt és ez nem feltétlenül növényi rezisztencia gének, vagy faktorok hatása, hanem inkompatibilitás. A virológia részt illetően főleg a növényi oldal, a növények válaszai a kiemelték, pedig nem feltétlenül növényi válaszreakciók állnak a háttérben. A vírusok elleni rezisztencianemesítés genomszerkesztéssel is ebbe az irányba tart. Hogyan illeszthető be mindez irodalmi ismeretei alapján a rezisztenciáról kialakított képbe?

A vírusok – és más kórokozók – elleni rezisztenciára való nemesítésben valóban nagyon sokszor a növényi válaszreakciókból indulnak ki: olyan növényi faktorokat próbálnak azonosítani, amelyek a fertőző vírust aktívan (közvetlenül vagy közvetve) gátolják.

Ugyanakkor a gazdanövényben rengeteg olyan faktor (fehérje) van, amelyek a fertőzési folyamat végig viteléhez (pl. replikáció, sejtről-sejtre terjedés, szisztemizálódás) a vírusnak feltétlenül szükségesek. Elvileg akár egy ilyen növényi faktor hiánya vagy a vírussal való inkompatibilitása „passzív” növényi rezisztenciát eredményez, ahogy ezt már több évtizede felvetették (Fraser, 1990) és ez az ellenálló képesség – mivel funkcióvesztésen alapul – általában recesszívén öröklődik. Bár egy gazdanövényben rengeteg ilyen fogékonysági faktor van, és az ismert recesszív vírus rezisztencia

gének aránya az összes *R* gén közel fele (ld. Zlobin és Taranov, 2023), a növénynemesítés korábban eléggé elhanyagolta a recesszív vírusrezisztencia jellemzését, feltehetően a nehezebben követhető öröklődése miatt is.

Szinte az összes ismert recesszív növényi vírus *R* gén eukarióta transláció (fehérjeszintézis) iniciációs faktorokat kódol, ez elsősorban az eIF4E és izoformája (eIFiso4E). Ezek a fehérjéknek/géneknek a működőképes (nem recesszíven öröklődő) formái a növényi RNS vírusok (elsősorban potyvírusok) genomi RNS-ének 5' végén levő Vpg fehérjével lépnek interakcióba és ezáltal a vírus fehérjeszintézist beindítják. A recesszív (nem működő) eIF fehérjék tehát nem képesek biztosítani a vírus fehérjeszintézist, ezért a gazdanövény rezisztens lesz (ld. Sanfaçon, 2015).

A természetben előforduló recesszív növényi vírus *R* géneket ma már genomszerkesztéssel stabilan elő lehet állítani, ill. új mutáns géneket létrehozni. Az ún. TILLING (*Targeting Induced Local Lesions in Genomes*) génszerkesztési módszerrel többek között paradicsomban és dohányban sikerült *eIF4E* mutációkat létrehozni és ezáltal potyvírusok ellen rezisztenciát előidézni (ld. Hadidi et al., 2016). CRISPR-Cas9 sgRNA génszerkesztéssel (az *eIF4E* és *eIFiso4E* gének mutagenézisével) szintén hatásosan lehet ilyen típusú recesszív növényi vírus rezisztenciát létrehozni (Chandrasekaran et al., 2016; Pyott et al., 2016). Uborkában az *eIF4E* génben két helyen indukáltak pontmutációt és öt különböző egyszálú +RNS genomú vírus (nagy részt potyvírusok) ellen kaptak rezisztenciát, az egyik vírusra teljes immunitást. Ugyanakkor ezek a növények fogékonyak maradtak egy cucumovírusra (CMV) és egy tobamovírusra (CGMoMV), amelyeknek a patogenezisében feltehetően nem szükséges az eIF4E fehérje működése (Chandrasekaran et al., 2016).

