

Válasz Dr. Várallyai Éva opponensi véleményére

Köszönöm a doktori értekezésem alapos bírálatára szánt idejét valamint az építő, konstruktív és sokszor gondolatébresztő megjegyzéseit, javaslatait! Köszönöm továbbá az eddigi kutatómunkámmal kapcsolatos elismerő szavait!

Opponensem hiányolta az értekezésből a dolgozat témájául szolgáló szakcikk felsorolását és az eredmények bemutatásakor az eredeti szakcikkekre való hivatkozásokat.

A dolgozat témájához közvetlenül kapcsolódó szakcikk felsorolása a tézisekben szerepel, de jogos a megjegyzés, hogy ez a felsorolás, ill. az eredményeknél az említett szakcikkekre való hivatkozások hiányoznak a dolgozathoz. Ezáltal valóban egy fontos információ maradt ki a dolgozathoz, amely segíthette volna az eredmények megértését.

A dolgozatban az eredmények és értékelésük együtt való tárgyalása megkönnyítette volna a bemutatott komplex folyamatok megértését.

Amint azt az opponens is említi bírálatában, az MTA doktori értekezés formátuma nem kötött, így lehetőségem nyílt arra, hogy értekezésemben az eredményeket és azok értékelését külön tárgyaljam – én személy szerint ezt a felosztást preferálom. Mindazonáltal el kell, hogy fogadjam, hogy opponensem (és feltehetően sok más kolléga számára is) az eredmények és értékelésük együtt való tárgyalása megkönnyítheti az adott szakmai munka (szakcikk, értekezés) megértését.

A dolgozat olvashatóságát, átláthatóságát javította volna a hiányzó decimális számozás, az al-ábrák betűkódokkal való jelölése, ill. az alaposabb tördelés.

Az opponensem által említett szerkesztési hibák kiküszöbölése valóban segíthette volna a dolgozat jobb átláthatóságát, megértését. Az összetett ábránál az al-ábrákat betűkóddal ugyan nem jelöltem, de minden ilyen esetben igyekeztem az ábraalírásban megemlíteni az adott al-ábra pozícióját (pl. baloldalt fent).

A HR és a nekrosis nem felcserélhető fogalmak, a dolgozatban mégis, a legnagyobb látható igyekezet ellenére, néhol szinonimaként jelentkeznek.

Teljes mértékben egyetértek opponensem azon megjegyzésével, hogy a hiperszenzitív reakció (HR) és a nekrosis nem felcserélhető fogalmak – a doktori dolgozatom eredményei lényegében ezt mutatják be: más szóval a HR-t alkotó két fő komponens a kórokozó behatolás helyén lokalizált rezisztencia és nekrosis (pontosabban sejt-, ill. szövethalál), amelyek – a vizsgált növény-kórokozó kapcsolatokban – egymástól független folyamatok. A dolgozatban valamennyi esetben igyekeztem világosan elkülöníteni a HR-típusú rezisztencia és a HR-típusú sejthalál (nekrosis) tárgyalását, de lehetséges, hogy némely szövegrészben ez az elkülönítés nem volt egészen világos. Sajnos a – főleg angolszász – szakirodalomban szinte a mai napig a HR-t az annak részét képező lokális sejt/szövethalál szinonimájaként emlegetik (ld. pl. a Balint-Kurti et al. által 2019-ben publikált szemleciiket és az abban hivatkozott korábbi munkákat).

A N. clevelandii CaMV-re (W260 törzs) való fokozott érzékenységet és a kialakuló nekrosist a ccd1/CaMV cell death gén határozza meg (Király et al., MPMI, 1999). Kiderült-e azóta, hogy mi ennek a génnek a funkciója, és ha igen vajon az mennyiben és hogyan magyarázza a nekrosis kialakulását? A N. bigelovii esetében a CaMV W260 és D4 törzsére adott reakciók hasonlóak, míg ezek a N. clevelandii esetében markánsan különböznek. Vizsgálták-e azóta, hogy a ccd1

menyiben különbözik a 2 faj esetében? És esetleg molekuláris módszerekkel azt, hogy a D4 és W260 törzsek P6 fehérjéjének mely régiója az, ami különbözik és a ccd1-gyel kölcsönhatva felelős lehet a HR és SN kialakulásáért?

A *N. clevelandii*-ben a CaMV W260 vírus fertőzésére kialakuló lokális és szisztémikus nekrozist (sejt/szövethalált) a *ccd1/CaMV cell death* gén határozza meg, amely recesszív öröklésmenetet mutat: a *N. clevelandii*-t a CaMV W260-ra lokális és szisztémikus klorózist/mozaikot adó *N. bigelovii*-vel keresztezve ugyanis az F₂ generációban a klorózis/mozaik, ill. nekrotikus tünetek hasadási aránya 3:1 volt (Király et al., 1999). Ezek szerint a *ccd1* gén domináns alléja a *N. bigelovii*-ben a *CCD1*, amely a CaMV W260 által okozott nekrozist elnyomja (szuppresszálja). Ennek bizonyítására a *CCD1* gént keresztezésekkel (introgresszió) útján sikerült átvinni a *N. bigelovii*-ből a *N. clevelandii*-be. Az így kapott növényekben (*N. clevelandii*-SD) a CaMV W260 nem okozott se lokális, se szisztémikus nekrozist, csak klorózist/mozaikot (Cawly et al., 2005).

A sejt/szövethalál CCD1 általi szuppressziója viszont csak a CaMV W260 vírus fertőzésére működött, arra specifikus volt, mivel a CCD1-et tartalmazó növényekben a dohány mozaik vírus (TMV) és a paradicsom bokrosodás törpülés vírus (TBSV) képes volt lokális (HR), ill. szisztémikus nekrozist kiváltani (Cawly et al., 2005). A két gazdanövény faj (*N. bigelovii* és *N. clevelandii*) *CCD1*, ill. *ccd1* génjének, és a kódolt fehérjék funkciója azonban még nem tisztázott, ahogy az sem, hogy a két szekvencia mennyire különbözik egymástól. Annyi bizonyosnak tűnik, hogy – mivel a recesszív forma (*ccd1*) vált ki sejthalált – a domináns forma (*CCD1*) egy sejthalál gátlásért felelős fehérjét kódol. Ebből a szempontból a CCD1 fehérje hasonlít a számos növényfaj által hordozott MLO fehérjékre, amelyek a lisztharmat rezisztencia, ill. a növényi sejthalál negatív regulátorának tekinthetők (Büschges et al., 1997; Piffanelli et al., 2002). A recesszív *mlo*-mutáns növényekben viszont fertőzés/stressz hiányában is idővel spontán sejtelhalás/szöveti nekrozis (ún. *lesion mimic* fenotípus) alakul ki (Wolter et al. 1993; Peterhänsel et al., 1997; Piffanelli et al., 2002). Ez a jelenség a *ccd1* gént tartalmazó *N. clevelandii*-ben nem tapasztalható, ami szintén arra utal, hogy a *ccd1/CCD1* fehérjék sejthalált előidéző/elnyomó hatása specifikus a CaMV W260 fertőzésére.

