

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

ALBERT RÉKA

**MOSONMAGYARÓVÁR
2019**

**SZÉCHENYI ISTVÁN EGYETEM
MEZŐGAZDASÁG- ÉS ÉLELMISZERTUDOMÁNYI KAR
NÖVÉNYTUDOMÁNYI TANSZÉK**

**WITTMANN ANTAL NÖVÉNY-, ÁLLAT- ÉS ÉLELMISZER-
TUDOMÁNYI MULTIDISZCIPLINÁRIS
DOKTORI ISKOLA**

**HABERLANDT GOTTLIEB NÖVÉNYTUDOMÁNYI
DOKTORI PROGRAM**

**DOKTORI ISKOLAVEZETŐ:
DR. ÖRDÖG VINCE DSc
EGYETEMI TANÁR**

**PROGRAMVEZETŐ:
DR. ÖRDÖG VINCE DSc
EGYETEMI TANÁR**

**TÉMAVEZETŐ:
DR. KIRÁLY LÓRÁNT Ph.D.
TUD. FŐMUNKATÁRS**

**A SZUPEROXID - SZABADGYÖK SZEREPE
TÜNETMENTES NÖVÉNYI
BETEGSÉGREZISZTENCIÁKBAN**

**KÉSZÍTETTE:
ALBERT RÉKA**

**MOSONMAGYARÓVÁR
2019**

**A szuperoxid - szabadgyök szerepe tünetmentes növényi
betegségrezisztenciákban**

Írta:

ALBERT RÉKA

**Készült a Széchenyi István Egyetem Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Kar
Wittmann Antal Növény-, Állat- és Élelmiszer- tudományi Multidiszciplináris
Doktori Iskola
Haberlandt Gottlieb Növénytudományi Doktori Programja keretében**

Témavezető: Dr. Király Lóránt

Elfogadásra javaslom (igen / nem)

(aláírás)

A jelölt a doktori szigorlaton.....%-ot ért el,

Mosonmagyaróvár,

.....
a Szigorlati Bizottság Elnöke

Az értekezést bírálóként elfogadásra javaslom (igen/nem)

Első bíráló (Dr.) igen/nem

(aláírás)

Második bíráló (Dr.) igen/nem

(aláírás)

Esetleg harmadik bíráló (Dr.) igen/nem

(aláírás)

A jelölt az értekezés nyilvános vitáján%-ot ért el.

Mosonmagyaróvár,

A Bírálóbizottság elnöke

Doktori (PhD) oklevél minősítése.....

Az EDT elnöke

KIVONAT

Háromféle kórokozó-növény kölcsönhatásban vizsgáltuk a betegségrezisztencia különböző típusait kísérő biokémiai és genetikai változásokat.

A burgonya *Rx1* rezisztenciagénje a burgonya X vírussal (*Potato virus X*, PVX) szembeni tünetmentes extrém rezisztenciát (ER) határozza meg. Kimutattuk, hogy az *Rx1* gént kifejező dohány (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun *NN Rx1*) a hazai PVX Ny törzssel szemben is ER-t ad. A vírusreplikáció korai gátlása miatt az ER-nél nincs idő a HR tünetek (hiperszenzitív lokális nekrosis) kialakítására, de a vírusgátlás mechanizmusa tisztázatlan. Egy reaktív oxigénfajta (reactive oxygen species: ROS), a szuperoxid ($O_2^{\cdot-}$) felhalmozódása az ER-t mutató „Rx” dohányban jól korrelált a PVX rezisztenciával. A PVX-szel fertőzött „Rx” dohányban a szuperoxid szintjének mérsékelése (antioxidáns infiltrálás, keresztezés ROS-termelésben gátolt dohánnyal) az ER-t megtörte így hiperszenzitív reakció (HR) szerű lokális nekrosis alakult ki, és a PVX - titer megnőtt. PVX-re fogékony dohányban (cv. Samsun *NN*) egy szuperoxidképző ágenssel (riboflavin/metionin) történő kezelésre részleges PVX - rezisztencia alakult ki: a HR-szerű lokális nekrosis megjelenésével a vírusszint is alacsonyabb volt. A PVX-szel szembeni tünetmentes (ER) és a dohány mozaik vírussal (*Tobacco mosaic virus*, TMV) szembeni HR típusú rezisztenciát az „Rx” dohányban összehasonlítva kimutattuk, hogy az ER során a HR-nél aktív növényi védekezési folyamatok (pl. sejthalál-, ill. ROS-szabályozó gének, antioxidánsok működése) alig észlelhetők.

A növényi betegségrezisztencia kertészeti oltással is átvihető, de a rezisztencia átvitelének élettani háttere nem ismert. Egy paprikalisztharmatra (*Leveillula taurica*) fogékony étkezési paprika (*Capsicum annuum* cv. Totál) rezisztenssé vált, ha ellenálló cseresznyepaprikára (*C. annuum* var. *cerasiforme* cv. Szentesi) oltottuk. Az oltással átvihető, tünetmentes (HR nélküli) lisztharmat rezisztencia jól korrelált a szuperoxid - felhalmozódással és a NADPH-oxidáz – aktivitással. Emelett több más védekezési folyamat működése is előrejelezte: magas szabad szalicilsavszint, spontán sejthalások, magas *CaPR-1*, *CaPR-2*, alacsony *CaMlo1*, *CaMlo2* génexpresszió. A lisztharmat rezisztencia néhány biokémiai markere (fokozott NADPH-oxidáz aktivitás, magas *CaPR-1*, *CaPR-2*, alacsony *CaMlo1*, *CaMlo2* expresszió) az oltott, rezisztens paprikák

utódainak felében öröklődött. A markerek közül négy (fokozott NADPH – oxidáz - aktivitás, magas *CaPR-1* és *CaPR-2*, alacsony *CaMlo2* expresszió) feltehetően kapcsolatosan öröklődik, nagyrészt ugyanazokban az utódokban fordult elő. Három marker (fokozott *CaPR-1* és *CaPR-2* génexpresszió, alacsony *CaMlo2* expresszió) a keresztezett saját gyökerű fogékony és rezisztens paprika F₁ utódainak [Totál (♀) x Szentesi (♂)] felében szintén kapcsolatosan öröklődött.

Egy fontos növényi ROS, a szuperoxid felhalmozódása meghatározó tényezője két, tünetmentes (HR nélküli) rezisztenciának: dohányban a PVX-szel szembeni extrém rezisztenciának és paprikában a liztharmattal szembeni, oltással átvihető ellenállóságnak.

ABSTRACT

Accumulation of the plant reactive oxygen species (ROS), superoxide ($O_2^{\bullet -}$) contributes to symptomless (no HR-type necrosis) resistance: in tobacco, extreme resistance (ER) to *Potato virus X* (PVX) and in pepper, graft-transmissible resistance to powdery mildew (PM, *Leveillula taurica*). Reduction of $O_2^{\bullet -}$ (ROS) accumulation during ER to PVX partially breaks ER, while elevation of $O_2^{\bullet -}$ levels in PVX susceptible tobacco confers partial PVX resistance: HR-necrosis appears and PVX titers decrease. In PM-resistant pepper ('Szentesi', Szentesi+Total grafts) $O_2^{\bullet -}$ accumulation correlates with NADPH oxidase activity and graft-transmissible PM resistance. Biochemical markers of graft-transmissible PM resistance (NADPH oxidase activity, high *CaPR1*, *CaPR2*, low *CaMlo1*, *CaMlo2* expression) are inherited in progeny of resistant pepper. Further research should clarify function(s) of $O_2^{\bullet -}$ in symptomless plant disease resistance.

TARTALOMJEGYZÉK

	oldal
<i>1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉS</i>	3
<i>2. SZAKIRODALMI ÁTTEKINTÉS</i>	7
2.1. A növényi betegségrezisztencia legfontosabb formái	7
2.1.1. Általános (nem-specifikus) rezisztencia	7
2.1.1.1. Nem rassz-specifikus mlo-rezisztencia	8
2.1.1.2. Kvantitatív rezisztencia	9
2.1.2. Specifikus (gén-génnel szembeni) rezisztencia	9
2.1.2.1. Extrém rezisztencia és „immunitás”	10
2.1.3. Az általános (nem-specifikus) és specifikus rezisztencia közötti kapcsolat – a növények két védelmi vonala	10
2.1.4. Szerzett rezisztencia	12
2.2. A növényi betegségrezisztencia fontosabb biokémiai faktora	13
2.2.1. Reaktív oxigénfajták, antioxidánsok, növényi betegségrezisztencia	13
2.2.2. A NADPH-oxidázok szerepe a ROS-képződésben és a növényi betegségrezisztenciában	18
2.2.3. A patogenezissel kapcsolatos fehérjék és a növényi betegségrezisztencia	20
2.2.4. A szalicilsav jelentősége a növényi betegségrezisztenciában	23
2.3. Növénykórokozó vírusok	26
2.3.1. Burgonya X vírus (Potato virus X, PVX)	27
2.3.1.1. Az Rx gének által meghatározott, tünetmentes (extrém) vírusrezisztencia	28
2.3.2. Dohány mozaik vírus (Tobacco mosaic virus, TMV)	29
2.3.2.1. Az N gén által meghatározott, lokális sejt/szöveti elhalással (HR) járó vírusrezisztencia	30
2.4. Lisztharmatgombák	31
2.4.1. A paprikalisztharmat (<i>Leveillula taurica</i>) jelentősége	32
2.5. A kertészeti oltással átívhető növényi betegségrezisztencia	35
<i>3. ANYAG ÉS MÓDSZER</i>	38
3.1. A kísérletekhez felhasznált növények	38
3.2. A kísérletekhez felhasznált növényi kórokozók	39
3.3. A szuperoxid kimutatása	40
3.4. Sejthalál festés paprika levélszövetekben	40
3.5. PVX – fogékonyág kialakítása rezisztens dohányban antioxidáns enzimek (SOD és CAT) infiltrálásával	41
3.6. PVX – rezisztencia kialakítása fogékony dohányban szuperoxid (ROS) képző ágens infiltrálásával	41
3.7. Génkifejeződési vizsgálatok, a PVX és TMV RNS-szintű és a paprika lisztharmat (<i>Leveillula taurica</i>) DNS-szintű kimutatása	42
3.7.1. Felhasznált primerek	45
3.8. Szabad és kötött szalicilsav mérése paprikanövényekben	46
3.9. NADPH-oxidáz enzim aktivitásának mérése paprika szövetekből	47
3.10. Glutacion mennyiségének meghatározása TMV-vel, valamint PVX-szel fertőzött dohánynövényben spektrofotometriás módszerrel	48
3.11. Glutacion-reduktáz és glutation-S-transzferáz enzim aktivitásának mérése TMV-vel, illetve PVX-szel fertőzött dohány növényben spektrofotometriás módszerrel	49
3.11.1. Glutacion-reduktáz aktivitásának mérése	49
3.11.2. Glutacion-S-transzferáz aktivitásának mérése	50
<i>4. EREDMÉNYEK</i>	51
4.1. A szuperoxid hozzájárulása az <i>Rx1</i> rezisztenciagén által burgonya X vírus (PVX) ellen biztosított tünetmentes (extrém) rezisztenciához, dohányban	51
4.1.1. Az <i>Rx1</i> rezisztenciagén működésének kimutatása transzgenikus dohányban	52
4.1.2. Az <i>Rx1</i> gén által meghatározott, PVX-szel szembeni extrém rezisztencia kimutatása dohányban	53
4.1.3. A szuperoxid korai felhalmozódásának mérése NBT - szövetfestéssel a PVX-szel szemben extrém rezisztens <i>Rx1</i> dohányban	55
4.1.4. Az NBT - szövetfestés dohányban specifikus a szuperoxidra	57
4.1.5. Antioxidáns enzimek (SOD és CAT) infiltrálásának hatása a PVX-szel szembeni extrém rezisztenciára <i>Rx1</i> dohányban	58
4.1.6. A ROS - képződés gátlásának hatása a PVX-szel szembeni extrém rezisztenciára <i>Rx1</i> dohányban	61
4.1.7. PVX - rezisztencia kialakítása fogékony dohányban (cv. Samsun NN) szuperoxidot (ROS) képző ágens infiltrálásával	66

4.2. A PVX-szel szembeni tünetmentes, extrém rezisztencia és a TMV által kiváltott, lokális nekrozissal (HR) járó ellenálló képesség összehasonlítása dohányban - védekezéssel kapcsolatos gének és antioxidánsok aktivitása.....	68
4.2.1. Védekezéssel kapcsolatos gének expressziója a tünetmentes ER és a HR során	70
4.2.2. Glutation felhalmozódásának meghatározása a tünetmentes ER és a HR során	75
4.2.3. Glutation-reduktáz és glutation-S-transzferáz enzimek aktivitása a tünetmentes ER és a HR során	76
4.3. A paprika lisztharmattal szembeni, oltással átvíhető tünetmentes rezisztenciája cseresznyepaprikában – élettani háttér, a szuperoxid felhalmozódás szerepe	79
4.3.1. A cseresznyepaprika oltással átvíhető lisztharmat - rezisztenciája együtt jár-e a kórokozó gátlásával?	81
4.3.2. A szuperoxid - felhalmozódás és a NADPH-oxidáz aktivitásának szerepe a ‘Szentesi’ cseresznyepaprika oltással átvíhető lisztharmat - rezisztenciájában.....	83
4.3.3. A szuperoxid - felhalmozódás és a NADPH-oxidáz aktivitásának összefüggése cseresznyepaprika-alanyok oltással átvíhető lisztharmat - rezisztenciájával	86
4.3.4. Védekezési folyamatok a ‘Szentesi’ cseresznyepaprika oltással átvíhető lisztharmat - rezisztenciájában: szalicilsav - felhalmozódás és spontán sejtelhalások.....	88
4.3.5. Védekezési folyamatok a ‘Szentesi’ cseresznyepaprika oltással átvíhető lisztharmat - rezisztenciájában: patogenezissel kapcsolatos és sejthalált szabályozó gének kifejeződése	92
4.3.6. Az oltással átvíhető lisztharmat - rezisztencia biokémiai markereinek öröklődése paprikában, az oltott rezisztens növények utódaiban.....	96
4.3.7. Az oltással átvíhető lisztharmat - rezisztencia biokémiai markereinek öröklődése paprikában, a keresztezett saját gyökerű rezisztens és fogékony növények utódaiban	99
5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK	101
6. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK	120
7. ÖSSZEFOGLALÁS	122
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	127
Ábrák-, táblázatok jegyzéke.....	129
IRODALOMJEGYZÉK	135
Publikációs lista.....	176

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉS

A növények általában sikeresen védekeznek az őket támadó kórokozók fertőzésével szemben, de ez olykor mellékhatásokkal is járhat, pl. a megtámadott növényi szövetek elhalásával, vagy lassabb növekedéssel. A betegségek elleni védekezés (rezisztencia) akkor hatékony, ha gyors lefolyású, a kórokozót hamar hatástalanítja, és így a növényi szervezet erőforrásait kevésbé köti le. Ilyenkor a gazdanövény általában tünetmentesen képes az adott kórokozó fertőzésének ellenállni. A növénynemesítés, ill. a mezőgazdasági gyakorlat számára ezért fontos lehet az olyan természetű növényfajták előállítása, amelyek egy vagy több kórokozóval szemben tünetmentesen képesek védekezni.