Egy adott gazdanövény fajban levő eIF4E fehérje tehát csak bizonyos vírusok fertőzésénél fogékonysági faktor, más vírusoknál nincs ilyen szerepe. Ugyanakkor egy adott növényi vírus csak a gazdanövény eIF4E fehérjével kompatibilis, más növény hasonló fehérjével nem. A dinnye nekrotikus foltosság vírus (MNSV) sárgadinnyét fertőz, de a *N. benthamiana* nem gazdanövénye. Az MNSV meghatározó virulencia faktora egy 49 nukleotid hosszú translációt segítő (enhancer) szekvencia a vírusgenom 3' végén (3'-CITE). Ugyanakkor az MNSV-Ma5 törzse képes megfertőzni a *N. benthamiana*-t, ha annak sejtjeiben egy fogékony sárgadinnye fajtából származó eIF4E fehérjét (Cm-eIF4E-S) tranziensen expresszálnak. Ezek szerint a *N. benthamiana* MNSV-Ma5-tel szembeni rezisztenciájának oka a vírus 3'-CITE virulencia faktora és a *N. benthamiana* eIF4E fehérje közötti inkompatibilitás (Nieto et al., 2011). Egy recesszív *eIF4E* gén működése által biztosított vírus rezisztencia azonban nem feltétlenül „passzív”, mivel háttérben nemcsak a kórokozó-gazdanövény inkompatibilitás (vírus fehérjeszintézis hiánya) állhat, hanem ezzel párhuzamosan a növényi védekezés aktiválása is. Burgonyában egy recesszív *eIF4E* gén túlkifejeztetésével hatékony rezisztenciát kaptak burgonya Y vírussal (PVY) szemben. A rezisztens növényekben ugyanakkor olyan védekezési gének aktiválódtak, amelyek nagy része a ROS érzékelésben, jelátvitelben és a ROS-szint szabályozásában játszik szerepet (Gutierrez Sanchez et al., 2020). Ezek szerint egy fogékonyságot biztosító, funkcionáló (domináns) növényi *eIF4E* gén által kódolt fehérje – a fehérjeszintézisben játszott szerepe mellett – alapvetően visszaszorítja a növényi védekezési gének expresszióját (hasonló hatás állati/emberi szervezetben is ismert), míg a nem működő, recesszív *eIF4E* gén hatása ezt a védekezési gátlást feloldja.

Míndezek alapján az ilyen típusú – pl. recesszív *eIF4E* gének által biztosított – növényi vírusrezisztencia alkalmazása (pl. genomszerkesztett természetű növényekben) perspektivikus lehet a jövőben, mivel a rezisztencia párhuzamosan több élettani folyamatban is hat, ezért feltehetően a kórokozó által is nehezebben áttörhető.

3/ Ismert-e hogy mi az a genetikai különbség a CaMV két izolátuma, a W260 és a D4 között, ami magyarázatot ad arra, hogy míg a W260 a N. clevelandii-ben HR-t és szisztemikus nektrózist okoz, addig a D4 ugyanennél a gazdanövényenél lokális klorózist és szisztemikus mozaikot vált ki és a D4 vírus koncentrációja – az inokulált és felső, szisztemikus leveleken egyaránt – kétszer-háromszor akkora, mint a W260 titer?

Régebbi kutatásokból ismert volt, hogy a Solanaceae családba tartozó gazdanövényeket fertőző rekombináns (kiméra) CaMV konstrukciókban a P6 gén kódoló részének eredete határozza meg azt, hogy a vírus képes-e a szisztemikus terjedésre – amennyiben a P6 gén a D4 törzsből származott, szisztemikus mozaik alakult ki (Daubert et al., 1984; Schoelz et al., 1986). A CaMV D4 és W260 törzsei között rekombináns vírusok létrehozásával sikerült azt is tisztázni, hogy a CaMV W260 P6 gén kódoló régiójának 5' harmada felelős *N. clevelandii*-ben a lokális (HR) és szisztemikus nektrózis kialakulásáért, míg ha ugyanez a génszakasz a CaMV D4-ből származik, akkor a vírus lokális klorózist és szisztemikus mozaikot vált ki ebben a gazdanövényben (Király et al., 1999). Érdekes, hogy szintén ez a CaMV