A CaMV D4 és W260 törzsei között létrehozott rekombináns (kiméra) vírusok elemzése nyomán tisztázódott, hogy a *ccd1* génnel/fehérjével kölcsönhatva a CaMV W260 P6 fehérjéjének N' régiója (a P6 gén kódoló régiójának 5' harmada) felelős *N. clevelandii*-ben a lokális és szisztémikus nekrozis (HR és SN) kialakulásáért (Király et al., 1999).

A HR (nekrozis) és a rezisztencia független öröklődésének igazolására a N. edwardsonii var. Columbia fajhibridet a fogékony szülővel keresztezték vissza, majd az F1 generáció öntermékeny utódainál vizsgálták a tulajdonságok szegregálását. Miért volt szükség erre a visszakeresztesésre? Vajon a fajhibrid öntermékenyítésével kapott – az eredeti keresztezés F2 populációjában nem ugyanezt az arányt mutatta volna? Vagy volt ennek valami más oka?

A *N. edwardsonii* var. Columbia fajhibridben – már az eredeti keresztezésből származó F₂ egyedekben és az azt követő, öntermékenyítéssel kapott további nemzedékekben is – a morfológiai jellegek stabilan megmaradtak (ld. a dolgozatban, 43-44. old., 2. ábra; Cole et al., 2001). Ugyanakkor a CaMV W260-ra mindkét fajhibrid (eredeti *N. edwardsonii* és var. Columbia) valamennyi vizsgált egyede – az öntermékenyített utódok is – HR-típusú rezisztenciával (lokális nekrotikus léziók) reagált, tehát a HR-rezisztencia és a nekrotikus tünetek a hibridekben nem szegregálódtak. Ennek oka feltehetően az, hogy a hibridek genetikai anyaga a kolhicin kezelés hatására megduplázódott. A HR-rezisztencia és a nekrotikus tünetek független öröklődésének igazolására ezért más kísérleti megközelítést kellett alkalmaznunk, hasonló ahhoz, amit kb. 100 éve használtak először a TMV elleni *N* rezisztencia gén klasszikus genetikai jellemzéséhez (ld. a dolgozatban, 97. old; Clausen és Goodspeed, 1925). Ennek megfelelően a CaMV W260-ra rezisztens *N. edwardsonii* var. Columbia hibridet (n = 36) a fogékony *N. clevelandii* szülővel (n = 24) kereszteztük vissza és szinte az összes F₁ utód HR-típusú rezisztenciát adott. A CaMV-vel szembeni rezisztencia és nekrotikus tünetek pedig az F₂ utódokban szegregálódtak – így sikerült igazolnunk, hogy a CaMV W260 fertőzésre adott HR-nél a rezisztencia és sejt/szövethalál (nekrozis) genetikailag egymástól szétválasztható.

1 és 2 táblázat (42, 47.old): A táblázatok a sok lábjegyzet miatt nagyon nehezen érthetőek – egy oszlopdiagrammos bemutatás segíthette volna a gyorsabb befogadást. Szokatlan, hogy a Táblázat címe (2. táblázat), egy lábjegyzet (1. táblázat), vagy akár egy ábraalírással (sokszor) a táblázatból, kísérletből levonható következtetést is tartalmazza. Ezt

nem tartom rossz ötletnek – külön segít annak, aki a szöveget nem olvassa el, de mivel ez sokszor a fő szövegben is szó szerint benne van, ismétlésnek hat.

Egyetértek opponensemvel, hogy a táblázatokban – legalább azok egy részében – a sok lábjegyzet miatt talán jobb lett volna egy oszlopdiaagrammos ábrázolás, ez segíthette volna az eredmények jobb megértését.

A hazai (közép-európai) szakmai gyakorlatban valóban szokatlannak hathat, hogy egy táblázat címe vagy lábjegyzete, ill. ábraaláírás az adott kísérlet eredményeiből levonható következtetést is tartalmazza (ez külföldi, főleg angol nyelvű, szak- és tankönyvek ábráinál gyakrabban fordul elő). Bírálómmal egyetértve ezt én is azért tartom hasznosnak, mert segítheti a lényeg megértését még akkor is, ha a törzsszövegben is szerepel ugyanez az információ.

4. ábra (49.old) A fotókon és RT-PCR-en bemutatott mintasorrend az ELISA-s blokkon felcserélődik, ami megzavarja a megértést.

Egyetértek opponensemvel, a 4. ábrán valóban zavarja a megértést, hogy az RT-PCR-es fotókon levő mintasorrend az ELISA-s diagramokon fel van cserélve, ez sajnos elkerülte a figyelmemet.

49-50.old. A szemikvantitatív RT-PCR nem alkalmas arra, hogy megállapítsuk, hogy a kezdeti fokozott NgPR-1 expresszió tovább nőtt-e a vírusfertőzéskor (TNV és TMV) vagy nem. Az NgPR-1 esetén nem lehet azt sem eldönteni, hogy van-e különbség a két fertőzés között. Az SA kötött és szabad mennyisége viszont TMV fertőzés során sokkal jobban indukálódik NEC növényekben, ami esetleg összefügghet a nekrozis elmaradásával, még jelentős víruskoncentráció esetén is. Jelen kísérletben lehetséges-e az, hogy a mesterségesen előidézett szulfáttöbblet miatt nő meg a kötött SA szint, ami a fokozott NgPR-1 expressziót indukálja és gátolja a nekrozis kialakulását, de ez nem függ össze azzal, hogy az adott vírusra gazda, vagy nem gazda rezisztenciát mutat-e a növény. Nem lehetséges ez a magyarázat?

Egyetértek opponensemvel, hogy az 5. ábrán a szemikvantitatív RT-PCR nem igazán alkalmas arra, hogy megállapítsuk, hogy az NEC növényekben a kezdeti fokozott *NgPR-1* expresszió tovább nőtt-e a vírusfertőzéskor (TNV és TMV) vagy nem, ill., hogy az *NgPR-1* expresszióban van-e különbség a két fertőzés között. Az eredmények csak azt jelzik egyértelműen, hogy az NEC-ben az *NgPR-1* gén konstitutívan expresszálódik, ami egybevágh azzal a korábbi eredménnyel, amely szerint az NgPR-1 fehérje a fertőzetlen (egészséges) NEC növényekben is nagy mennyiségben termelődik (Cole et al., 2004).