A növényi betegségrezisztencia kialakulása számos élettani folyamattal kapcsolatos: Ilyenek pl. az antimikrobiális vegyületek felhalmozódása, a sejtfal megerősítése, a lokalizált sejt- és szövetelhalás (HR), valamint a reaktív oxigénfajták (reactive oxygen species: ROS) felhalmozódása. A ROS, azon belül is a szuperoxid ($O_2^{\bullet -}$) és hidrogén-peroxid (H_2O_2) kettős szerepet játszanak a növényi betegségrezisztenciában: kis koncentrációban a rezisztencia jelátvivői, míg nagy mennyiségben a gazdanövényt és a kórokozót is károsíthatják.

Az *Rx1* gén által a burgonya X vírus (*Potato virus X*, PVX) ellen biztosított ún. extrém rezisztencia tünetmentes, azaz hiperszenzitív reakció (HR, lokális sejt- és szövetelhalás) nélküli extrém ellenálló képesség nyilvánul meg burgonyában és dohányban (Bendahmane et al., 1999). Ennek az extrém rezisztenciának az okát a kutatók abban látták, hogy a vírusreplikáció gátlása olyan korán következik be, hogy nincs idő

a hiperszenzitív tünetek kialakítására. A vírusgátlás mechanizmusa azonban mind ez idáig ismeretlen.

Az MTA ATK Növényvédelmi Intézetében végzett előkísérleteink szerint a PVX fertőzésre extrém rezisztens dohányban (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun *NN Rx1*) kismértékben megemelkedik a szuperoxid mennyisége, a fogékony növényekhez képest. Ezek szerint a PVX-szel szembeni tünetmentes, extrém rezisztencia egyik oka az *Rx* gén által biztosított nagyon korai szuperoxid (ROS) felhalmozódás lehet, amely a vírus replikációját gátolhatja.

A kertészeti oltással átvitt betegségezisztenciát újabban a zöldségnövényeknél is egyre gyakrabban alkalmazzák, elsősorban a talaj eredetű kórokozók ellen (Louws et al., 2010; Al-Mawaali et al., 2012; Guan és Zhao, 2012). Az oltással átvitt rezisztencia pontos élettani, biokémiai és genetikai háttere azonban jelenleg tisztázatlan.

Az MTA ATK Növényvédelmi Intézetében és a Szegedi Tudományegyetem Mezőgazdasági Karán végzett előzetes megfigyeléseink szerint a paprikalisztharmat (*Leveillula taurica*) gombával szemben rezisztens cseresznyepaprika (*Capsicum annuum* var. *cerasiforme*), mint alany, átadhatja rezisztenciáját a ráoltott fogékony étkezési paprikának (*C. annuum*).

A fokozottan lisztharmatrezisztens (tünetmentes) Szentesi cseresznyepaprikában, ill. a ráoltott, eredetileg fogékony fajtában viszont jóval nagyobb mértékű a szuperoxid-felhalmozódás, mint a saját gyökerű fogékony paprikában.

Doktori munkám fő célkitűzései a következők voltak:

1. Dohányban az *Rx1* gén által a burgonya X vírus (PVX) ellen biztosított tünetmentes, ún. extrém rezisztenciában van-e tényleges szerepe a fertőzés utáni korai szuperoxid felhalmozódásnak?
 - Hogyan befolyásolja az extrém rezisztenciát, ha a növényi szuperoxid (ROS) mennyiségét csökkentjük (antioxidánsok infiltrálásával, ill. ROS-termelésben gátolt dohányjal történő keresztezéssel)?
 - Kialakítható-e a PVX - rezisztencia, ha fogékony növényekben ROS-képző ágensek segítségével a szuperoxid mennyiségét növeljük?
 - A PVX-szel szembeni tünetmentes extrém rezisztenciában hogyan változik egyes védekezéssel kapcsolatos növényi gének expressziója, összehasonlítva a dohány mozaik vírus (TMV) fertőzésére kialakuló hiperszenzitív (HR, lokális sejt- és szövetelhalás) típusú ellenálló képességgel?
2. Cseresznyepaprikában (*Capsicum annuum* var. *cerasiforme*) a paprikalisztharmat-gomba (*Leveillula taurica*) fertőzésével szembeni, oltással átvihető tünetmentes rezisztencia élettani hátterének feltárása.
 - A cseresznyepaprika oltással átvihető lisztharmat rezisztenciája együtt jár-e a kórokozó gátlásával?
 - A lisztharmatrezisztens növények nagy szuperoxid - tartalma milyen összefüggésben áll a rezisztenciával, ill. a növény védekezési folyamataival?

- A szuperoxid felhalmozódásához kapcsolódó génexpressziós, ill. enzimaktivitás - változások, mint rezisztenciamarkerek, öröklődnek-e a rezisztens saját gyökerű, ill. oltott paprikák utódaiban?

2. SZAKIRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A növényi betegségrezisztencia legfontosabb formái

A gazdanövény - kórokozó kapcsolatok alapvetően kétfélek lehetnek: kompatibilisek (fogékonyak) vagy inkompatibilisek (rezisztensek). A növényekben az evolúció során sokféle rezisztenciaforma alakult ki az őket támadó kórokozókkal szemben. A rezisztenciaformák két alapvető csoportja a veleszületett (*innate*) valamint a szerzett (*acquired*) rezisztencia. A veleszületett rezisztencián belül megkülönböztethető az ún. általános vagy nem-specifikus, és a specifikus ellenálló képesség.

2.1.1. Általános (*nem-specifikus*) rezisztencia

Az általános ellenálló képességre jellemző, hogy minden, a növény számára idegen organizmus szaporodását gátolja. A növényvilágban a legáltalánosabb, nem specifikus ellenállóság az ún. nemgazdanövény-rezisztencia (Heath, 2000; Nürnberger és Lipka, 2005; Gill et al., 2015; Lee et al., 2017), amikor egy adott növényfaj minden egyede rezisztens a legtöbb kórokozó faj minden törzsével (rasszával) szemben. Ez a többnyire tünetmentes (sejt- és szövetelhalás nélküli), esetenként lokális szövetelhalással hiperszenzitív reakcióval (HR) kísért védekezés az élővilágban leginkább elterjedt és egyik leghatékonyabb és legtartósabb növényi rezisztenciaforma, hiszen a legtöbb növény a legtöbb kórokozóval szemben ellenálló (Mysore és Ryu, 2004; Schulze-Lefert és Panstruga, 2011).

Dolgozatom témaválasztása miatt külön megemlítendő az általános (nem specifikus) ellenálló képesség két tünetmentes (látható szövetelhalás nélküli) formája: a nem rassz-specifikus *mlo* rezisztencia és az ún. kvantitatív rezisztencia.

2.1.1.1. Nem rassz-specifikus *mlo*-rezisztencia

Ezt a szabad szemmel tünetmentes rezisztenciaformát árpában fedezték fel, amely az árpa - lizstharमतgomba (*Blumeria graminis* f. sp. *hordei*) különböző patogén rasszai ellen hatásos és az *Mlo* gén recesszív mutáns alléljei (*mlo*) kódolják. Az *mlo* mutációk által meghatározott rezisztencia egy tartós, nem rassz-specifikus, szabad földön is hatásos lizstharमत-ellenállóságot biztosít számos termesztett tavaszi árpafajtában már hosszú évtizedek óta (Jørgensen, 1992). Az *mlo*-rezisztens növényekben a lizstharमत által megtámadott, de ellenálló epidermisz sejt ún. papillákat (sejtfal-vastagodásokat) képez, amely feltételezhetően gátolja a fertőző gomba növekedését (Koga et al., 1990; Hüchelhoven et al., 1999). Az *Mlo* gén terméke egy transzmembrán fehérje, amelyet a lizstharमत-rezisztencia, ill. a növényi sejthalál negatív regulátorának tekintenek (Büschges et al., 1997), és az árpán kívül több más egy- és kétszikű növényben is megtalálható, többek között búzában, paradicsomban és paprikában (Consonni et al., 2006; Zheng et al., 2013a; Acevedo-Garcia et al., 2014). Ezek szerint az *mlo* mutációk által meghatározott, nem rassz-specifikus rezisztencia a növényvilágban elvileg egy meglehetősen általánosnak tekinthető lizstharमत-ellenállósági forma lehet.

2.1.1.2. *Kvantitatív rezisztencia*

Ez az általános (nem specifikus) rezisztenciaforma voltaképpen egy lassú sporulációt előidéző vagy csak enyhe fogékonysági tünetekben megnyilvánuló (*rate-limiting*) ellenállóképesség. Hangsúlyozandó, hogy ilyenkor a rezisztenciának nincs szabad szemmel látható, nyilvánvaló tünete. A kvantitatív rezisztenciát (lassú sporuláció) rozsdabetegségeknél és pl. a burgonya fitoftóras betegsége esetében írták le (Song et al., 2003). A védekezési folyamat sejtszintű és molekuláris mechanizmusa is tisztázatlan.

2.1.2. *Specifikus (gén-génnel szembeni) rezisztencia*

Az ún. gén-génnel szembeni (*gene for gene*) specifikus ellenálló képesség (gazda-rezisztencia) talán a legismertebb és leginkább kutatott növényi rezisztenciaforma, amely csak genetikailag meghatározott kórokozó - növény kapcsolatban működik, és sok esetben a megtámadott növényi sejtek/szövetek és a kórokozó halálával (programozott sejthalál) jár együtt (hiperszenzitív /túlérzékenységi/ reakció, HR) (Klement, 1982; Goodman és Novacky, 1994). E rezisztenciaforma felhasználásával sikeresen előállíthatók rezisztens növényfajták, de az ellenálló képesség egy adott kórokozónak csak egyetlen vagy néhány törzsével (rasszával) szemben érvényesül, és a kórokozó új törzsek (rasszok) kialakításával hamar le tudja törni ezt a típusú növényi védekezést (Flor, 1971; Jones és Dangl, 2006; Bent és Mackey, 2007).

Dolgozatom témaválasztása miatt külön megemlítendő, hogy a specifikus (gén-génnel szembeni) ellenálló képességnek léteznek tünetmentes (HR nélküli) típusai is, az ún. extrém rezisztencia, ill. „immunitás”.

2.1.2.1. Extrém rezisztencia és „immunitás”

A specifikus (gén-génnel szembeni) rezisztencia különleges formája az extrém ellenállóképesség, amelyet régebben „immunitás”-nak vagy „immunis válasz”-nak neveztek. Itt nem fejlődik ki a HR, azaz nincsenek lokális sejt- és szöveti elhalások az „immunis” növény megtámadott szervein. Az extrém rezisztencia elsősorban vírusfertőzésekkel szemben érvényesül. A legalaposabban jellemzett extrém rezisztencia a burgonya X vírus (*Potato virus X*, PVX) ellen érvényesül, a rezisztenciát a burgonya *Rx1* vagy *Rx2* génje irányítja (Bendahmane et al., 1999, 2000). Ez egy tipikus gén-génnel szembeni rezisztenciamechanizmus, amely gyorsan kialakul, és emiatt nem teszi lehetővé a HR kifejlődését. Ehhez formailag hasonló „immunis” gyors válasz észlelhető bizonyos búzafajtáknál a szárrozsda (*Puccinia graminis* f. sp. *tritici*) néhány törzsével (rasszával) szemben (Stakman et al., 1944). A növényi extrém rezisztencia, ill. „immunitás” pontos élettani-biokémiai háttere jelenleg nem ismert, így az sem, hogy mi öli meg vagy mi gátolja a vírust, ill. gombát az extrém módon ellenálló növényben.

2.1.3. Az általános (nem-specifikus) és specifikus rezisztencia közötti kapcsolat – a növények két védelmi vonala

Az utóbbi évek kutatásai szerint a növényekben az általános és specifikus rezisztencia folyamatai egymásra épülnek (Tsuda és Katagiri, 2010;

Spoel és Dong, 2012; Gassmann és Bhattacharjee, 2012; Dangl et al., 2013). A növények első védelmi vonala az általános, nem-specifikus rezisztencia, amelyet döntően a – kórokozó és nem kórokozó – mikroorganizmusok sejtfelszíni molekuláris mintázatai (*microbe-associated molecular pattern*, MAMP; *pathogen-associated molecular pattern*, PAMP) váltanak ki, amikor ezeket felismerik a növények kórokozó-felismerő receptor fehérjéi (*pathogen recognition receptor*, PRR). Ez az ún. alap (bazális) rezisztencia, amely tünetmentes és valamennyi kórokozóval szemben megnyilvánul (Jones és Dangl, 2006; Boller és Felix, 2009; Lacombe et al., 2010). Egyes kórokozók viszont képesek gátolni ezt a nem-specifikus rezisztenciát, mivel olyan, ún. effektor fehérjéket juttatnak a növénybe, amelyek elősegítik a kórokozó bejutását, terjedését, így kialakul a fogékonyság. Bizonyos növényekben azonban ilyenkor működésbe lép egy második védelmi vonal, amely az adott növényfajtára és kórokozó törzsre (rasszra) specifikus ellenálló képességet (gén-génnel szembeni vagy gazda-rezisztenciát) eredményez, ugyanis egy adott növényi rezisztenciagén fehérjeterméke (R fehérje) közvetlenül vagy közvetve felismeri a kórokozó megfelelő effektorát (avirulencia /Avr/ fehérjéjét) (Flor, 1971; Gassmann és Bhattacharjee, 2012; Dangl et al., 2013).