génszakasz (a P6 gén kódoló régiójának 5' harmada) felelős a HR-típusú rezisztencia vagy fogékonyság (szisztémikus mozaik) kialakításáért *Datura stramonium*-ban és *N. edwardsonii*-ban (Schoelz et al., 1986; Schoelz és Shepherd, 1988; Király et al., 1999).

4/ A ROS hullámokat hogyan érzékelik a növényi sejtek, mi lehet ennek a molekuláris mechanizmusa? Szisztémikusan is kell, hogy terjedjen a növényben a szállítószövetekben, mi lehet a hírvivő molekula?

Ahogy azt a dolgozatomban is tárgyalja, az abiotikus/biotikus stressznek kitett növényi sejt aktiválja a plazmamembránhoz kötődő NADPH-oxidázokat, majd a képződő szuperoxidból az apoplastban keletkező H₂O₂ eljut a következő sejtig, ahol azt a megfelelő receptor érzékeli, és a folyamat kezdődik előlről. A ROS hullámok működési mechanizmusa azonban ennél komplexebb, mivel a szisztémikus terjedéshez önmagában egy ilyen ROS hullám nem elégséges.

Nemrég azonosították az első növényi transzmembrán H₂O₂-receptort (HPCA1), amely a H₂O₂ megkötésével egyben indukálja a kalcium beáramlást különböző ioncsatornákon keresztül (Wu et al., 2020). A növényi védekezés (pl. kórokozó rezisztencia) során a kalcium részben közvetlenül (EF fehérjemoitívumokhoz kötődés), részben pedig közvetetten (Ca²⁺-függő kinázok) szabályozhatja a ROS-termelő RBOHD (NADPH-oxidáz) aktivitását (ld. a dolgozatomban). A kalcium-áteresztő ioncsatornák egy része, pl. az ún. GLR (*glutamate like*) receptorok ugyanakkor membrán depolarizációt is előidézik, amely a szomszédos sejtekben terjedhet tovább és tkp. egy elektromos hullámot jelent. Ez az elektromos hullám már szisztémikusan is terjedhet, és ezt növényi szállítószövetekben (floém és xilém) is kimutatták, pl. napraforgó levélszövetek sebzésekor. A kalcium csatornák láncreakció-szerű működése (a ROS hullám hatására, azzal párhuzamosan) ugyanakkor egyben Ca²⁺-hullámok indukálását is jelenti (ld. Gilroy et al., 2016; Johns et al., 2021).

A ROS hullámok tehát aktiválhatják a Ca²⁺-, ill. elektromos hullámokat ez utóbbiak pedig erősítik egymást és a ROS hullámokat. Jelenlegi ismereteink szerint ez a háromféle hullám kölcsönösen egymásra hatva járul hozzá a növényi stressz során lokálisan aktiválódó védekezési jelek szisztémizálásához (Gilroy et al., 2016; Johns et al., 2021). Mindezek tehát elsősorban egy aktivált védekezési/készenléti állapot növényen belüli terjedését jelentik és nem feltétlenül egyes vegyületek szisztémikus transzlokációját. Ebben a folyamatban (ezen belül pl. az oltással átvihető, ill. szisztémikus szerzett rezisztenciában) azonban nyilván szerepet játszhatnak/játszanak egyéb molekulák – pl. növényi mRNS-ek, géncsendesítést indukáló kis RNS-ek, védekezéssel kapcsolatos fehérjék, hormonok – is (ennek részletes tárgyalását ld. a dolgozatomban).