A szabad és kötött SA mennyisége TMV fertőzésre valóban sokkal jobban megnő az NEC növényekben (az NE-hez képest), mint TNV fertőzésre (5. ábra). Véleményem szerint ez nem függ össze szorosan a HR-típusú sejt/szövetállal mérséklésével, mivel az NEC-ben TMV fertőzésre a HR-nekrozis csak kb. 50 %-ra esik vissza az NE-hez képest, míg TNV fertőzésre (a jóval kisebb mennyiségű SA ellenére) 25 %-ra. Emellett az NEC – a fogékonyabb NE növényekhez képest – a TNV-re nagyobb mértékű rezisztenciát mutat, mint a TMV-re (4. ábra), ami összefügghet a két vírusra adott eltérő (gazda / nem gazda) rezisztencia válasszal (ld. a dolgozat 100-101. oldalán írottakat), de legalább annyira a védekezés egyes komponenseinek (SA, glutation felhalmozódás) dinamikájával.

A mesterségesen előidézett szulfáttöbblet hatását ebben a kísérleti rendszerben nem vizsgáltuk, de a dolgozatban ismertetett eredményeink szerint a cv. Samsun NN dohányban az optimális szulfát ellátottság fokozott rezisztenciát biztosít a TMV-vel szemben (kevesebb HR-nekrozis és vírus titer). A szulfátellátottsághoz köthető fokozott TMV rezisztencia egy a növényi védekezésben szerepet játszó kéntartalmú vegyület, a glutation nagyobb koncentrációjával is együtt jár (Király et al., 2012), a glutation pedig fokozhatja az SA mennyiségét, ill. az SA által irányított növényi védekezést kórokozó fertőzéseknél (ld. pl. Ghanta et al. 2011, 2014; Han et al. 2013). Újabb eredményeink szerint az NEC növények fokozott TMV rezisztenciája részben a vírusfertőzés által indukált emelt szintű redukált glutation (GSH) koncentrációnak is köszönhető (Király et al., 2024).

51.old és máshol: A rezisztencia mérésére a víruskoncentrációt használták (ELISA vagy qRT-PCR). Ez szisztemikus levelek esetén tényleg informatív. Inokulált levelek esetén viszont, ha valóban rezisztencia áll fenn, akkor annak a mértéke nem fog változni az időben. A változó – csökkenő víruskoncentrációnak nem lehet az az oka, hogy a vírus a

kialakult nekrozis miatt nem tud további sejtekben replikálódni, illetve a vírus RNS-ek védtelenek az RN-ázokkal szemben, és így folyamatosan lebomlanak – és a mért víruskoncentráció ezért csökken?

Általában igaz, hogy inokulált, vírusfertőzött levelekben a rezisztencia tényleges megléte azt jelenti, hogy az – hosszabb – időtávban nem változik jelentősen. Ugyanakkor még a szinte „tökéletesnek” mondható tünetmentes, extrém vírusrezisztenciánál (ER) is azt tapasztaltuk (PVX-fertőzött ER dohányban), hogy a víruskoncentráció 24 órán belül kb. a negyedére csökken (de utána már nem változik szignifikánsan) (ld. a dolgozatban, 11. és 19. ábra).

Az 51. oldalon, ill. 6. ábrán bemutatott eredmények szerint dohányban (cv. Samsun NN) az optimális szulfát ellátottság (+S) emelt szintű HR-típusú rezisztenciát ad a TMV-vel szemben (a –S növényekhez képest) és 4 nappal az inokuláció után a lokális nekrozis visszaszorulásánál (50 %-ra) a vírus felhalmozódás már nagyobb mértékben csökkenhet (25 %-ra). Így nem valószínű, hogy a csökkenő víruskoncentráció oka a kialakult szöveti nekrozis, mivel az a rezisztensebb +S növényekben csak kb. feleakkora mértékű, mint a –S egyedekben. A kisebb TMV titerhez viszont részben hozzájárulhat az, hogy a nekrotikus lézióval szomszédos, vírusfertőzött sejtekben a programozott sejthalál kialakulása előtt már megkezdődik a sejt szerkezet (membránok) szétesése, lebomlása (Goodman és Novacky, 1994; Heath, 2000; Liu et al., 2005), így nagy mennyiségű RNáz fehérje férhet hozzá a vírus RNS-ekhez, azokat folyamatosan lebontva. A növényi védekezés során pl. paprikában a PR-10 RNáz-oknak közvetlen szerepe lehet a TMV-vel szembeni rezisztenciában (Park et al., 2004).

50.old/54.old/67.old (5. 7., 16. ábra) A szemikvantitatív RT-PCR eredményeinek „látása” nagyon nem könnyű, hiszen a megfelelő kontrollt is mindig figyelembe kell venni. Nagyan segítette volna az értékelhetőséget, egy megfelelő arányszám szerepeltetése. Valószínűleg a cikk megjelenésekor ez még nem volt követelmény, ma már az.

Egyetértek opponensemmel, hogy az 5., 7. és 16. ábrán a szemikvantitatív RT-PCR gélképek jobb átláthatóságát segítette volna egy arányszám (relatív génexpresszió, a referencia génhez képest) megadása a mintákhoz. Ez a több mint 10 évvel ezelőtt publikált cikkeknel általában nem volt követelmény. A 16. ábrán az *NtRBOHD* gén expresszióját bemutató gélkép mellé az eredményeket publikáló cikkben (Király et al., 2008) viszont kérték a relatív génexpresszió feltüntetését is, ami megerősítette, hogy az *NtRBOHD* expressziója a 30 °C-on tartott dohány TMV-vel inokulált leveleiben a vírusfertőzés után 6 és 12 órával jelentősen (min. 30-50 %-al) visszaszorul a 20 °C-on tartott növényekhez képest.

Az NtGSTTau1 gén korai indukciója (6,12h) 24h-ra eltűnik, pedig igen jól látszó különbséget mutat a -S és +S növényekben (7. ábra), ami okozhatja HR-nekrozis csökkent mértékét. Lehet esetleg, hogy ez az a különbség, ami a kisebb mértékű vírusreplikációt – léziót és csökkent vírusrésztartalmat eredményezi?