A gén-génnel szembeni vagy gazdarezisztencia többnyire sejt-, ill. szöveti elhalással (HR) jár, míg a nemgazda-rezisztencia általában tünetmentes (nincs HR), tehát lényegében azonos a PAMP-indukálta, nem-specifikus (alap) rezisztenciával. A tünetmentes (I-es típusú) nemgazda-rezisztencia (Mysore és Ryu, 2004; Senthil-Kumar és Mysore, 2013) egyik lehetséges oka a gazda-, és a nemgazdanövény közötti

viszonylag nagyobb rendszertani távolság (pl. dohány és árpa), feltehetően azért, mert a kórokozó effektorai “nem találják” a fogékonyság kialakításához szükséges növényi célfehérjéket, de a gazdarezisztencia indukálásához szükséges R fehérjéket sem. Ugyanakkor bizonyos esetekben a nemgazda-rezisztencia is járhat HR-rel (II-es típus), általában akkor, ha a gazda- és a nemgazdanövény közeli rokonok (pl. dohány és paprika) és ezért a kórokozó effektorok növényi célfehérjéi is hasonlóak (Schulze-Lefert és Panstruga, 2011).

2.1.4. Szerzett rezisztencia

A szerzett rezisztencia során egy többnyire sejt- és szöveti elhalással járó elsődleges fertőzés után a növény rezisztens lesz későbbi fertőzésekre, ill. abiotikus stresszekkel szemben (Kuc, 1982; Ryals et al., 1996; Fu és Dong, 2013). Ilyenkor a szerzett rezisztencia az első fertőzés környékén (lokálisan) vagy egészen távoli növényi szervekben (szisztémikusan) is kialakulhat (Ross, 1961a, b). Ez a rezisztenciátípus tehát nem specifikus, és ez azt is jelenti, hogy általában az indukált rezisztenciát kiváltó aktivátorok sem specifikusak, rendszertanilag egymástól távol álló növényekben is működnek, és kémiaileg egymástól eltérő vegyületek. A szalicilsav (SA) az első olyan vegyületek egyike, amelyről kimutatták, hogy növényi betegség ellenállóságot vált ki. A szerzett rezisztenciában a SA felhalmozódása az első fertőzés után a távoli levelekben is megfigyelhető (Malamy et al., 1990; Métraux et al., 1990), de nem ez a vegyület a szisztémikus jelátvivő, hanem többek között a SA metilált származéka (MeSA) és egyéb vegyületek (pl. azelainsav, pipekolinsav,

glicerín-3-foszfát, DIR1 lipid transzfer protein) (Park et al., 2007; Ádám et al., 2018).

2.2. A növényi betegségrezisztencia fontosabb biokémiai faktorai

A növények különféle élettani-biokémiai mechanizmusokon alapuló stratégiákkal igyekeznek védekezni a kórokozók támadása ellen. Ilyen védekezési stratégiák az antimikrobiális vegyületek (pl: fitoalexinek) felhalmozódása, a sejtfal megerősítése (papillaképződés), lokalizált sejt- és szövetelhalás (hiperszenzitív reakció, HR), reaktív oxigénfajták felhalmozódása (Goodman et al., 1986; Jones és Dangl 2006; Torres, 2010; Spoel és Dong 2012; Lehmann et al., 2015).

Dolgozatom témaválasztásához kapcsolódóan elsősorban 1) a reaktív oxigénfajták és az azokat semlegesítő antioxidánsok, 2) az ún. patogenezissel kapcsolatos (PR) fehérjék, ill. kódoló génjeik (PR gének), valamint 3) egy fontos hormonvegyület, a szalicilsav (SA) növényi betegségrezisztenciában betöltött szerepe kerül ismertetésre.

2.2.1. Reaktív oxigénfajták, antioxidánsok, növényi betegségrezisztencia

A növények különböző stresszekre (pl. szárazság, hőmérsékletváltozás, kórokozó fertőzése) adott válasza többek között az ún. reaktív oxigénfajták (reactive oxygen species: ROS) felhalmozódása, amely oxidatív stresszhez vezethet. Bizonyos mértékű állandó ROS-felhalmozódás eukarióta (növényi) szervezetekben normálisnak tekinthető (pl. fotoszintézis és légzési lánc elektrontranszportja), de a növények aktívan is képesek ROS előállítására kórokozók támadása (és

egyéb stresszek) esetén. Oxidatív stressz során viszont a növényben felborul a ROS (prooxidánsok) és az antioxidánsok közötti egyensúly a ROS javára. A reaktív oxigénfajták közé tartoznak a párosítatlan elektronnal rendelkező oxigén - szabadgyökök, pl. a szuperoxid ($O_2^{\bullet-}$), hidroxilgyök (OH^{\bullet}), valamint olyan molekulák, mint a hidrogén-peroxid (H_2O_2) és a szinglett oxigén (1O_2), melyekből reakcióik során szabad gyökök képződnek.

A szuperoxid ($O_2^{\bullet-}$) molekuláris oxigénből egyelektronos redukcióval keletkező, mérsékeltén reakcióképes, rövid életidejű forma. Nem képes a membránokon keresztüli diffúzióra, de protonált formája, a hidroperoxil (perhidroxil) - gyök (HO_2^{\bullet}), lipidoldékonyabb. A szuperoxid - és a hidroperoxil - gyök az élő sejtekben sav - bázis egyensúlyt alkot. A szuperoxid közvetlenül hidrogén-peroxiddá redukálódik, ez általában spontán (enzimes katalízis nélküli) folyamat, de szuperoxid-dizmutáz (SOD) segítségével is lejátszódhat (Elstner, 1982; Cadenas, 1989; Sutherland, 1991; Apel és Hirt, 2004; Halliwell és Gutteridge, 2015).

A szuperoxid-dizmutázok a bennük található fémek alapján három különböző csoportba sorolhatók: vas szuperoxid-dizmutázok (FeSOD), mangán szuperoxid-dizmutázok (MnSOD) és réz-cink szuperoxid-dizmutázok (Cu-ZnSOD). Számos növényi sejtsejtszervecske, mint a kloroplasztisz, a mitokondrium, a peroxiszóma, a citoplazma és az intercelluláris tér is mind tartalmaznak szuperoxid-dizmutázt (Alscher et al., 2002; Miller, 2012). A vas szuperoxid dizmutázokra (FeSOD) jellemző, hogy a növényi sejt kloroplasztiszaiban fejtik ki hatásukat. A MnSOD enzimek eukarióta sejtek mitokondriumaiban és peroxiszómáiban találhatóak meg. A réz-cink szuperoxid dizmutázok

(Cu-Zn SOD) aktivitását a citoplazmában, a periplazmatikus térben, illetve a kloroplasztiszokban és az extracelluláris térben figyelték meg. A citoplazmában található Cu-Zn SOD izoenzimek a sejtmagban is előfordulhatnak (Ogawa et al., 1996). A kloroplasztiszok és a citoplazma Cu-Zn SOD-ot kódoló génjei az intronok száma és pozíciója alapján különböztethetők meg (Kliebenstein et al., 1998).

Az oxigén többi aktív formája (ROS) rövid időn belül hidrogénperoxiddá (H_2O_2) alakul, amely – a többi ROS-hoz képest – aránylag stabil molekula, elektromosan semleges, emiatt kevésbé reakcióképes (Halliwell, 2006; Halliwell és Gutteridge, 2015). A H_2O_2 keletkezésének egy másik lehetősége a pH-függő sejtfa peroxidázok által katalizált reakció (Bolwell és Wojtaszek, 1997; O'Brien, 2012). A H_2O_2 aquaporinok közvetítésével képes áthatolni a sejtmembránokon, ezáltal a növényi apoplastból (sejtfalból) bejutni a sejt belsejébe, a citoszolba (Pastori és Foyer, 2002). A sejtekben levő H_2O_2 spontán vagy kataláz enzim segítségével vízzé (H_2O) és molekuláris oxigénné (O_2) alakul át (Elstner, 1982; Cadenas, 1989; Sutherland, 1991; Halliwell, 2006).

A reaktív oxigénfajták közül a szuperoxid ($O_2^{\cdot-}$) HR tünetekkel (lokalizált sejt/szövetelhalás) együtt járó növényi gazdarezisztenciában játszott lehetséges szerepére vírusos- (dohány mozaik vírus, *Tobacco mosaic virus*, TMV) és oomicétás (*Phytophthora infestans*) fertőzéseknél már közel 30 éve felhívták a figyelmet (Doke, 1983a, b; Galal et al., 1993; Doke és Ohashi, 1988). A NADPH-oxidáz enzim által termelt szuperoxid a megtámadott növényi sejtek plazmamembránjában halmozódott fel, de csak a HR-t mutató rezisztens növényekben. Hasonlót tapasztaltak baktériumos fertőzésre HR-típusú nemgazda-

rezisztenciát mutató dohányban is (Ádám et al., 1989). Később többen is rámutattak arra, hogy a HR tünetekkel együtt járó nemgazda-rezisztenciában többféle ROS-nak – így a szuperoxidnak és hidrogén-peroxidnak is – szerepe lehet (Bestwick et al., 1998; Zurbriggen et al., 2009; Kwak et al., 2009).

Az *in planta* $O_2^{\bullet-}$ -termelésért felelős gének (NADPH-oxidáz és Rac GTPáz) inaktiválása a baktériumos- és oomicétás fertőzésekkel szembeni HR-típusú nemgazda-rezisztencia visszaszorulásával járt (Yoshioka et al., 2003; Moeder et al., 2005; An et al., 2017). Újabb kutatások szerint egyes ROS vegyületek, többek között a szuperoxid, a tünetmentes gazda- és nemgazda-rezisztenciában egyaránt fontos tényező lehet, feltehetően azért, mert a megtámadott növényi sejtekben célzottan termelődő ROS időben gátolja a kórokozót és megakadályozza a HR-re jellemző lokális sejt- és szövetelhalást (Bendahmane et al., 1999; Király et al., 2013; Künstler et al., 2018).

A hidrogén-peroxid (H_2O_2) a HR-típusú nemgazda és gazdarezisztencia egyik meghatározó faktora különböző *Pseudomonas syringae* patovarokkal fertőzött szójában, salátában és dohányban (Levine et al., 1994; Bestwick et al., 1998; Yoda et al., 2009). Egy hidrogén-peroxidot bontó enzim, a kataláz túltermeltetése dohányban a TMV-vel szembeni HR-típusú gazda-rezisztencia csökkenését eredményezte (Talarczyk et al., 2002). Az árpa lisztharmattal szembeni gazda- és nemgazda-rezisztenciája során a megtámadott epidermiszsejtekben hidrogén-peroxid halmozódik fel (Hückelhoven et al., 1999, 2001). Hasonló lokalizált H_2O_2 - felhalmozódást tapasztaltak tehénborsóban, amely tünetmentes nemgazda-rezisztenciával reagált az *Erysiphe*

cichoracearum lisztharmatgomba fertőzésére. A rezisztencia azonban részlegesen visszaszorult, ha a leveleket katalázzal kezelték, feltehetően a H₂O₂ lebomlása miatt (Mellersh et al., 2002).

A reaktív oxigénfajták és az antioxidánsok növényi kórfolyamatban játszott szerepe alapvetően különbözhet az ún. biotróf és nekrotróf kórokozók fertőzése esetén. A biotróf kórokozóknak (gombák: lisztharmatok, peronoszpórák, rozsdák, valamint a vírusok, és fitoplazmák) élő növényi sejtekre van szükségük, hogy a gazdaszervezet tápanyagait felhasználhassák. Biotróf kórokozók fertőzésekor fogékony növényekben magas antioxidáns (pl. SOD, aszkorbát-peroxidáz, glutation, aszkorbinsav) kapacitás mérhető, viszont jelentősen csökken a ROS-felhalmozódás és így feltehetően a kórokozógátlása is (El-Zahaby et al., 1995; Vanacker et al., 1998; Mittler et al., 1998; Harrach et al., 2008). Ezzel szemben a nekrotróf kórokozók (pl. *Botrytis cinerea*, *Fusarium culmorum*) fitotoxinjaik és sejtfalbontó enzimeik segítségével többek között ROS - termelést – és csökkenő antioxidáns kapacitást – indukálnak és roncsolják a növényi sejteket, hogy így a szükséges tápanyagokhoz hozzájussanak (Govrin és Levine, 2000; Able, 2003; Barna et al., 2012; Harrach et al., 2013; Spanu és Panstruga, 2017).