Még egyszer köszönettel tartozom opponensemnek a konstruktív, alapos bírálatáért és, hogy támogatta az MTA Doktora cím részemre történő odaítélését!

Budapest, 2024. november 29.

Dr. Király Lóránt
tudományos főmunkatárs
HUN-REN ATK Növényvédelmi Intézet

Melléklet: Hivatkozott irodalom (ld. következő old.)

Hivatkozott irodalom

- Barna, B., Smigocki, A.C., Baker, J.C. 2008. Transgenic production of cytokinin suppresses bacterially induced hypersensitive response symptoms and increases antioxidative enzyme levels in *Nicotiana* spp. *Phytopathology* 98, 1242-1247.
- Chandrasekaran, J. et al.. 2016. Development of broad virus resistance in non-transgenic cucumber using CRISPR/Cas9 technology. *Mol. Plant Pathol.* 17, 1140–1153.
- Daubert, S. et al., 1984. Expression of disease symptoms in Cauliflower mosaic virus genomic hybrids. *J. Mol. Appl. Genet.* 2, 537-547.
- Foucher, J. et al., 2020. Common bean resistance to *Xanthomonas* is associated with upregulation of the salicylic acid pathway and downregulation of photosynthesis. *BMC Genomics* 21, 566.
- Fraser, R.S.S. 1990. The genetics of resistance to plant viruses. *Annu. Rev. Phytopathol.* 28, 179-200.
- Gilroy, S. et al., 2016. ROS, calcium, and electric signals: Key mediators of rapid systemic signaling in plants. *Plant Physiol.* 171, 1606–1615.
- Gutierrez Sanchez, P.A. et al., 2020. Overexpression of a modified eIF4E regulates potato virus Y resistance at the transcriptional level in potato. *BMC Genomics* 21, 18.
- Hadidi, A. et al., 2016. Next-generation sequencing and genome editing in plant virology. *Front. Microbiol.* 7, 1325.
- Johns, S. et al., 2021. The fast and the furious: rapid long-range signaling in plants, *Plant Physiol.* 185, 694–706.
- Király, L. et al., 1999. Systemic cell death is elicited by the interaction of a single gene in *Nicotiana clevelandii* and gene VI of cauliflower mosaic virus. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 12, 919-925.
- Nieto, C. et al., 2011. *Nicotiana benthamiana* resistance to non-adapted *Melon necrotic spot virus* results from an incompatible interaction between virus RNA and translation initiation factor 4E. *Plant J.* 66, 492-501.
- Pyott, D.E., Sheehan E., Molnar, A. 2016. Engineering of CRISPR/Cas9-mediated potyvirus resistance in transgene-free *Arabidopsis* plants. *Mol. Plant Pathol.* 17, 1276–1288.
- Sanfaçon, H. 2015. Plant translation factors and virus resistance. *Viruses* 7, 3392–3419.
- Sheikh, A.H. et al., 2014. Agroinfiltration by cytokinin-producing *Agrobacterium* sp. strain GV3101 primes defense responses in *Nicotiana tabacum*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 27, 1175–1185.
- Schoelz, J.E., Shepherd, R.J. 1988. Host range control of *Cauliflower mosaic virus*. *Virology* 162, 30-37.
- Schoelz, J.E., Shepherd, R.J., Daubert, S. 1986. Region VI of Cauliflower mosaic virus encodes a host range determinant. *Mol. Cell Biol.* 6, 2632-2637.
- Silva, L.C. et al., 2020. Physiological and antioxidant insights into common bean resistance to common bacterial blight. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 111, 101505.
- Wu, F., Chi, Y., Jiang, Z. et al. 2020. Hydrogen peroxide sensor HPCA1 is an LRR receptor kinase in *Arabidopsis*. *Nature* 578, 577–581.
- Zlobin, N., Taranov, V. 2023. Plant eIF4E isoforms as factors of susceptibility and resistance to potyviruses. *Front. Plant Sci.* 14, 1041868.