A növényi GST-k korai indukciója meghatározó lehet a kórokozók (pl. vírusok) elleni HR-típusú rezisztenciában, mivel a GST-k méregtelenítő és – többek között a tau osztályú növényi GST enzimeknél – antioxidáns hatásuk által szabályozzák a HR-hez köthető sejt/szövethalált (Levine et al., 1994; Fodor et al., 1997; Gullner et al., 2018). Ugyanakkor számos (pl. tau osztályú) GST izoenzim közvetlenül is részt vehet egyes kórokozó gombákkal (lisztharmatok, fuzáriumok) szembeni rezisztenciában, pl. kéntartalmú indol glikozinolatok szintézisének és antioxidánsok valamint PR fehérjéket kódoló gének indukálásával ((Han et al., 2016; Pislewska-Bednarek et al., 2018). Növényi vírusfertőzéseknel ismert, hogy a GST-k fokozott indukciója egyenesen arányos lehet a rezisztencia mértékével, ill. gyorsaságával: ennek megfelelően a gyorsabb lefolyású, tünetmentes vírusrezisztenciákban a GST indukció sokszor hamarabb és nagyobb mértékben jelentkezik, mint a lassabb, tünetes (HR) ellenálló képességű, ill. fogékony növényekben (Gullner et al., 1995; Brizard et al., 2006; Larson et al., 2008). Mindezek alapján lehetséges, hogy az optimális szulfát ellátottságú (+S) dohányban többek között az *NtGSTTau1* gén korai (6, 12h) indukciója is hozzájárul a hatékonyabb HR-típusú rezisztenciához (= kevesebb vírus és lokális nekrotikus tünet).

57.oldal: A különböző kezelések hatása a nekrozis és a rezisztencia kialakulására kérdéskörben a növényekben többek között kataláz kezelés hatására figyelték meg a nekrotikus borítottság csökkenését TMV fertőzőskor. A 8. ábrán levő táblázat szerint (56.old) a H₂O₂ kezelés és a SOD+CAT kezelés kb. azonos mértékben csökkentette a nekrotikus borítottságot. Lehet ennek oka az, hogy a H₂O₂ előkezeléskor megnő a kataláz szintje, és ez okozza a nekrotikus tünetek csökkenését?

Kimutattuk, hogy a TMV-re HR-típusú rezisztenciát adó dohány leveleit kis koncentrációjú (5-10 mM) H₂O₂-val előkezelve jelentősen csökken a HR-nekrozis mértéke, de a kórokozó (TMV) felhalmozódása (= rezisztencia) nem változik. A folyamat során az antioxidáns enzimaktivitás (kataláz /CAT/, gvajakol-peroxidáz, aszcorbát peroxidáz) és három, antioxidáns enzimet kódoló gén (*NtSOD*, *NtCAT*, és *NtAPX*) expressziója is fokozódik. Mivel a SOD és CAT kezelés a H₂O₂-előkezeléshez hasonló módon csökkentette a HR-típusú nekrotizáció mértékét, ez arra utal, hogy a H₂O₂ által indukált tüneti rezisztencia („immunizálás”) valóban a növényi antioxidáns kapacitás fokozásán - így feltehetően a kataláz szintjének és/vagy enzimaktivitásának növelésén keresztül is - fejt ki hatását. Feltételezhető azonban, hogy ehhez a hatáshoz szükséges pl. az emelt szintű SOD aktivitás is. Ismert ugyanis, hogy a kataláz affinitása a H₂O₂-hoz meglehetősen kicsi, azaz a kataláz megfelelő aktivitásához nagy mennyiségű H₂O₂ jelenléte kell, ezt pedig a SOD enzimaktivitása képes biztosítani (Baker és Orlandi, 1995; Halliwell és Gutteridge, 2015).

66.old 20 és 30 C-on tartott mock és TMV fertőzött *N. tabacum* cv *Xanthi NN* növényekben a szuperoxid 30 C-on kevesebb volt, mint 20 C-on, a H₂O₂ felhalmozódása nem változott. Ugyan irodalmi források szerint a TMV rezisztencia magas hőmérsékleten (30 C) visszazorul, és a dolgozat eredményei szerint ennek oka a szuperoxid szint csökkenése, hiányoltam annak bemutatását, hogy ez miben és milyen mértékben jelentkezett az aktuális kísérletben. Esetleg vannak adatok arra, hogy a vizsgált kísérletben (a mért szuperoxid és H₂O₂ szintekhez képest) hogyan változott a fertőzött levelek nekrotikus lézióinak száma? Mivel a nekrozis és a rezisztencia egymástól független tulajdonságok, történt-e esetleg víruskoncentráció mérés ezekben a növényekben, amivel a rezisztencia változását korrelálni lehetne, hasonlóan a később, 68.oldalon bemutatott kísérletekhez? A megnövekedett TMV koncentráció és a rezisztencia csökkenése milyen mértékű volt? Esetleg volt hatással a vírus hosszabb távú mozgására? Vizsgálták esetleg a TMV fertőzés esetleges szisztemizálódását?

A 66. oldalon (15. ábra) bemutatott kísérlet eredményei szerint a TMV-rezisztencia magas hőmérsékleten (30 °C) történő visszazorulásának egyik oka feltehetően a szuperoxid-szint jelentős, több mint 50 %-os csökkenése lehet. Sajnos valóban nem jeleztük itt egyértelműen, hogy ebben a kísérletünkben, a szakirodalmi adatokkal egybevetve, a TMV-rezisztencia 30 °C-on tényleg visszazorult. A HR-tünetek nem jelentek meg az inokulált leveleken (ld. 66 old., utolsó bekezdés) és, ami nincs említve a dolgozatban, a TMV-fertőzés után kb. 2 héttel a szisztémikus (nem inokulált) levelekkel visszafertőzött rezisztens *Xanthi NN* dohányokban HR léziókat kaptunk, ami arra utal, hogy a 30 °C-on tartott növényekben a TMV szisztemizálódott, tehát a rezisztencia megtört. A víruskoncentrációt viszont ebben a kísérletben (15. ábra) nem mértük.

A 68. oldalon (17. ábra) bemutatott kísérletben viszont a vírus (TMV) koncentráció mérésével követtük nyomon a rezisztencia változását 20 és 30 °C-on. Kimutattuk, hogy 30 °C-on a TMV titer kb. háromszor akkora, mint 20 °C-on (a rezisztencia megtörik) és a vírusfertőzés után viszonylag későn (3 nappal) hozzáadott ROS-képző ágensek hatására a TMV rezisztencia nem változik, bár a HR-típusú lokális léziók megjelennek.

Kimutatták, hogy a korai ROS felhalmozódás fontos komponense a vírusfertőzés gátlásának és ezért a korai ROS felhalmozódásért a NADPH oxidázok fokozott aktivitása a felelős. Ismert-e, hogy a vírusfertőzés során milyen szignalizációs út vezet a NADPH oxidázok, és esetleg más, ROS akkumulációban szerepet játszó enzimek expressziójának, aktiválódásának a fokozásához? Van-e esetleg ebben transzkripciós faktoroknak, illetve miRNS-eknek szerepe?