A reaktív oxigénfajták alapvetően kettős szerepet játszanak a növény-kórokozó kölcsönhatásokban. Egyrészt korlátozzák a kórokozók terjedését, ennek következtében a fertőzés helyén lokális sejtelhalást (HR) is előidézhetnek, másrészt – alacsonyabb koncentrációban – jelátvivőként indukálják az antioxidánsok és a patogenezissel kapcsolatos (PR) gének/fehérjék általi védekezési válaszokat az érintett területeket körülvevő sejtekben (Levine et al., 1994; Torres et al., 2005; Pogány et

al., 2009). Állandóan nagy mennyiségű hidrogén-peroxidot termelő transzgenikus dohány-, burgonya- és káposztanövények rezisztenssé váltak különféle növénykórokozó baktériumokkal szemben, elsősorban a baktériumok hatékony gátlása és/vagy elölése miatt (Chamngpol et al., 1998; Wu et al., 1995; Lee et al., 2002). A kutatások azt is igazolták, hogy biotróf kórokozókra (pl. lisztharmatok, vírusok) fogékony növényekben rezisztencia indukálható, ha a leveleket a fertőzés után 24 órán belül 20-50 mM hidrogén-peroxiddal vagy H_2O_2 -, ill. szuperoxid-termelést előidéző vegyületekkel (riboflavin és metionin, xanthin és xanthin-oxidáz, glükóz és glükóz-oxidáz) kezelték (Jordan et al., 1992; Hafez és Király, 2003; El-Zahaby et al., 2004; Bacsó et al., 2011). Ezek szerint az egyes reaktív oxigénfajták patogéngátló hatása nagymértékben hozzájárulhat a növényi betegségrezisztenciához. A ROS hatásai fokozottan érvényesülhetnek vírusos fertőzéseknél, hiszen ezek a biotrófnak tekinthető kórokozók – a baktériumok és gombák többségével ellentétben – bejutnak a gazdasejtek intracelluláris terébe, ahol a citoszollal és a sejtalkotókkal érintkeznek. Ezek alapján logikusnak tűnik, hogy az antivirális védekezési válaszok nagymértékben támaszkodnak a sejten belüli, ROS-termeléssel kapcsolatos biokémiai folyamatokra (Hernández et al., 2015; Künstler et al., 2015).

2.2.2. A NADPH-oxidázok szerepe a ROS-képződésben és a növényi betegségrezisztenciában

A szuperoxid ($\text{O}_2^{\bullet-}$) képződése eukarióta szervezetekben nagyrészt a NADPH-oxidáz enzim közreműködésével történik. A NADPH-oxidáz a sejtek plazmamembránjában található, leginkább stresszek és kórokozók

hatására aktiválódik, az általa generált ROS ($O_2^{\bullet-}$) a kórokozó likvidálásában és a (növényi) betegségrezisztencia jelátvitelében játszik szerepet. Doke és munkatársai (Doke, 1985; Doke és Miura, 1995) növényekben elsőként mutatták ki egy NADPH-függő szuperoxid-generáló enzim működését *Phytophthora infestans*-szal fertőzött rezisztens burgonyagumók plazmamembrán frakciójában. A NADPH-oxidáz ún. kalcium-függő enzim, a sejtekben lévő kalcium (Ca^{2+}) is indukálja. Dohányban és lúdfűben (*Arabidopsis thaliana*) a szuperoxid termeléséért felelős NADPH-oxidáz a Ca^{2+} közvetlenül és egy Ca^{2+} -függő proteinkinázon (CPK5) keresztül közvetve is képes aktiválni (Keller et al., 1998; Sagi és Fluhr, 2006; Dubiella et al., 2013; Gilroy et al., 2014). Ezek szerint növényekben a Ca^{2+} kulcsszerepet játszhat a ROS vegyületek ($O_2^{\bullet-}$ és H_2O_2) képződésében, és a növény ROS koncentrációja a Ca^{2+} -szint biokémiai indikátora lehet.

A növényi NADPH-oxidáz enzimeket és kódoló génjeiket az emlősök fagocitáiban található, az ún. *respiratory burst* („légzési robbanás”) folyamatában (kórokozók elminálása) részt vevő NADPH-oxidáz alegységgel (gp91phox) való hasonlóság alapján fedezték fel (Groom et al., 1996; Keller et al., 1998; Torres et al., 1998). A növényi NADPH-oxidázok a kórokozó fertőzési jellegétől és az aktiválódás módjától függően eltérő módon járulnak hozzá a ROS-képződéshez és betegségrezisztenciához (Suzuki et al., 2011; Marino et al., 2012). *Nicotiana benthamiana*-ban pl. két NADPH-oxidáz (RBOH) gént írtak le: az *NbRBOHA* konstitutívan, de csak kismértékben fejeződik ki, míg az *NbRBOHB* gént a *P. infestans* INF1 elicitora indukálja, de mindkét gén működése szükséges a kórokozóval szembeni rezisztenciához

(Yoshioka et al., 2003). *Alternaria brassicicola*-val fertőzött lúdfűben az *AtRBOHD* gén, ill. a kódolt enzimefehérje kettős szerepet játszik: a gomba által károsított növényi sejtek elhalását idézi elő, míg a szomszédos sejtekben gátolja az elhalást (Pogány et al., 2009). Általában a NADPH-oxidáz (RBOH) gének expressziójának hiánya fokozza a növény fogékonyságát biotróf kórokozókkal (pl. lisztharmatok) szemben, ezt több gazdanövény – lisztharmat-kapcsolatban is kimutatták, többek között lúdfű/*Golovinomyces cichoracearum* (Berrocal- Lobo et al. 2010) és árpa/*Blumeria graminis* f. sp. *hordei* (Proels et al. 2010) kombinációkban. Ezek szerint a növényi NADPH-oxidáz-függő ROS-termelés ténylegesen szerepet játszhat ezen kórokozók gátlásában, amelyhez hozzájárulhat a növényi lokális sejt/szöveti elhalás (HR) (Király et al. 1993; El-Zahaby et al., 2004), ill. a megtámadott gazdasejtek papillaképzése (sejtfalvastagodások) (Proels et al. 2010). Ugyanakkor a NADPH-oxidáz-mutáns növények fertőzése nekrotrófokkal gyakran fokozza a rezisztenciát. Ezt tapasztalták pl. *A. brassicicola*-val fertőzött lúdfűben és *Botrytis cinerea*-val fertőzött *N. benthamiana*-ban (Asai és Yoshioka, 2009; Pogány et al., 2009). A NADPH-oxidázok által termelt ROS ezek szerint elősegítheti a növény nekrotrófok általi kolonizációját, vélhetően a megtámadott gazdasejtek elhalásának elősegítésével (Govrin és Levine, 2000; Barna et al., 2012).

2.2.3. A patogenezissel kapcsolatos fehérjék és a növényi betegségrezisztencia

Az ún. patogenezissel kapcsolatos (PR) fehérjék egészséges növényekben általában nem halmozódnak fel. A PR fehérjék

termelődését, ill. a kódoló gének indukcióját kórokozó fertőzés, valamint abiotikus stressz indukálja (Van Loon et al., 2006). A PR fehérjék és gének korai, erős aktiválódása az inkompatibilis növény – kórokozó kölcsönhatások (azaz rezisztencia) jellemzője (Bell et al., 1986; Van Loon et al., 2006). A kompatibilis kölcsönhatásoknál (azaz fogékonyságnál) azonban inkább a patogenezis késői szakaszában észlelhető PR gén/fehérje indukció, amikor a fertőzött növény már láthatóan károsodott (Reiss és Bryngelsson 1996; Manandhar et al., 1999; Schultheiss et al., 2003; Yeom et al., 2011). Ezek alapján feltételezhető, hogy egyes PR fehérjék – megfelelő időben és helyen felhalmozódva – szerepet játszhatnak a betegség elleni rezisztencia kialakításában.

A PR gének kifejeződését elsőként dohány mozaik vírussal (TMV) fertőzött növényben mutatták ki (Van Loon és Van Kammen, 1970; Gianinazzi et al., 1970). PR géneket konstitutívan kifejező transzgenikus dohányok vizsgálata azonban egyértelműen bizonyította, hogy legalább három PR génnek, ill. fehérjének nincs tényleges szerepe a vírushatásokkal szembeni rezisztenciában (Cutt et al., 1989; Linthorst et al., 1989). Vírushatások esetén csak egy PR gén hozható közvetlenül kapcsolatba az ellenálló képességgel. A PR-10 gének ribonukleázt kódolnak, és paprikában a PR-10 génnek, ill. fehérjének közvetlen szerepe van a TMV-vel szembeni rezisztenciában, a vírus genomi RNS-ének lebontása révén (ribonukleáz aktivitás) (Park et al., 2004). A PR-10 fehérjék funkcionális jelentőségét paprikában és dohányban nekrotróf kórokozó gombákkal szembeni rezisztenciában is kimutatták és a PR-10 ribonukleáz aktivitásával, ill. a citokinin – felhalmozódás serkentésével hozták összefüggésbe (Soh et al., 2012;

Agarwal et al., 2016). Bakteriális fertőzéseknél sem egyértelmű a PR fehérjék szerepe a rezisztenciafolyamatokban. Rayapuram et al. (2008) szerint a PR-13 fehérje antimikrobiális hatást fejt ki *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000-el fertőzött *Nicotiana attenuata*-ban, azonban egy másik PR fehérje, a PR-1 nem rendelkezik antimikrobiális aktivitással, csupán a rezisztencia markere. Ugyanakkor egy kitináz kódoló dohány PR-3 gén (*NtPR-Q*) túltermeltetése fokozta a *Ralstonia solanacearum*-mal szembeni rezisztenciát (Tang et al., 2017). Növénykórokozó gombákkal fertőzött rezisztens növényekben már a 90-es években rámutattak a PR fehérjék lehetséges funkciójára. Egy babból származó kitináz kifejező transzgenikus dohány fokozottan ellenállt a *Rhizoctonia solani* fertőzésével szemben (Brogue et al., 1991). Feltételezhető, hogy a nagy mennyiségben termelt kitináz hatékonyan bontja a kórokozók sejtfalában található kitint. Később további eredmények bizonyították, hogy a *Phytophthora infestans*, *Uromyces fabae*, és a *Rhizoctonia solani* kórokozókkal szembeni rezisztenciában közvetlen szerepe lehet egyes PR géneknek, ill. fehérjéknek (Vigers et al., 1992; Rauscher et al., 1999; Liu et al., 2011). Az eredmények szerint a PR-1 és PR-5 fehérje közvetlenül gátolja a gomba hifáinak növekedését és differenciálódását. A PR-1 fehérjéről újabb kutatások kiderítették, hogy a kórokozó gombákat többféle élettani-biokémiai mechanizmus segítségével is képes gátolni: a gombasejtfalban levő szterolvegyületeket megköti, védekezési szignálpeptidként működik és a kórokozó effektorainak egyik célfehérjéje (lásd Breen et al., 2017).

Néhány PR fehérje olyan enzimaktivitással rendelkezik, amely alapján védekezési funkciójuk (kórokozókra kifejtett gátló hatásuk) közvetlenül

összefügg a növény ROS termelésével. A dohány PR-9 fehérjéről kimutatták, hogy egy ligninképző peroxidáz, amely kórokozó fertőzésnél feltehetően részt vesz a megtámadott növényi sejtek papillaképzéséhez szükséges H_2O_2 termelésében (Lagrimini et al., 1987). Az árpa PR-15 és PR-16 fehérjék oxalát-oxidáz, ill. oxalát-oxidáz-szerű (szuperoxid-dizmutáz) enzimaktivitása pedig H_2O_2 -t halmaz fel a liztharmattal (*B. graminis* f. sp. *hordei*) szemben rezisztens növényben (Zhang et al., 1995; Wei et al., 1998). A növényi PR fehérjék, sokoldalú biokémiai-életteni hatásai révén, egyes gazda – kórokozó kapcsolatokban közvetlenül felelősek lehetnek a rezisztenciáért, bár a fertőzés előrehaladott fázisában fogékonysági faktorokként is hathatnak, és a szöveti nekrozissal és/vagy kórokozó felhalmozódásával együtt járó stressz markerei lehetnek.

2.2.4. A szalicilsav jelentősége a növényi betegségrezisztenciában

A szalicilsav (SA) egy kulcsfontosságú szabályozó növényi hormon a vírusokkal, gombákkal, baktériumokkal szembeni rezisztencia – többek között az ún. szerzett rezisztencia (lásd korábban) – kialakításában (Vlot et al., 2009). A SA a fertőzés helyén felhalmozódva egy transzkripciós kofaktort, az *NPRI* gén (*Nonexpressor of PR Genes 1*) fehérjetermékét aktiválja (Mou et al., 2003; Spoel és Dong, 2012). Ezt követően elsősorban PR fehérjéket és antioxidáns enzimeket kódoló védekezési gének indukálódnak a fertőzés helye körül és a távoli szövetekben egyaránt, kialakítva a lokális, ill. szisztémikus szerzett rezisztenciát. Az SA betegségrezisztenciában játszott szerepének egyik közvetlen bizonyítékul szolgálnak az SA szintézisére, ill. felhalmozására képtelen

transzgenikus növényekben végzett fertőzéses kísérletek. Ezek a dohány- és lúdfűnövények fokozottan fogékonyak voltak többféle kórokozóra (nem tudtak szerzett rezisztenciát kialakítani egy későbbi fertőzésre) (Gaffney et al., 1993; Delaney et al., 1994; Wildermuth et al., 2001; Vlot et al., 2009). A növényekben *in vivo* szintetizált SA általában valamilyen raktározott formává alakul át, ez leggyakrabban a szalicilsav 2-*O*- β -D-glükózid (SAG) (Lee és Raskin, 1999; Song, 2006). A szalicilsav-glükózidok biológiai funkciója nem ismert (Hennig et al., 1993), de mivel lebomlásukból szabad SA keletkezik, közvetetten szerepet játszhatnak növényi betegségrezisztenciában (Yao et al., 2007; Pastor et al., 2013). A szalicilsav növényekben továbbalakulhat a rezisztencia szisztemikus jelátvitelében részt vevő metilszalicilsavvá (MeSA) (Park et al., 2007), melynek szintén létezik glükozilált formája (MeSAG) (Dean et al., 2003).