Régóta ismert, hogy a növényi vírusrezisztencia során a NADPH-oxidáz enzimek általi szuperoxid-termelés membránhoz (ált. plazmamembrán) kötött folyamat (Doke és Ohashi, 1988). Ha a NADPH-oxidázokat egy növényi

védekezési hormonnal (brasszinoszteroid) történő kezeléssel aktiválják, vírus rezisztencia (CMV-re, ill. TMV-re) váltható ki uborkában és dohányban (Xia et al., 2009; Deng et al., 2016). Elképzelhető tehát, hogy a rezisztens növényben a vírusfelismerésben részt vesz a BAK 1 (brasszinoszteroid-inszenzitív) plazmamembrán receptor kináz is, amely a baktériumfertőzés elleni védekezés fontos komponense (Dubielia et al., 2013). Burgonyában az *StRBOHD* NADPH-oxidáz gén a PVY vírus rezisztencia egyik kulcseleme, a gén csendesítése fokozott vírusreplikációt/terjedést eredményez (Lukan et al., 2020). Az *StRBOHD* expressziót a szalicilsav (SA) szabályozza – feltehetően transzkripció faktorokon keresztül – míg az RBOHD a SA szintet. A SA a kloroplasztiszban ROS (szuperoxid és H₂O₂) termelést indukál. Újabb eredmények szerint a kloroplasztisz-eredetű ROS is részt vesz a vírus rezisztencia jelátvitelében, a növényi védekezési gének (pl. az *StRBOHD*) expressziójának szabályozásával (Lukan et al., 2020, 2023).

A vírusfertőzések elleni védekezésnél a növény nemcsak a plazmamembrán NADPH-oxidázok és a kloroplasztisz által indukál ROS-termelést, hanem pl. a peroxiszómákban a glikolát-oxidáz (GOX) aktiválásával is. BSMV-re fogékony árpában a vírus Gamma-B fehérjéje a peroxiszómákban specifikusan kapcsolódik a GOX-hoz, ezáltal kb. tizedére csökkenti a ROS (szuperoxid és H₂O₂) koncentrációt (Yang et al., 2018).

A vírusrezisztenciát szabályozó általunk ismert transzkripció faktorok általában a védekezési gének közvetlen aktivátorai. Egy 2023-as munka szerint viszont egy transzkripció represszálo fehérje (NbAL7) a TMV-re adott HR-rezisztenciához úgy járul hozzá, hogy foszforilált állapotban antioxidáns gének (APX, GPX, GR) promotéréhez kötődve, a transzkripciót gátolva, közvetve ROS-felhalmozódást okoz a gazdanövény (*N. benthamiana*) fertőzött sejtjeiben (Zhang et al., 2023).

A növényi vírus rezisztenciához a génműködést szabályozó miRNS-ek közvetve, a ROS szint csökkentésével/növelésével is hozzájárulhatnak. Egészséges rizsben a miR528 lebontja egy aszkorbát-oxidáz gén (AO) mRNS-ét, ezáltal a génextpressziót (és a ROS-képződést) gátolva. RSV-vel (*Rice stripe virus*) fertőzött rizsben viszont a miR528-at a hozzá specifikusan kapcsolódó AGO18 szabályozó fehérje blokkolja, így az AO gén működése helyreáll és az általa termelt ROS hozzájárul az RSV-rezisztenciához (Wu et al., 2017).

90.old Kimutatták, hogy a cseresznyepaprikában megfigyelt tünetmentes lisztharmat rezisztencia oltással átvihető egy csemege fajtára. Folytatták-e ezt a kutatást annak céljából, hogy a rezisztenciáért felelős gént azonosítsák, vagy esetleg markert fejlesszenek a tulajdonság nemesítési programokban való azonosítására?

Az oltással átvitt paprika lisztharmat rezisztenciának több biokémiai markerét (ld. dolgozat) azonosítottuk: fokozott NADPH oxidáz aktivitás, PR gének (*CaPRI* és *CaPR2*) indukciója, két, lisztharmat-fogékonyságban szerepet játszó gén (*CaMlo1* és *CaMlo2*) csökkent mértékű expressziója. Megkezdtük az általunk leírt biokémiai rezisztencia markerek öröklődésének vizsgálatát. Eddig eredményeink szerint az oltott, rezisztens növények, ill. a rezisztens cv. Szentesi és fogékony cv. Totál paprika keresztezésének F₁ utódaiban az egyedek kb. felében megnyilvánultak az említett rezisztencia biokémiai markerek. Feltételezhető, hogy a markerek nagy része kapcsoltan öröklődik, ugyanis általában ugyanazokban az F₁ egyedekben fordulnak elő (Király et al., 2018). A következő lépés lehet azonosítani azt a „központi kapcsolót” (feltehetően transzkripció faktor), amely a rezisztencia biokémiai markereinek működését szabályozza – így közelebb kerülhetünk a kérdéses paprika lisztharmat rezisztencia gén/genetikai marker azonosításához.

94-95.old. A funkcionális Mlo jelenléte létfontosságú a lisztharmatfertőzés létrejöttéhez. Az Mlo gén expresszióján kívül a fehérje működőképessége is fontos, vizsgálták-e, hogy a rezisztens paprika Mlo génjeiben vajon nincs-e olyan mutáció, ami funkcióvesztést okoz, akár az Mlo1-ban, akár az Mlo2-ben, ami esetleg e gén expressziójának csökkenésén kívül is hozzájárulhat a rezisztencia kialakulásához?

A lisztharmat rezisztens cv. Szentesi paprika Mlo génjeinek (*CaMlo1* és *CaMlo2*) csökkent mértékű expressziója mellett valóban nem kizárható, hogy a rezisztenciához az Mlo gének által kódolt fehérjék funkcióvesztése is hozzájárulhat. Az Mlo gének kisebb mértékű expressziója abból is adódhat, hogy a kérdéses mutáció(k) miatt kevesebb a normális transzkript, ugyanakkor felhalmozódnak az abnormális (pl. rövidebb, deléciós) Mlo mRNS-ek, amelyekből abnormális, csökkent/null funkciós fehérjék keletkeznek, ahogy azt árpánál korábban már leírták (Piffanelli et al., 2002). A cv. Szentesi paprika Mlo génjeiben az ilyen mutációk jelenlétét nem vizsgáltuk, de hosszabb távon tervezzük. Ugyanakkor

a csökkent Mlo génexpresszió a cv. Szentesire oltott, rezisztenssé vált cv. Totál növényekben is megnyilvánul, ezért a jelenség mögött a génexpresszió szabályozásának megváltozása is állhat.

PVX és TMV fertőzést inkompatibilis rendszerekben vizsgálva (N. tabacum cv. Samsun NN-ben) a GST expressziója is és aktivitása is megnő. Utóbbi a nektrózzal kapcsolt fertőzéskor nőtt meg jelentősen, míg az extrém rezisztencia esetén ez a növekedés a fertőzés nagyon korai szakaszára korlátozódott, az expresszió ezután a normál szintre állt vissza. Kísérleteinkben, tüneteket mutató fertőzés esetén PVX és TMV fertőzött paradicsomot vizsgálva mi is hasonlót tapasztaltunk (Pesti et al, PLOS ONE, 2019). A GST-k expressziója TMV fertőzés esetén nagyon megnőtt, míg a sokkal enyhébb tüneteket mutató PVX fertőzéskor ez az indukció elmaradt. A vírusok mindkét esetben tudtak replikálódni, a fertőzés szisztemikus volt, és a vírusok nagymértékben tudtak felhalmozódni. Nem lehetséges az, hogy ez is azt támasztja alá, hogy a rezisztencia és a tünetek/nektrózis kialakulása egymástól függetlenül szabályozódnak?? Mit gondol?

A bíráló által említett publikáció (Pesti et al, PLOS ONE, 2019) szerint a paradicsomon erősebb szisztemikus tüneteket (klorotikus mozaikot) okozó vírus (PVX) által fertőzött levelekben több GST gén expressziója is jelentős mértékben indukálódik, míg az enyhébb tüneteket okozó vírus (TMV) fertőzésénél ez a GST indukció elmarad. Mivel a vírus replikáció és akkumuláció mindkét esetben (erős és gyenge tünetek) hasonló, ezért mindez végső soron valóban a rezisztencia és tünetek független szabályozását jelzi. Ugyanakkor ebben a munkában azt is kimutatták, hogy az erősen tünetes (ún. akut) szisztemikus vírusfertőzésnél nemcsak a stressz gének (pl. GST-k) indukálódnak, hanem egyúttal az ún. *shutoff* jelenség is lejátszódik – azaz a háztartási és fotoszintézissel kapcsolatos gének aktivitása visszaszorul. Elképzelhető tehát, hogy a *shutoff* a fertőző vírus reakciója a gazdanövény rezisztenciájának / védekező képességének további csökkentése érdekében, ez azonban olyan nem kívánt mellékhatásokkal (pl. leromlott fotoszintézis) jár, ami érdeemben nem növeli meg a fogékonyságot, csak a fertőzött szövetekben okoz erős tünetekkel járó stresszt. Ilyen értelemben tehát a rezisztencia, ill. annak sikertelen letörése összefügg a tünetek kialakulásával.

Általános kérdések:

*A növényvédelemben kulcsfontosságú a termesztett növények kórokozó rezisztenciájának kialakítása. Amennyiben a rezisztencia során nektrózis történik, a termés annak ellenére eladhatatlan lesz, hogy a növény túlél. Ha a rezisztencia és a nektrózis egymástól független tulajdonságok és utóbbi gazdagénekhez, pl. *ccd1* génhez köthető mit gondol, van-e létjogosultsága ezen gazda faktorok genom editinggel történő módosításának annak érdekében, hogy a rezisztens növényeken ne alakuljon ki nektrózis. Mennyire konzervatívak ezen gének és a nektrózis kialakító tulajdonságuk a különböző patogén – gazda kapcsolatokban?*

Amennyiben egy növényben ismert egy adott kórokozó(k) elleni HR-rezisztencia során a sejthalálért (nektrózisért) felelős gén és annak nincs más, alapvető élettani funkciója, akkor van létjogosultsága az ilyen „nektrózis gének” génszerkezéssel való módosításának, hiszen így tünetmentes rezisztenciát nyerhetünk. Ez a helyzet a *Nicotiana clevelandii*-ben előforduló recesszív *ccd1* génnel, amely specifikusan a CaMV által indukált HR-rezisztenciánál játszik szerepet a sejthalál kialakításában, más vírusok (TMV, TBSV) fertőzésénél viszont nem – ugyanakkor a génnek a *N. bigelovii*-ban működő domináns allélja (*Ccd1*) nem okoz semmilyen alapvető élettani mellékhatást (Cawly et al., 2005). A gyakorlatban viszont még hasznosabb lehet olyan „nektrózis gének” célzott hatástalanítása, amelyek specificitása tágabb, tehát többféle kórokozóval szembeni HR-rezisztenciánál is részt vesznek a nekrotikus tünetek kialakításában. Ilyenek az Arabidopsis-ban azonosított *Dnd1* és *Dnd2* gének, amelyek egymással nukleotid és fehérje szinten is közeli homológok: mindkét gén egy ciklikus nukleotid-kapcsolt ioncsatorna-fehérjét kódol (Clough et al., 2000; Jurkowski et al., 2004) és baktériumos (*P. syringae* patovar-ok), gombás (botritisz, peronoszpóra) és vírusos (CMV) fertőzéseknél is felelősek a HR-nektrózis kialakításáért (Yu et al., 1998; Govrin és Levine, 2000 Balagué et al., 2003; Takahashi et al., 2012).

A harmadik csoportba az olyan gének tartoznak, amelyek a HR során részt vesznek mind a rezisztencia, mind a nekrotikus tünetek kialakításában – ezeknek a géneknek a módosítása nem célszerű, mert így egy adott fertőzésnél nemcsak a nekrotikus tünetek, de a rezisztencia is megszűnhet. Ilyen pl. a TCV elleni HR-t meghatározó *HRT* gén (bár ebben az esetben a rezisztenciát a recesszív *rrt* gén is szabályozza) (Kachroo et al., 2000). Hasonlóak a cisztein-proteázokat kódoló *VPE* (*vacuole processing enzyme*) gének, amelyek baktériumos, vírusos (pl. TMV, TuMV) és

gombás fertőzésnél elsősorban a vakuólum kollapszus által beindított HR-típusú (programozott) sejthalálban, de a rezisztenciában is közreműködnek. A VPE fehérjék hiánya ugyanakkor potenciális élettani mellékhatásokkal is járhat, mivel egyes növényi vakuólum fehérjék éréséért is felelősek (Hatsugai et al., 2015).

A nagy-áteresztőképességű szekvenálások, tömegspektrometriás mérések, metabolom analízisek olyan nagyáteresztőképességű módszerek, melyek kiválóan alkalmasak komplex folyamatok teljes szervezetre vonatkozó jellemzésére. Az értekezés fő kérdésének: a nekrozissal járó és a tünetmentes rezisztencia vizsgálatára készült-e vagy terveznek-e ilyen nagyáteresztőképességű módszereken alapuló vizsgálatot?