Növényekben a ROS – termelés szorosan összefügg a szalicilsav metabolizmusával, ill. hatásával. A ROS vegyületek (pl. H_2O_2) kiválthatják a SA felhalmozódását (Neuenschwander et al., 1995; Leon et al., 1995). Ugyankor a SA fokozhatja a H_2O_2 akkumulációját, többek között azért, mert közvetlenül gátolja több H_2O_2 -lebontó (antioxidáns) enzim aktivitását. Ilyen enzimek pl. a kataláz, aszkorbát-peroxidáz, glutation-peroxidáz vagy glutation-S-transzferáz (Chen et al., 1993; Durner és Klessig, 1995; Manohar et al., 2015). A szerzett rezisztencia során azonban a megnövekedett SA – szint végső soron elősegíti az antioxidánsok (glutation, aszkorbát) és antioxidáns enzimek (glutation-S-transzferáz, glutation-peroxidáz, aszkorbát-peroxidáz) szintézisét, ill. aktivitását (Fodor et al., 1997; Urbanek Krajnc et al., 2011). Ennek

fontosságát igazolja, hogy egy szalicilsav-felhalmozásra és normális vírus (TMV) – rezisztenciára képtelen transzgenikus dohányban az antioxidánsok aktivitása is visszaszorul (Király et al., 2002b). A ROS vegyületek és a SA a rezisztens növényekben kölcsönhatnak a redukált glutationnal (GSH) is. Kimutatták, hogy a H_2O_2 növeli a sejten belüli GSH-szintet, amely aktiválja a szalicilsavas jelátvitelt az abiotikus (oxidatív) stressz és a kórokozók elleni védekezésben egyaránt (Ghanta et al., 2011; Han et al., 2013; Herrera-Vásquez et al., 2015).

Általánosan elfogadott, hogy a SA a biotróf kórokozók elleni rezisztenciát indukálja, míg egy másik növényi hormon, a jázmonsav (JA) a nekrotrófok és a sebzések (pl. rovar kártétel) elleni védekezésért felelős (Glazebrook, 2005; Grant és Lamb, 2006; Barna et al., 2012). A SA elsősorban a PR gének indukálásán keresztül fejti ki hatását, míg a JA más típusú védekezési géneket/fehérjéket aktivál (pl. *Jasmonate inducible protein* – *JIP* – gének). A SA és JA által indukált jelátvitel, ill. rezisztenciafolyamatok kölcsönösen elnyomják egymást (antagonista hatás). Spoel és munkatársai (2007) kimutatták, hogy lúdfű (*A. thaliana*) fertőzése biotróf gombával aktiválja a SA jelátvitelt és elnyomja a JA-indukálta védekezést, és feltehetően emiatt nőhet meg a fogékonyság egy nekrotróf későbbi fertőzésével szemben. A SA és JA által indukált rezisztencia közötti kölcsönhatás azonban több mint egyszerű antagonizmus: pl. Abd El Rahman és munkatársai (2012) szerint a nekrotróf *Botrytis cinerea* a SA-jelátvitel aktiválásával teszi fogékonyabbá a paradicsomot saját fertőzésével szemben. Ugyanakkor baktériummal (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*) fertőzött lúdfűben a kórokozó egy JA-hatást utánozó toxin segítségével nyomja el a SA

jelátvitelt, így indukálva fogékonyságot a növényben (Laurie-Berry et al., 2006).

2.3. Növénykórokozó vírusok

A vírusok lényegében fertőző genetikai információk. Felépítésüket tekintve nukleoproteinek, genomjuk egy- vagy kétszálú DNS-ből (dezoxiribonukleinsav) vagy RNS-ből (ribonukleinsav) áll, amelyet köpenyfehérje véd. Az RNS vírusoknál a genom a kódoló információ szempontjából lehet pozitív (+) vagy negatív (-) irányultságú (*sense*) RNS (Horváth és Gáborjányi, 1999; Hull, 2014). A vírusok csak élő szervezetekben képesek fejlődni és sokszorozódni (replikálódni), mivel önálló anyagcserével nem rendelkeznek (biotrófok, obligát paraziták). Replikációjukhoz a gazdasejt fehérje- és nukleinsav-szintetizáló rendszerét programozzák át, hogy a parazitált sejt anyagait és organellumait (riboszómáit) hasznosítva építsék fel magukat és sokszorozódjanak. A növénykórokozó vírusok komoly, akár világszintű járványokat is okozhatnak, éves szinten ez kb. 30 milliárd USD-nek megfelelő termés kiesést jelent (Nicaise, 2014). A mezőgazdasági gyakorlatban a növényi vírusrezisztencia leginkább a megfelelő rezisztenciagének használatával, ill. a vírusvektorok elleni vegyszeres növényvédelemmel oldható meg.

Dolgozatom témaválasztása miatt az alábbiakban két növénykórokozó vírus (PVX és TMV) jelentőségét tárgyalom röviden.

2.3.1. Burgonya X vírus (*Potato virus X*, PVX)

A burgonya X vírus (*Potato virus X*, PVX) a potexvírusok családjába tartozó, elsősorban burgonyát fertőző vírus, de PVX-re fogékonyak a *Solanaceae* növény család más fajai is (pl. a termesztett dohány, *Nicotiana tabacum*). Jelentősége, hogy valamennyi burgonyát termesztő országban előfordul, a fertőzöttség által előidézett termésveszteség 10-20% körüli (Horváth és Gáborjányi, 1999; Hull, 2014). Bár a PVX-szel való fertőzés önmagában csak enyhébb mozaikosodást, levélszél – fodrosodást okoz, gyakran más vírusokkal együtt, komplex formában lép föl, ilyen esetekben a kártétel lényegesen súlyosabb. Dohánynövényekben a leginkább tanulmányozott, PVX-szel szinergizmusra képes vírus a potyvírusok csoportjába tartozó burgonya Y vírus (*Potato virus Y*, PVY). A két vírussal egyszerre megfertőzött növényekben a szisztemikus tünetek jóval erőteljesebbek, és a PVX szintje is többszörösére nő (a PVY mennyisége változatlan marad, vagy inkább csökken) azokhoz a növényekhez képest, amelyek csak az egyik vírussal voltak fertőzve (Goodman és Ross, 1974; Vance, 1991). A PVX fonálszerű, flexibilis virion, nukleinsava egykomponensű, egyszálú +RNS. A vírus genomjában kódolt öt fehérje egyike a vírus köpenyfehérjéje (coat protein: CP), amely a vírus replikációjáért, sejtről sejtre való terjedéséért és enkapszidációjáért („becsomagolódásáért”) felel (lásd pl. Chapman et al., 1992). Reverz genetikai kísérletek igazolták, hogy az *Rx* rezisztenciagének által meghatározott védekezési mechanizmus is a PVX köpenyfehérjéjét ismeri fel, mint effektort (avirulencia fehérjét) (Goulden et al., 1993; Bendahmane et al., 1995). Egy másik, köpenyfehérjével kapcsolatos védekezési rendszer a CP által

közvetített rezisztencia, ennek lényege, hogy a növény nagy mennyiségben termeli a vírus eredetű CP-t, ezért a fertőzés során a növény sejtjeibe jutó vírusrészecskék (virionok) rezisztenciagén(ek) működése nélkül is gátlódnak. Ezt a jelenséget először a dohány mozaik vírus esetében írták le. Azok a transzgenikus dohánynövények, melyek rendelkeztek a TMV köpenyfehérje – génjével, rezisztenssé váltak a TMV és a vele közeli rokonságban álló vírusok fertőzésével szemben (Powell-Abel et al., 1986). Ugyanilyen CP által közvetített rezisztenciát leírtak PVX esetében is (Hemenway et al., 1988; Spillane et al., 1997).

2.3.1.1. Az Rx gének által meghatározott, tünetmentes (extrém) vírusrezisztencia

A gén-génnel szembeni (specifikus) rezisztencia tünetmentes is lehet, ilyen pl. az ún. extrém rezisztencia, a gazdanövények rendkívül gyors és hatékony ellenálló képessége, amely többféle vírussal szemben is megnyilvánulhat (pl. PVX, szója mozaik vírus /*Soybean mosaic virus*, SMV/ vagy tarlórépa göndörödés vírus /*Turnip crinkle virus*, TCV/) (Bendahmane et al., 1999; Cooley et al., 2000; Hajimorad és Hill, 2001). A vadburgonya (*Solanum*) – fajokból származó Rx rezisztenciagének (*Rx1* és *Rx2*) által meghatározott, PVX-szel szembeni ellenállóság is egy hiperszenzitív reakció (lokális sejt/szöveti elhalás, HR) nélküli, tünetmentes (extrém) rezisztencia, amely burgonyában és dohányban egy kivétellel valamennyi ismert PVX törzs ellen hatásos (Goulden et al., 1993; Bendahmane et al., 1999, 2000). Annak ellenére tehát, hogy az Rx fehérjék szerkezete hasonlít a HR-rel járó rezisztenciát meghatározó gének fehérjetermékeihez, az Rx által közvetített extrém rezisztencia nem

jár hiperszenzitív reakcióval. Az extrém rezisztencia működése arra enged következtetni, hogy a fertőzés helyén fellépő sejt-, ill. szöveti nekrozis, és a patogén terjedésének gátlása egymástól független válaszok a növényekben, ugyanis a két folyamat (nekrotizáció és rezisztencia) élettani és genetikai szempontból is szétválasztható, vírusos-, gombás- és baktériumos fertőzéseknél egyaránt (Király et al., 1972; Yu et al., 1998; Bendahmane et al., 1999; Cole et al., 2001; Coll et al., 2010; Künstler et al., 2016). A PVX-szel, ill. más vírusokkal (pl. TCV) szembeni extrém rezisztencia olyan gyorsan kialakul (a kórokozó azonnal gátlódik), hogy nincs lehetőség a HR (növényi sejt/szöveti elhalás) kifejlődésére (Bendahmane et al., 1999; Cooley et al., 2000).

Az extrém ellenálló képesség pontos mechanizmusa azonban tisztázatlan. Elképzelhető, hogy a PVX-szel szembeni tünetmentes, extrém rezisztencia egyik oka a nagyon korai szuperoxid-felhalmozódás, amely a vírus replikációját gátolhatja (Bendahmane et al., 1999). Előkísérleteink szerint a PVX – fertőzésre extrém rezisztens dohányban (*N. tabacum* cv. Samsun *NN Rx1*) kismértékben megemelkedik a szuperoxid ($O_2^{\bullet-}$) mennyisége a fogékony növényekhez képest.

2.3.2. Dohány mozaik vírus (*Tobacco mosaic virus, TMV*)

Adolf Mayer 1886-ban igazolta, hogy a dohány mozaikos betegsége átvihető fertőző dohánynövény szövetnedvével. A TMV-t, egyben az első vírust, Dmitrij Ivanovszkij fedezte fel 1892-ben a dohány mozaikbetegségének tanulmányozása során. A TMV a növények széles körét fertőzi, de gazdanövényei elsősorban a *Solanaceae* családból származnak. A vírus szabályos pálcika formájú, merev, helikális

szimmetriájú, szerkezete egy cső formájú köpenyfehérjéből (kapszid), és egy benne elhelyezkedő vírusgenomból áll. A vírusgenom pozitív, lineáris lefutású egyszálú RNS. A vírus fertőzése vektor nélkül, mechanikailag történik (lásd pl. Horváth és Gáborjányi, 1999). Nem steril körülmények között, szobahőmérsékleten a TMV extrém stabil szerkezete miatt akár 50 évig is megőrzi fertőzőképességét, a csupasz genom stabilitása azonban nem nagyobb, mint bármely más egyszálú RNS-é (lásd pl. Hull, 2014).

2.3.2.1. Az *N* gén által meghatározott, lokális sejt/szöveti elhalással (HR) járó vírusrezisztencia

A gén-génnel szembeni (specifikus) gazda rezisztencia egyik legismertebb modellje a *Nicotiana glutinosa*-ból származó *N* (nekrózis) rezisztenciagént hordozó dohánynövények és a TMV kölcsönhatása (Holmes, 1938). Az *N* gén a TMV mellett a többi rokon tobamovírussal szemben is ellenálló képességet biztosít, kivéve az Óbuda paprika vírust (*Óbuda pepper virus*, ObPV), amely képes áttörni ezt a rezisztenciát (Tóbiás et al., 1982; Csilléry et al., 1983). A TMV az *N* gént vagy más rezisztenciagént nem hordozó növényekben szisztemizálódik és mozaikos tüneteket okoz, de az *N* gént kifejező gazdában a vírus kb. 2 napon belül a fertőzési helyek körül kialakuló HR-típusú léziókban (sejt/szöveti elhalás), ill. azok környékén lokalizálódik (Goodman és Novacky, 1994). Az *N* gén fehérjetermékének szerkezete hasonlít a tipikus rezisztencia gének fehérjéihez (TIR-NBS-LRR, azaz ún. Toll interleukin 1 típusú receptor, nukleotid kötőhellyel és leucinban gazdag ismétlődésekkel) (Whitham et al., 1994; Marathe et al., 2002). Az *N*

fehérje a TMV replikáz fehérjéjének helikáz régióját (a vírus Avr faktorát, azaz effektorát) ismeri fel, ez a kölcsönhatás indukálja a HR-t (Padgett és Beachy, 1993). Feltételezhető azonban, hogy ezt a HR-típusú rezisztenciát (vírusgátlást) elsősorban nem a sejt/szöveti elhalás okozza. Egyrészt a TMV néhány *N* gént hordozó *Nicotiana* – fajban viszonylag alacsony hőmérsékleten (18-20 °C) képes a szisztemikus terjedésre, és ilyenkor szisztemikus nekrosis alakul ki (Zaitlin, 1962). Másrészt a vírus a HR – léziók körüli élő sejtekben még akkor is megtalálható, mikor a lézió terjedése már megállt (Da Graça et al., 1976; Wright et al., 2000).