A nekrozissal járó (HR) és a tünetmentes, extrém (ER) rezisztencia vizsgálatára (TMV-vel, ill. PVX-szel fertőzött cv. Samsun NN Rx dohányon) hosszabb távon főleg transzkriptomikai (RNAseq) vizsgálatokat tervezünk. Ez hasonló lenne ahhoz, amikor korábban extrém rezisztenciát és fogékonyságot eredményező vírusfertőzéseknél (PVY-burgonya, ill. CMV-uborka kapcsolatokban) vetették össze a gazdanövény génexpressziós mintázatokat (Baebler et al., 2009, 2020; Šubr et al., 2020). A mi vizsgálatunk annyiban hozhatnak új eredményeket, hogy az extrém rezisztenciát és a HR-t ilyen szempontból eddig még nem hasonlították össze.

A vizsgált növényekben bizonyos kórokozókkal szemben extrém, másokkal szemben HR alapú rezisztencia áll fenn. A kórokozók új gazdanövény fertőzésekor extrém tüneteket is produkálhatnak, ami a vírus-gazda koevolúció során a tünetek mérséklése irányában változik. Mit gondol, az extrém, tünetmentes rezisztencia és a nekrozis alapú rezisztencia vajon egy ilyen evolúciós úton hol helyezkednek el és a folyamat elejét, vagy végét jelezhetik-e?

A vírus-gazdanövény koevolúció során a kezdeti, sokszor súlyos (pl. nekrozis) fertőzési tünetek idővel mérséklődnek és kialakul a tolerancia, amikor a vírus képes a gazdanövényben bizonyos mértékben replikálódni, de ez nem vagy alig jár tünetekkel. Mivel a toleráns növény aktívan nem gátolja a vírushatást és/vagy replikációt, ezért meglehetősen kicsi a vírussal szembeni evolúciós (szelekciós) nyomás a mutációra, ill. új, agresszívebb (virulensebb) törzsek megjelenésére. A tolerancia tehát egy evolúciós szempontból stabil növényi védekezési válasznak tekinthető (Paudel és Sanfaçon, 2018; Baebler et al., 2020). Ugyanakkor a vizsgált növény-kórokozó kapcsolatok nagy részében a rezisztencia és a tolerancia együtt fordul elő, ami valószínűsíti, hogy a két védekezési válasz nem zárja ki egymást, gyakoriságuk hasonló (Pagán és García-Arenal, 2018). Mindezek alapján az erős fogékonyságtól a toleranciáig terjedő evolúciós skálán a HR típusú és extrém (tünetmentes) rezisztencia valahol közepén lehet, ahol kialakul az az elágazási pont, melynek egyik ága toleranciát, a másik rezisztenciát eredményez. A rezisztencián belül a – lokális nekrozissal és enyhébb kórokozó gátlással járó – HR jelenhet meg először (kisebb hatékonyságú rezisztencia), míg a növényi védekezés gyors, célirányos időzítésével alakulhat ki a sokkal hatékonyabb tünetmentes (extrém) rezisztencia (ld. pl. Bendahmane et al., 1999).

Még egyszer köszönöm opponensemnek a konstruktív, gondolatébresztő bírálatát és támogató állásfoglalását az MTA Doktora cím részemre történő odaítélésével kapcsolatban!

Budapest, 2024. november 19.



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

Melléklet: Hivatkozott irodalom (ld. következő old.)

Hivatkozott irodalom

- Baebler, Š., Coll, A., Gruden, K. 2020. Plant molecular responses to Potato virus Y: A continuum of outcomes from sensitivity and tolerance to resistance. *Viruses* 12, 217.
- Baebler, Š. et al., 2009. PVY NTN elicits a diverse gene expression response in different potato genotypes in the first 12 h after inoculation. *Mol. Plant Pathol.* 10, 263–275.
- Baker, C.J., Orlandi, E.W. 1995. Active oxygen in plant pathogenesis. *Annu. Rev. Phytopathol.* 33, 299–321.
- Balagué, C. et al., 2003. HLM1, an essential signaling component in the hypersensitive response, is a member of the cyclic nucleotide-gated channel ion channel family. *Plant Cell* 15, 365-379.
- Balint-Kurti, P. 2019. The plant hypersensitive response: concepts, control and consequences. *Molecular Plant Pathology* 20, 1163–1178.
- Bendahmane, A., Kanyuka, K., Baulcombe, D.C. 1999. The *Rx* gene from potato controls separate virus resistance and cell death responses. *Plant Cell* 11, 781–791.
- Brizard, J.P. et al. 2006. Proteome analysis of plant-virus interactome. Comprehensive data for virus multiplication inside their hosts. functions. *Mol. Cell. Proteomics* 5, 2279–2297.
- Büschges, R. et al., 1997. The barley *Mlo* gene: a novel control element of plant pathogen resistance. *Cell* 88, 695-705.
- Cawly, J., Cole, A. B., Király, L., Qiu, W., Schoelz, J. E. 2005. The plant gene CCD1 selectively blocks cell death during the hypersensitive response to Cauliflower mosaic virus infection. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 18, 212-219.
- Clausen, R.E., Goodspeed, T.H. 1925. Interspecific hybridization in *Nicotiana*. II. A tetraploid *glutinosa-tabacum* hybrid, an experimental verification of Winge's hypothesis. *Genetics* 10, 278-284.
- Clough, S.J. et al., 2000. The *Arabidopsis dnd1* "defense no death" gene encodes a mutated cyclic nucleotide-gated ion channel. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97, 9323-9328.
- Cole, A.B. et al., 2004. Temporal expression of PR-1 and enhanced mature plant resistance to virus infection is controlled by a single dominant gene in a new *Nicotiana* hybrid. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 17, 976 –985.
- Cole, A.B. et al., 2001. Uncoupling resistance from cell death in the hypersensitive response of *Nicotiana* species to *Cauliflower mosaic virus* infection. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 14, 31–41.
- Deng, X.G. et al., 2016. Orchestration of hydrogen peroxide and nitric oxide in brassinosteroid-mediated systemic virus resistance in *Nicotiana benthamiana*. *Plant J.* 85, 478-493.
- Doke, N., Ohashi, Y. 1988. Involvement of an O₂^{••} generating system in the induction of necrotic lesions on tobacco leaves infected with tobacco mosaic virus. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 32, 163-175.
- Dubiella, U. et al., 2013. Calcium-dependent protein kinase/NADPH oxidase activation circuit is required for rapid defense signal propagation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 110, 8744-8749.
- Fodor, J. et al., 1997. Local and systemic responses of antioxidants to tobacco mosaic virus infection and to salicylic acid. *Plant Physiol.* 114, 1443-1451.
- Ghanta S. et al., 2011. *Nicotiana tabacum* overexpressing γ -ECS exhibits biotic stress tolerance likely through NPR1-dependent salicylic acid-mediated pathway. *Planta* 233, 895-910.
- Ghanta, S. et al., 2014. Multistep involvement of glutathione with salicylic acid and ethylene to combat environmental stress. *J. Plant Physiol.* 171, 940–950.
- Goodman, R.N., Novacky, A.J. 1994. *The Hypersensitive Reaction in Plants to Pathogens*. APS Press, St. Paul, MN.
- Govrin, E.M., Levine, A. 2000. The hypersensitive response facilitates plant infection by the necrotrophic pathogen *Botrytis cinerea*. *Curr. Biol.* 10, 751-757.
- Gullner, G., Fodor, J., Király, L. 1995. Induction of glutathione-S-transferase activity in tobacco by tobacco necrosis virus infection and by salicylic acid. *Pesticide Sci.* 45, 290-291.
- Gullner, G. et al., 2018. Glutathione S-transferase enzymes in plant-pathogen interactions. *Front. Plant Sci.* 9, 1836.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. 2015. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press Inc., New York, 944 p.
- Han, Q. et al., 2016. A glutathione S-transferase gene from *Lilium regale* Wilson confers transgenic tobacco resistance to *Fusarium oxysporum*. *Sci. Hortic.* 198, 370–378.
- Han, Y.I. et al., 2013. Functional analysis of *Arabidopsis* mutants points to novel roles for glutathione in coupling H₂O₂ to activation of salicylic acid accumulation and signalling. *Antioxidants & Redox Signaling.* 18, 2106-2121.
- Hatsugai, et al., 2015. Vacuolar processing enzyme in plant programmed cell death. *Frontiers Plant Sci.* 6, 234.
- Heath, M.C. 2000. Advances in imaging the cell biology of plant-microbe interactions. *Annu. Rev. Phytopathol.* 38, 443–459.