2.4. Lisztharmatgombák

A világszerte elterjedt, közel 700 fajt számláló lisztharmatgombák (*Erysiphales*) a gazdasági szempontból legjelentősebb károkat okozó biotróf növénykórokozók közé tartoznak. Gazdanövényeik között túlnyomórészt kétszikű növényfajokat tartanak számon (lásd pl. Braun, 2011), és ezek között jelen van a termesztett növényfajok túlnyomó többsége is, pl. gabonafélék, zöldség- és gyümölcsfajok, dísnövényként termesztett fás- és lágyszárú fajok, valamint más haszonnövények is, ami arra utal, hogy ezek a kórokozók komoly kihívást jelentenek a növényvédelem számára. Az 1990-es években a legnagyobb mennyiségű fungicidfelhasználás a termesztett növények lisztharmatgombákkal megfékezésére irányult (Hewitt, 1998).

A lisztharmatgombák vegetatív tenyésztése a tömlősgombákra jellemző álharántfalas micélium, ennek elhelyezkedése a legtöbb nemzetségnél epifitikus. Ivartalan szaporodásuk az egysejtű, ovális alakú, szintelen,

konídiumokkal történik, amelyek (nemzetségtől függően) különféle típusú konídiumtartókon jönnek létre. Ivaros alakjaikra a kleisztotécium (újabb szóhasználattal: kazmotécium) jellemző, amelyben egy vagy több aszkusz (tömlő), azokban pedig aszkospórák találhatók (Glits és Folk, 2000; Heffer et al., 2006).

A lisztharmatgombák elleni biológiai növényvédelem legfontosabb eszköze a rezisztens fajták nemesítése és termesztése. Ezek számos esetben megfelelő védelmet nyújtanak a kórokozó ellen. A növénytermesztési gyakorlatban évtizedek óta leginkább az *mlo* gének által meghatározott rezisztencia biztosít tartós, nem rassz-specifikus, szabad földön is hatásos ellenállóságot árpalisztharmattal (*B. graminis* f. sp. *hordei*) szemben számos termesztett tavaszi árpa fajtában (Jørgensen, 1992). Az *mlo* rezisztenciát újabban búzalisztharmat ellen is sikerült létrehozni úgy, hogy a búza három, MLO fehérjét kódoló homeoalléljában célzott génszerkesztéssel mutációkat indukáltak (Wang et al., 2014).

Dolgozatom témaválasztása miatt az alábbiakban a paprikalisztharmat (*Leveillula taurica*) jelentőségét ismertetem röviden.

2.4.1. A paprikalisztharmat (*Leveillula taurica*) jelentősége

A világ számos országában, ahol intenzív paprikatermesztés folyik, leírták már ezt a lisztharmatgombát (*Leveillula taurica*, anamorf: *Oidiopsis taurica*). Gazdanövénykörét tekintve fertőzése leginkább az étkezési paprikán (*Capsicum annum*) észlelhető, de megjelenése nem zárható ki más paprikafajokon sem (pl. *Capsicum chinense*). Ismeretes még a Solanaceae család egyéb fajain történő károsítása, mint a

paradicsom, tojásgyümölcs vagy petúnia. Külföldi adatok alapján a kórokozó támadja még az uborkát, hagymát, articsókát, gyapotot, emellett számos vad növényfajon is leírták előfordulását (Braun és Cook, 2012). A paprikalisztharmat a mérsékelt égövi klímán csak mesterséges hajtató rendszerekben – üvegházban, fóliasátorban – fordul elő és a leveleken okoz tüneteket (trópusi éghajlaton a termést is megfertőzi). Ha korán, a hajtás kezdetén jelentkezik a levélfertőzés, az akár 30% termésvesztést is okozhat. A paprikalisztharmat Magyarországon. 1972 óta van jelen, leginkább a paprikahajtásban okoz gazdasági károkat, szabadföldi termesztésben - eddigi ismereteink szerint - nem fordul elő (Glits és Folk, 2000).

Fontos megemlíteni, hogy a *Leveillula* nemzetségen belül a fajok elkülönítése nem egyértelmű, a *L. taurica* elnevezés valójában egy fajkomplexet jelöl, amelyhez több biológiai faj tartozik (lásd pl. Zheng et al., 2013b). A paprikalisztharmat életmódja több szempontból is eltér a többi lisztharmafajétól. A levél gázcserenyílásain hatol be a növénybe, majd a sejt közötti járatokban terjed, ezt követően mintegy 18-21 napos lappangási idő után a levél fonákján a gázcserenyílásokon át megjelennek a konídiumtartók, rajtuk a konídiumokkal (hemiendofitikus életmód).

A jól ismert lisztharmatfajok (pl: búza-, árpa-, paradicsomlisztharmat) micéliuma (gombafonál) kizárólag a megfertőzött levelek felszínén képez fehéres, lisztes bevonatot. Paprikáin viszont a lisztharmat a levélfonákon alakul ki, ami jóval nehezebben észlelhető. Kritikus tényező tehát a betegség korai felismerése, ugyanis ilyenkor a növényállomány akár fele már fertőzött lehet (Elad et al., 2007; Zheng et al., 2013a). A hajtás során először főleg az idősebb (alsó) leveleken jelentkeznek a tünetek,

amelyek később a fiatal leveleken is megjelennek. A fertőzés terjedésével a levél felszínén is jelentkezhetnek tünetek, sárga foltok formájában (klorózis). Erős fertőzés esetén a konídiumtelepek (lisztharmat) is megjelennek a levél felszínén. Később a levelek elbarnulnak (nekrotizáció), kanalasodnak majd elszáradnak. A levélvesztés hatására csökken az asszimilációs felület, így virágvesztés, rossz terméskötődés, illetve termésvesztés is kialakulhat. Erős fertőzés hatására 2-4 kg/m² termésvesztés is jelentkezhet intenzív hajtás során (Cerkaskas és Buonassisi, 2003; Zheng et al. 2013a). A felborult biológiai ciklus hatására a növények hamarabb öregednek, így a betakarításra is korábban kerül sor. Az ilyen növények kalciumfelvétele akadályozottá válik, így a bogyókon jelentkezhet a kalciumhiány tipikus tünete (csúcsrothadás, a bogyók vége megbarnul), ezáltal a termés piaci értéke jelentősen csökken.

A paprikalisztharmattal szembeni rezisztenciával feltehetően összefügg a növények megfelelő kalciumfelvétele, ill. kalciumellátottsága. Egy hazai cseresznyepaprika (*C. annum* var. *cerasiforme*) fajtának (cv. Szentesi) ugyanis nemcsak a kalciumfelvétele jó (Lantos, 2011), de hajtásban a fertőzés tünetei is nem vagy alig jelentkeznek (Lantos et al., 2012). A gyakorlatban a paprikalisztharmattal szemben leginkább intenzív fungicides kezelésekkel védekeznek. A rezisztencia (*R*) – gének használata nem tűnik hatásosnak, feltehetően azért, mert ezt az oligogénes rezisztenciát a megjelenő új kórokozó rasszok viszonylag hamar le tudják törni. A recesszív *mlo* gének (mutációk) által a paprikalisztharmattal szemben biztosított tartós, nem rassz-specifikus rezisztencia viszont a jövőben ígéretes lehet, mivel a paprikában két

működő *Mlo* gént is leírtak, amelyek hozzájárulnak a lisztharmat-fogékonysághoz (lásd pl. Zheng et al. 2013a).

2.5. A kertészeti oltással átvihető növényi betegségrezisztencia

A hazai hajtatási gyakorlatban egyes zöldségnövények kertészeti oltásának alkalmazása az elmúlt évtizedek fejleménye. A fás szárú növények példáját követve a zöldségnövények oltását a szaporításhoz sorolják a magyar szakkönyvek, pedig az oltás jelenleg alkalmazott formájánál kicsit anakronisztikus szaporításról (a természetett növények életfolyamatainak újrakezdésére irányuló tevékenységről) beszélni, hiszen két magból állítunk elő egy növényt. Talán helyesebb lenne az oltást fitotechnikai műveletként (közvetlenül a növényekkel végzett, a növények egyedi kezelésével járó tevékenységként) értelmezni. Az oltás széles körű elterjedését tápanyag-hasznosítási, valamint növényvédelmi problémák indokolják. Leginkább a kabakosok és a paradicsom oltása került előtérbe az utóbbi években, az oltott paprika hajtatása világviszonylatban is csak kevés területet fed le. Az alanyválasztásnál fontos követelmény a jó adaptációs készség, a kiváló víz- és tápanyag-hasznosító képesség, valamint a betegségrezisztencia (Ombódi, 2005; Warschefsky et al., 2016).

Az oltás elősegítheti bizonyos genotípusos és fenotípusos tulajdonságok átvitelét az alanyról a ráoltott nemes növényre, ilyen például a RAPD DNS-profil, valamint a termés formája és színe (lásd pl. Taller et al., 1998, 1999; Tsballa et al., 2013). Paprikában és más Solanaceae fajokban (paradicsom, tojásgyümölcs) azt is kimutatták, hogy két

növényfaj egyedeinek egymásra oltása a nemes részben a DNS – metilációs mintázatokat is megváltoztatja és ezek a változások öröklődnek (Wu et al., 2013; Warschefsky et al., 2016). Rengeteg adat létezik az oltással átvihető növényi betegségrezisztenciával kapcsolatban is, de ezek a munkák leginkább a talajban, a gyökérzetet károsító betegségek elleni védekezésről számolnak be (King et al., 2008; Louws et al., 2010; Al- Mawaali et al. 2012; Guan és Zhao 2012). A két legismertebb ilyen eset az európai szőlő (*Vitis vinifera*) ráoltása észak-amerikai vad alanyokra (*Vitis labrusca* és más fajok), a szőlőgyökértetű (*Phylloxera vitifoliae*) által kiváltott filoxéra járvány megfékezésére (lásd pl. Mudge et al., 2009) valamint citrusfélék ráoltása narancsra a fitoftórák gyökérbetegség kivédésére (Wutscher, 1979). Vírusos és baktériumos fertőzésekkel szembeni rezisztenciának oltással történő átvitelére is vannak példák (Süle és Burr, 1998; Vulić et al., 2013; Zhao és Song, 2014).

Újabb kutatások szerint azonban néhány, a leveleket károsító gombás betegséggel szemben is hatásos lehet az oltással átvitt rezisztencia, pl. uborkában lisztharmat (*Podosphaera xanthii*) és peronoszpóra (*Pseudoperonospora cubensis*) ellen is (Louws et al., 2010; Sakata et al., 2006). Ezek az eredmények olyan, oltással átvihető szignálmolekulák jelenlétére utalnak, amelyek a ráoltott növényi részben betegségrezisztenciát indukálhatnak. A jelenség lehetséges biokémiai/genetikai mechanizmusa azonban lényegében ismeretlen, bár a cseresznyének oltással átvihető vírusrezisztenciájában igazolták a vírus eredetű kis interferáló RNS-ek (siRNS) szerepét (Zhao és Song, 2014). A növényi betegségek elleni védekezésben fontos szerepet játszó

fenilalanin-ammónia-liáz enzimmel kapcsolatban viszont kimutatták, hogy a szubsztrát növényi fenolvegyületek koncentrációja nem mindig korrelál az oltással átvitt betegségrezisztenciával (Guan és Zhao, 2012; Wallis et al., 2013). Ugyanakkor oltott zöldségnövényekben (pl. paradicsom, tojásgyümölcs, uborka) az abiotikus stresszekkel szembeni fokozott ellenálló képesség nagyobb antioxidáns enzimaktivitásokkal jár együtt, mint a sajátgyökerű növényekben (He et al. 2009; Wei et al. 2009; Guan and Zhao 2012; Shu et al., 2016). A fentiek alapján feltételezhető, hogy a ROS – felhalmozódás is hozzájárulhat az oltott növények fokozott stressztűréséhez, ill. betegség – ellenállóságához. Előzetes eredményeink szerint egy hazai cseresznyepaprika (*C. annuum* var. *cerasiforme*) – fajtán (cv. Szentesi) a lisztharmatos fertőzés tünetei gyakorlatilag nem jelentkeznek és ez az ellenálló képesség oltással átvihető egy fogékony étkezési paprikára (cv. Totál) (Lantos et al., 2012). Elképzelhető, hogy ebben a jelenségben egyes ROS vegyületeknek is lehet tényleges szerepe. Előkísérleteink szerint ugyanis a Szentesi cseresznyepaprikában, ill. a ráoltott, eredetileg fogékony fajtában (cv. Totál) egyaránt jóval nagyobb mértékű a szuperoxid ($O_2^{\cdot-}$) felhalmozódása, mint a saját gyökerű fogékony paprikában.

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1. A kísérletekhez felhasznált növények

Nicotiana tabacum cv. Samsun *Rx1* és *N* rezisztenciagént együttesen hordozó vonala (Bendahmane *et al.*, 1999) valamint két, a lucerna ferritinjét túltermelő dohányvonal (cv. SR1): C8 és F9 (Deák *et al.*, 1999). A növények üvegházi körülmények között voltak nevelve, 8 héten át. Az egyes dohányvonalak keresztezését (F_1 utódok nyerése reciprok keresztezésekkel) szintén üvegházi körülmények között végeztük.

Capsicum annuum cv. Totál, töltenivaló étkezési paprika, *Capsicum annuum* var. *cerasiforme* cv. Szentesi cseresznyepaprika, ‘Kalocsai A’, ‘Kalocsai M’, ‘Globál’, ‘Koral’, ‘Garai Fehér’, ‘Óriás’ (ezek szintén cseresznyepaprika – fajták), illetve a ‘Totál’ és ‘Szentesi’ cseresznyepaprikák oltványai (Szentesi alanyra oltott Totál) és keresztezett F_1 utódai [Totál (♀) x Szentesi (♂)]. A növények üvegházi körülmények között voltak nevelve 14 héten át. A paprikakeresztezéseket szintén üvegházi körülmények között végeztük.

Az oltás 8 hetes növényeken történt. Az alany és nemes növényeket sziklevel fölött 45 fokos szögben borotvapenge segítségével elvágtuk, majd az egyszerű párosítás elvét követve a ‘Szentesi’ cseresznyepaprika gyökér részét (sziklevéllal) és a Totál növény sziklevel fölötti részét egy oltó klipsz segítségével egymásba helyeztük (lásd **20. ábra**). A kéthetes edzetési folyamatot (25 °C, 90% relatív páratartalom) követően az oltási eredés kb. 65%-os volt.