- Jurkowski, G.I. et al., 2004. *Arabidopsis* DND2, a second cyclic nucleotide-gated ion channel gene for which mutation causes the "defense no death" phenotype. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 17, 511-520.
- Kachroo, P. et al., 2000. Resistance to turnip crinkle virus in *Arabidopsis* is regulated by two host genes and is salicylic acid dependent but *NPR1*, ethylene and jasmonate independent. *Plant Cell* 12, 677-690.
- 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.
- Király, L. et al., 2008. Suppression of tobacco mosaic virus-induced hypersensitive-type necrotisation in tobacco at high temperature is associated with down-regulation of NADPH oxidase and superoxide and stimulation of dehydroascorbate reductase. *J. Gen. Virol.* 89, 799-808.
- Király, L., Künstler, A., Albert, R. 2018. Inheritance of biochemical markers of graft-transmissible resistance to powdery mildew (*Leveillula taurica*) in progeny of grafted, resistant pepper. *Plant Biotic Stresses & Resistance Mechanisms III Conference*, Vienna, Austria. Abstract, p. 14.
- Király, L. et al., 2012. Sulfate supply influences compartment specific glutathione metabolism and confers enhanced resistance to *Tobacco mosaic virus* during a hypersensitive response. *Plant Physiol. Biochem.* 59, 44-54.
- Király, L. et al., 2024. Enhanced resistance to viruses, bacteria and abiotic stress in *Nicotiana edwardsonii* var. Columbia is dependent on salicylic acid and correlates with high glutathione levels. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 37, 36–50.
- Larson, R.L. et al., 2008. Proteome changes in sugar beet in response to *Beet necrotic yellow vein virus*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 72, 62–72.
- Levine, A. et al., 1994. H₂O₂ from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response. *Cell* 79, 583-593.
- Liu, Y. et al., 2005. Autophagy regulates programmed cell death during the plant innate immune response. *Cell* 121, 567-577.
- Lukan, T. et al., 2020. Precision transcriptomics of viral foci reveals the spatial regulation of immune-signaling genes and identifies RBOHD as an important player in the incompatible interaction between potato virus Y and potato. *Plant J.* 104:645–661.
- Lukan, T. et al., 2023. Chloroplast redox state changes mark cell-to-cell signaling in the hypersensitive response. *New Phytol.* 237, 548-562.
- Pagán, I., García-Arenal, F. 2018. Tolerance to plant pathogens: Theory and experimental evidence. *Int. J. Mol. Sci.* 19, 810.
- Park C.-J. et al., 2004. Pathogenesis related protein 10 isolated from hot pepper functions as a ribonuclease in an antiviral pathway. *Plant J.* 37, 186-198.
- Paudel, D.B., Sanfaçon, H. 2018. Exploring the diversity of mechanisms associated with plant tolerance to virus infection. *Front. Plant Sci.* 9, 1575.
- Pesti, R. et al., 2019. Differential gene expression and physiological changes during acute or persistent plant virus interactions may contribute to viral symptom differences. *PLOS ONE* 14, e0216618.
- Peterhänsel, C. et al., 1997. Interaction analyses of genes required for resistance responses to powdery mildew in barley reveal distinct pathways leading to leaf cell death. *Plant Cell* 9, 13497-1409.
- Piffanelli, P. et al., 2002. The barley MLO modulator of defense and cell death is responsive to biotic and abiotic stress stimuli. *Plant Physiol.* 129, 1076-1085.
- Pislewska-Bednarek, M. et al., 2018. Glutathione transferase U13 functions in pathogen-triggered glucosinolate metabolism. *Plant Physiol.* 176, 538–551.
- Šubr, Z. et al., 2020. Comparative transcriptome analysis of two cucumber cultivars with different sensitivity to Cucumber mosaic virus infection. *Pathogens* 9, 145.
- Takahashi, H. et al., 2012. Cyclic nucleotide-gated ion channel-mediated cell death may not be critical for *R* gene-conferred resistance to *Cucumber mosaic virus* in *Arabidopsis thaliana*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 79, 40–48.
- Wolter, M. et al., 1993. The *mlo* resistance alleles to powdery mildew infection in barley trigger a developmentally controlled defense mimic phenotype. *Mol. Gen. Genet.* 239, 122-128.
- Wu, J. et al., 2017. ROS accumulation and antiviral defence control by microRNA528 in rice. *Nat Plants* 3, 16203
- Xia, X.J. et al., 2009. Reactive oxygen species are involved in brassinosteroid-induced stress tolerance in cucumber. *Plant Physiol.* 150, 801-814.
- Yang, M. et al. 2018. *Barley stripe mosaic virus* *γb* interacts with glycolate oxidase and inhibits peroxisomal ROS production to facilitate virus infection. *Molecular Plant* 11, 338–341.
- Yu, I.C., Parker, J., Bent, A.F. 1998. Gene-for-gene disease resistance without the hypersensitive response in *Arabidopsis dnd1* mutant. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95, 7819-7824.
- Zhang, D., et al. 2023. The MAPK-Alfin-like 7 module negatively regulates ROS scavenging genes to promote NLR-mediated immunity. *PNAS* 120, e2214750120.