3.2. A kísérletekhez felhasznált növényi kórokozók

- Dohány mozaik vírus (*Tobacco mosaic virus*, TMV, U1 törzs)
- Burgonya X vírus (*Potato virus X*, PVX, Ny izolátum) (Ahmadvand et al., 2012)
- Paprikalisztharmat (*Leveillula taurica*)

A vírusok fenntartása fogékony dohánygazdanövényen (TMV: *Nicotiana tabacum* cv. Samsun nn, PVX: *Nicotiana tabacum* cv. Xanthi NN) történt üvegházban (TMV), illetve Panasonic MLR-352 növénynevelő kamrában (PVX). A növénynevelő kamrában a növények 16 órás hosszúnappalos fotoperiódus szerint nőttek, $110 \mu\text{E m}^2 \text{s}^{-1}$ „nappali” fényerősség mellett, a hőmérsékletet „nappal” 25 °C, „éjszaka” 22 °C-on tartottuk. A vírusos inokulációhoz a fertőzött fogékony növények felső leveleit mozsárban, csapvízzel, abrazívum (karborundum) hozzáadásával dörzsöltük el (kb. 1 g levél / 10 ml csapvíz). Az így nyert inokulummal mechanikai úton (levelek bedörzsölése) fertőztünk. A kontrollinokulálást (*mock inokulálás*) karborundumos csapvízzel végeztük.

A paprikalisztharmatot (*Leveillula taurica*) egy Szentesi parikatermesztő üvegházban izoláltuk és fogékony paprika – gazdanövényen (cv. Totál) tartottuk fenn Panasonic MLR-352 növénynevelő kamrában, a dohánynál említett körülmények között. A lisztharmattal történő mesterséges fertőzést a Zheng és munkatársai által (2013a, b) leírtak szerint végeztük, kivéve, hogy a paprika levelekre a lisztharmat-szuszpenziót (25.000 konídium/ml) egy finom ecsettel vittük fel.

3.3. A szuperoxid kimutatása

A szuperoxid-szabadgyök mérése nitro – blue – tetrazoliu – klorid (NBT) (Sigma-Aldrich, Németország) segítségével történt. A szuperoxid reakcióba lép az NBT-vel, és sötétkék színű formazán képződik, amely szabad szemmel érzékelhető.

A méréshez 1 mg/ml koncentrációjú NBT-oldatot használtunk 10 mM-os kálium-foszfát pufferben (pH=7,8) feloldva. Az oldatot vákuuminfiltrálással juttattuk a levelekbe (Ádám et al., 1989). A leveleket 15 percig erős fény alatt megvilágítottuk, majd színtelenítő oldatba (0,15 w/v % triklórecetsav, etanol és kloroform 4:1 arányú elegyében) helyeztük két napra (Hückelhoven és Kogel, 1998). Az elszíntelenedett leveleket ezután glicerín és desztillált víz 1:1 arányú elegyében tároltuk, majd a leveleket fóliára kiterítve az eredményeket digitálisan dokumentáltuk („szkennelés”). Az NBT – festést a nyilvánosan hozzáférhető ImageJ számítógépes program (<https://imagej.nih.gov/ij/>) segítségével mennyiségileg értékeltük.

3.4. Sejthalál festés paprika levélszövetekben

Paprika levélszövetekben az elhalt sejteket laktofenolos Tripánké-festéssel hívtuk elő, Pogány et al. (2009) módszere szerint, kis változtatással. A festő-törzsoldatot (10 g fenol, 10 ml glicerín, 10 ml tejsav, 10 ml desztillált víz és 0,02 g Tripánkék /Sigma-Aldrich, Németország/) 96%-os etanolban hígítottuk 1:2 arányban majd a hígított festékben a leveleket 1 percig főztük és 4 napig inkubáltuk. Ezt követően

a paprikaleveleket telített klorál-hidrát [$\text{Cl}_3\text{CCH}(\text{OH})_2$] oldatban (1 kg klorál-hidrát 400 ml desztillált vízben feloldva) színtelenítettük.

3.5. PVX – fogékonyság kialakítása rezisztens dohányban antioxidáns enzimek (SOD és CAT) infiltrálásával

Rezisztens (cv. Samsun *NN RxI*) és fogékony (cv. Samsun *NN*) kontroll dohánynövények PVX-szel fertőzött leveleinek egyik felét a vírusfertőzés után közvetlenül 10 mM kálium-foszfát pufferben (pH=7,8) feloldott szuperoxid-dizmutáz (SOD, 3000 U/ml) és kataláz enzimekkel (CAT, 5000 U/ml) infiltráltuk, injekciós tű és fecskendő segítségével. A másik (kontroll) levélfelet 10 mM kálium-foszfát pufferrel infiltráltuk.

3.6. PVX – rezisztencia kialakítása fogékony dohányban szuperoxid (ROS) képző ágens infiltrálásával

PVX – fertőzésre fogékony dohány (cv. Samsun *NN*) vírusfertőzött leveleinek egyik felét a vírusfertőzés után 2 órával szuperoxidot ($\text{O}_2^{\cdot-}$) képző ágenssel (66 μM riboflavin, 10 mM L-metionin) infiltráltuk, injekciós tű és fecskendő segítségével, a korábban leírtak (Bacsó et al., 2011) szerint. A másik (kontroll) levélfelet pufferrel (10 mM kálium-foszfát, pH= 7,8) infiltráltuk.

3.7. Génkifejeződési vizsgálatok, a PVX és TMV RNS-szintű és a paprika lisztharmat (*Leveillula taurica*) DNS-szintű kimutatása

Dohányból és paprikából (egészséges, ill. PVX-, TMV – vírusokkal és paprikalisztharmattal fertőzött levelek) teljes növényi RNS-t vontunk ki. A folyékony nitrogénben lefagyasztott leveleket mozsárban eldörzsöltük, majd az eldörzsölt szövetből szilikagélmembrán-oszlopos módszerrel (Plant Total RNA Extraction Miniprep System, Viogene, USA, ill. SV Total kit, Promega), a készletekhez mellékelt utasításoknak megfelelően vontuk ki az RNS-t. A kapott RNS mennyiségét és tisztaságát spektrofotométeren (NanoDrop ND-1000) ellenőriztük. Az RNS (és DNS) elnyelési maximuma 260 nm hullámhossznál van. Az RNS mennyiségét a mintákban az A_{260} értékkel határoztuk meg: RNS koncentráció = $A_{260} \times \text{hígítás}/25$ (moláris kioltási együttható). Az A_{280} érték pedig a fehérjével való szennyezettségre utalt. Az A_{260}/A_{280} arányt 1,6 és 2,0 szélsőértékek között fogadtuk el megfelelőnek. Ezt követően a mintákat megfuttattuk 1%-os formaldehid-agaróz-gélen, és az elektroforézis után a kivont RNS koncentrációját és épségét etídiumbromidos festéssel UV-fényben ellenőriztük. A génkifejeződés vizsgálatához reverz transzkripcióval egybekötött nukleinsav-sokszorosítást (RT-PCR: *reverse transcription polymerase chain reaction*) használtunk. Először a hírvivő (*messenger*) RNS-t szaporítottuk fel (RT – lépés, azaz cDNS – szintézis), oligoDT indítószekvencia (primer) segítségével, a reagenst gyártó leírását követően (RevertAid H Minus First Strand cDNA Synthesis Kit, Fermentas, Litvánia). A következő lépésben az adott génnek megfelelő

cDNS-t sokszorosítottuk (PCR), a készletet gyártó (KAPA Biosystems, USA) utasításai szerint. A PCR-t még a folyamat exponenciális fázisában állítottuk le, tehát minden vizsgált génnél olyan, külön-külön beállított ciklusszámmal dolgoztunk, ahol még megmaradtak a különbségek a különböző átíródási szintek között. Az RT-PCR-t követően a génexpressziós különbségek kimutatásához a mintákat UV-fényben fluoreszkáló GelRed (GelRed Nucleic Acid Gel Stain, 10 000X, Biotium Inc., USA) festékkel festett, 1%-os agarózgélen futtattuk meg, referenciának (konstitutív kontroll) dohányynál és paprikánál egy-egy aktin gén expresszióját tekintettük. Az agarózgélt gélkiértékelő rendszerben (AlphaImager EP), UV-fényben ($\lambda = 302 \text{ nm}$) lefotóztuk. Ezzel a módszerrel a génkifejeződés szemikvantitatív módon mérhető. A génkifejeződés érzékenyebb, kvantitatív kimutatásához az ún. valós idejű (*real time*) kvantitatív RT-PCR módszert használtuk, a reagenst gyártó (KAPA Biosystems, USA) útmutatása szerint. A PCR-t követően az adatokat a műszert (BIO –RAD CFX 96) gyártó cég (Bio-Rad Laboratories, USA) által fejlesztett számítógépes programmal (CFX ManagerTM 2.1), Excel táblázatkezelő segítségével értékeltük ki. A génkifejeződés különbségeinek számszerűsítéséhez az ún. $2^{-\Delta\Delta CT}$ módszert (Livak és Schmittgen, 2001; Schmittgen és Livak, 2008) alkalmaztuk, belső referenciaként a korábban említett gének (dohány és paprika aktin génjei) szolgáltak. PCR-hoz az alábbi génekre specifikus indítószekvencia-párokat (primereket) használtuk (lásd 3.7.1). A fent említett génkifejeződést mérő módszerek segítségével detektáltuk RNS szinten a két, dohányt fertőző vírus (PVX és TMV) felhalmozódását is, a

vírus köpenyfehérjéjékre tervezett indítószekvenciák (primerek) segítségével (lásd 3.7.1).

Leveillula taurica kimutatásához a fertőzött növényekből, valamint a kontrollként használt egészséges növényekből teljes növényi DNS-t vontunk ki. A folyékony nitrogénben lefagyasztott leveleket mozsárban eldörzsöltük, majd az eldörzsölt szövetből szilikagélmembrán-oszlopos módszerrel vontuk ki a DNS-t (REDEExtract-N-AmpTM Plant PCR Kit, Sigma Aldrich, Németország). A kivont DNS-ből szemikvantitatív polimeráz – láncreakció (*Polymerase Chain Reaction*, PCR) módszerrel (KAPA Taq PCR Kit, KAPA Biosystems, USA) felszaporítottuk a gomba egyik specifikus ITS szekvenciájának (*LtLV*) egy szakaszát. Növényi referenciagénként a paprika aktingénjét használtuk, ehhez a génhez, mint referenciához hasonlítottuk a gomba *LtLV* DNS – mennyiségét. A fertőzött növényekben így lényegében a gomba-DNS-nek a növényi DNS-hez viszonyított mennyiségét, ezáltal a gomba felhalmozódását határoztuk meg. A kapott PCR – terméket UV-fényben fluoreszkáló GelRed festékekkel festett 1%-os agarózgélen futattuk meg. Az agarózgélt gélkiértékelő rendszerben (AlphaImager EP), UV-fényben ($\lambda = 302$ nm) lefotóztuk. Ezzel a módszerrel adott DNS mennyisége szemikvantitatív módon mérhető. A mintákban a gombamennyiségek közötti különbségek számszerűsítésére az érzékenyebb valós idejű (*real time*) kvantitatív PCR – módszert alkalmaztuk, a reagenst gyártó (KAPA SYBR FAST Universal qPCR Kit, KAPA Biosystems, USA) útmutatása szerint. A reakciót egy BIO–RAD CFX 96-os real time PCR – készülékben végeztük el. A PCR-t követően az adatokat a műszert gyártó cég (Bio-Rad Laboratories, USA) által fejlesztett számítógépes

programmal (CFX ManagerTM 2.1), Excel táblázatkezelő segítségével értékeltük ki. A gomba-DNS-mennyiség különbségeinek számszerűsítéséhez az ún. $2^{-\Delta\Delta CT}$ módszert (Livak és Schmittgen, 2001; Schmittgen és Livak, 2008) vettük alapul, belső referenciaként a korábban említett paprika – aktin gén DNS – mennyisége szolgált.

3.7.1. Felhasznált primerek

Gén neve, génbanki azonosító száma	Előre- (<i>forward</i>) és visszainduló (<i>reverse</i>) primer nukleinsav-sorrendje	Primer kapcsolódási hőmérséklet (<i>annealing temperature</i> , T_a)
<i>NtAct</i> X69885	5' - CGGAATCCACGAGACTACATAC - 3' 5' - GGGAAGCCAAGATAGAGC - 3'	$T_a = 60\text{ °C}$
<i>CaAct</i> AY572427	5' - ATCCCTCCACCTCTTCACTCTC - 3' 5' - GCCTTAACCATTCCTGTCCATTATC - 3'	$T_a = 60\text{ °C}$
<i>TMVcp</i> AF165190	5' - ACCCTCGCCGACTACAACAT - 3' 5' - CAGTAGTGGCGGTCGAAGTG - 3'	$T_a = 60\text{ °C}$
<i>PVXcp</i> X88784	5' - GGCATCAGCAGAGCTAGACTG - 3' 5' - CGGGGATCCTCGAGAAGCTTTTTTTTTTTTTTTTTT - 3'	$T_a = 55\text{ °C}$
<i>LtLV</i> MF327258	5' - AGCCGACTAGGCTTGGTCTT - 3' 5' - GCGGGTATCCCTACCTGATT - 3'	$T_a = 60\text{ °C}$
<i>StIRxJRT</i> AJ011801	5' - GGAGAAATCCTGCAATATAAT - 3' 5' - CGACCGAACTTACATTTTCCC - 3'	$T_a = 60\text{ °C}$
<i>NtAOXI-2</i> S71335, X79768	5' - GAAACAGTGGCTGCAGTGCC - 3' 5' - GTGATACCCAATTGGTGC - 3'	$T_a = 57\text{ °C}$
<i>NtBI-1</i> AF390556	5' - GCGACACCTCTGTATGAA - 3' 5' - ATGAAAGAAGACCTCCAA - 3'	$T_a = 48\text{ °C}$
<i>NtCAT1</i> AF006067	5' - TCCGCTTGATGTGACTAAA - 3' 5' - TCCACCCACCGACGAATA - 3'	$T_a = 48\text{ °C}$
<i>NtGSTphil</i> AY206005	5' - CTGGKGAWCACAAGAAGC - 3' 5' - GCCAARATATCAGCACACC - 3'	$T_a = 50\text{ °C}$
<i>NtPR-1a</i>	5' - GCAGATTGTAACCTCGTA - 3'	$T_a = 60\text{ °C}$

D90196	5' – CAATTAGTATGGACTTTTCG – 3'	
<i>NiPRB-1b</i> X66942	5' – GGGATACTCCACAACATTAG – 3' 5' – CACATACATATACACACCTC – 3'	T _a = 57 °C
<i>CaPR-1</i> AF053343	5' – GTTGTGCTAGGGTTCGGTGT – 3' 5' – CAAGCAATTATTTAAACGATCCA – 3'	T _a = 56 °C
<i>CaPR-2 (GLU)</i> AF227953	5' – ACAGGCACATCTTCACTTACC – 3' 5' – CGAGCAAAGGCGAATTTATCC – 3'	T _a = 56 °C
<i>CaMlo1</i> AY934528	5' – CAAACATCATTCAAATCCAGCAACACCA – 3' 5' – AATTTGATGCATATGGGACGGCGAAGAA – 3'	T _a = 60 °C
<i>CaMlo2</i> JN896629	5' – CTGGCACAATACAGCGAAAA – 3' 5' – TTCATTAGCCCAGCCTTCAT – 3'	T _a = 60 °C

3.8. Szabad és kötött szalicilsav mérése paprikanövényekben

Szabad és kötött (savasan hidrolizálható) szalicilsav méréséhez a Meuwly és Métraux (1993), ill. Cole et al. (2004) által leírt módszert alkalmaztuk. A méréseket Dr. Szalai Gabriella és munkacsoportja (MTA ATK Mezőgazdasági Kutatóintézete, Martonvásár) végezte. A kivonáshoz vivőanyagként *para*-hidroxibenzoesavat, belső standardként 2-metoxibenzoesavat használtak. Az elsődleges feltárás során a növényi mintát 8000 g-n centrifugálták 20 percig, a felülúszót félretették, utána az üledéket reszuszpendálták 90%-os (v/v) metanolban, és újracentrifugálták a már leírt paraméterekkel. A két felülúszó – frakciót kombinálva a metanolt szobahőmérsékleten, vákuumcentrifugában elpárologtatták, majd 1 ml 5%-os (w/v) triklórecetsavat adtak a mintához és lecentrifugálták (8000 g, 10 perc). A felülúszót kétszer extrahálták etilacetát:ciklohexán 1:1 arányú keverékével. A szabad szalicilsav meghatározásához a felső, szabad fenolvegyületeket tartalmazó szerves réteget -20 °C-on tárolták, a kötött szalicilsav meghatározásához pedig az alsó vizes fázist hidrolizálták sósavval, majd centrifugálás (6000 g, 10

perc) után a felülúszót kétszer szerves extrakciónak vetették alá a fent leírt módon. Az így kapott szerves frakciót tárolták -20 °C-on. Magát a szalicilsavmérést nagy teljesítményű folyadékkromatográfiával (high performance liquid chromatography, HPLC), deaktivált, reverz fázisú oszlop segítségével, fluorometriás detektorral végezték, Meuwly és Métraux (1993) leírása szerint.

3.9. NADPH-oxidáz enzim aktivitásának mérése paprika szövetekből

A NADPH-oxidáz enzim aktivitásának mérését a korábban leírtak szerint (Ádám et al., 1997 és Xia et al., 2009) végeztük, néhány módosítással. A kivonáshoz nyolcszoros térfogatú kivonó puffert (50 mM Tris-HCL, pH 7,5, 0,25 M száharóz, 1 mM Na₂S₂O₅, 1 mM EDTA, 0,6% PVP) használtunk. Az eldörzsölt, tisztított levélmintákat 120000 g-n (50 000 rpm) centrifugáltuk 30 percig, 4 °C-on, ultracentrifugában (BECKMAN L7-55) (sejtmembrán frakció izolálása). A centrifugálás végén kapott csapadékot 0,5 ml kivonó pufferben újraszuszpendáltuk, és a szuszpendált csapadékot használtuk fel azonnal a NADPH-oxidáz aktivitásának megállapításához. A fotométeres meghatározás során a reakcióelegybe (100 mM HEPES pH 6,8, 0,2 mM NADPH, 0,3 mM NBT) 50 µl szuszpendált csapadékot adtunk. A NADPH-oxidáz aktivitásának specifikus méréséhez a reakcióelegybe tettünk 40 unit/ml SOD-ot (szuperoxid-dizmutáz) (Sigma-Aldrich, Németország). Az enzimaktivitás kimutatásához ugyanazt a mintát lemértük SOD nélkül és SOD-dal, a két érték különbsége adta az enzimaktivitást (Ádám et al. 1997).

3.10. Glutation mennyiségének meghatározása TMV-vel, valamint PVX-szel fertőzött dohánynövényben spektrofotometriás módszerrel

A glutation mennyiségét a fertőzések után 4 nappal vizsgáltuk, a korábban leírt módszer szerint (Griffith, 1980). A dohánylevelek egy része TMV-vel, másik részük PVX-szel volt fertőzve. A fertőzött növényeken kívül kontroll-inokulált (*mock*), valamint egészséges növényeket is bevontunk a mérésbe. A glutation mennyiségének meghatározásához a mintaszedést követően $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ tárolt $0,5\text{ g}$ növényi szövetet folyékony nitrogénben eldörzsöltünk. Az eldörzsölt növényi szövetet 2 ml $6\text{ w/v}\%$ -os metafoszforsavval homogenizáltuk, majd a mintákat centrifugáltuk (12 000 g , 20 perc , $4\text{ }^{\circ}\text{C}$). A méréshez a kapott felülúszót használtuk fel. A glutation mérése két formában történt. Egyrészt meghatároztuk az összes glutation-mennyiséget (redukált és oxidált együtt), másrészt az oxidált glutation-szintet (GSSG). A kettő különbségéből pedig megkaptuk a redukált glutation (GSH) mennyiségét. A méréshez $100\text{ }\mu\text{l}$ metafoszforsavas felülúszót $1,5\text{ ml}$ -es Eppendorf-csőbe pipettáztunk, majd a pH-ját $1,5\text{ M}$ -os trietanol-aminnal (TEA) $5,5$ és $6,5$ közé állítottuk. Az összes glutation mennyiségét az így előkészített oldatban mértük. Az oxidált glutation mennyiségének meghatározásához szintén $100\text{ }\mu\text{l}$ felülúszót mértünk ki, majd a pH stabilizálás után a mintákhoz $4\text{ }\mu\text{l}$ 2-vinilpiridint adtunk, mely megköti a redukált glutationt. A mintákat erőteljesen összeráztuk a vinilpiridinnel, melynek következtében fehér csapadék képződött (megkötődött a redukált glutation), majd az így kapott oldatot mérés előtt szobahőmérsékleten egy órán át állni hagytuk. Az előkészített mintaoldatokban a glutation

mennyiségének 2:30 perces kinetikáját spektrofotométer segítségével (Shimadzu, UV-160A), 412 nm-en mértük. A küvetába a mintákhoz a méréshez szükséges reagens oldatokat közvetlenül a mérés előtt adtuk hozzá.

3.11. Glutation-reduktáz és glutation-S-transzferáz enzim aktivitásának mérése TMV-vel, illetve PVX-szel fertőzött dohány növényben spektrofotometriás módszerrel

Enzimaktivitást 4 nappal a TMV, illetve PVX vírusfertőzés után, valamint kontroll-inokulált (*mock*) és egészséges növények levélszöveiben mértünk. A 0,5 g frissen szedett levélszövetmintákat 3 ml, 1 mM EDTA- Na_2 -t és 2,5 w/v % oldható polivinilpirrolidont (PVP) tartalmazó, 50 Mm TRIS-HCl pufferben (pH = 7,8) homogenizáltuk, lehűtött mozsarakban eldörzsölve. A mintákat centrifugáltuk (12 000 g, 20 perc, 4 °C), a mérésekhez a felülúszót használtuk.

3.11.1. Glutation-reduktáz aktivitásának mérése

A glutation-reduktáz (GR) aktivitását a NADPH fogyását mérve határoztuk meg spektrofotométer segítségével (Shimadzu, UV-160A, Japán), 340 nm-en. A GR enzim 1:30 perces kinetikájának vizsgálata során az enzim által katalizált reakcióban az oxidált glutation (GSSG) redukálódik a NADPH oxidációja következtében (Klapheck et al., 1990). A kontrollmintákhoz nem adtunk oxidált glutationt, így az összes, nem csak a GR enzim által katalizált reakciókban végbemenő NADPH – fogyás mérhető a növényi kivonatokban. Az enzimet tartalmazó minták

abszorbanciaértékéből kivontuk a kontrollmintáknál mért abszorbanciát, majd a kapott különbségből számoltuk ki az enzimaktivitást. Az enzimaktivitás mértékegysége $\mu\text{mol NADPH/ g friss növényi szövet/ perc}$. A vizsgálathoz három független kísérletet végeztünk. Kísérletenként a méréseket két technikai ismétléssel végeztük.

3.11.2. Glutation-S-transzferáz aktivitásának mérése

A redukált glutation (GSH) konjugációs reakcióit a glutation-S-transzferáz (GST) enzimek katalizálják. A vizsgálat során az enzim aktivitását a glutation-konjugációs reakció termékeinek képződésével határoztuk meg spektrofotometriás módszer segítségével, 340 nm-en. Az enzim szubsztrátjaként 1-klór-2,4-dinitro-benzol (CDNB) szolgált. Mintánként egy reakció mérési ideje 1:30 perc volt. Kontrollként a vak mintához a növényi felülúszó helyett, az azzal azonos mennyiségű puffert mértük az oldatba. A növényi felülúszót tartalmazó oldat abszorbanciaértékéből kivontuk a vak minta abszorbanciáját, majd az így kapott különbségből számoltuk ki a GST enzim aktivitását. Az enzimaktivitás mértékegysége $\mu\text{mol konjugátum/ g friss növényi szövet/ perc}$ (Mauch és Dudler, 1993).

4. EREDMÉNYEK

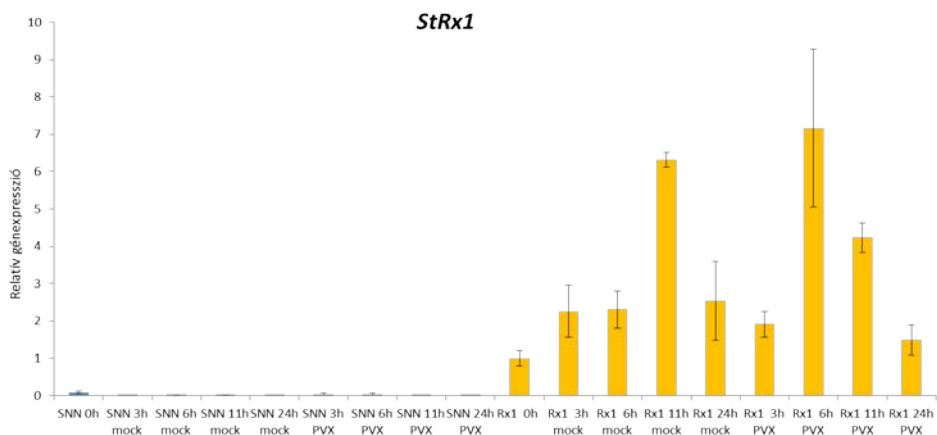
4.1. A szuperoxid hozzájárulása az *Rx1* rezisztenciagén által burgonya X vírus (PVX) ellen biztosított tünetmentes (extrém) rezisztenciához, dohányban

A burgonyában a burgonya X vírus (*Potato virus X*, PVX) elleni extrém ellenállóságot az *Rx* gének (*Rx1* és *Rx2*) biztosítják. Ez az ellenálló képesség olyan hatásos, hogy a szokványos rezisztenciára jellemző HR típusú nekrotikus léziók sem jelennek meg a fertőzött rezisztens leveleken, vagyis a növény tünetmentes. Bendahmane et al. (1999) feltételezte, hogy a HR nekrotikus foltok azért nem jelennek meg az extrém rezisztencia esetében, mert az *Rx* gének hatására a kórokozó vírust a növény igen korán gátolja, emiatt korai tünetmentesség áll elő, azaz nincs idő a hiperszenzitív tünetek kialakítására. A vírusgátlás pontos mechanizmusa mindeztáig ismeretlen, azonban a PVX elleni extrém rezisztencia (ER) az *Rx1* gént kifejező transzgenikus dohányban is hatásos és Bendahmane et al. (1999) szerint ennek egyik oka a reaktív oxigénfajták, elsősorban a szuperoxid ($O_2^{\cdot-}$) korai felhalmozódása lehet. Doktori munkám egyik fő célkitűzése volt annak tisztázása, hogy az *Rx1* gént kifejező transzgenikus dohányban a PVX - fertőzésre kialakuló extrém rezisztenciában van-e tényleges szerepe a fertőzés utáni korai szuperoxid - felhalmozódásnak?

4.1.1. Az *Rx1* rezisztenciagén működésének kimutatása transzgenikus dohányban

A *Nicotiana tabacum* cv. Samsun *NN Rx1* transzgenikus dohánynövények („Rx”) a burgonya *Rx1* rezisztenciagénjét saját promoter segítségével fejezik ki. Ezek a növények a burgonya X vírus (*Potato virus X*, PVX) fertőzéssel szemben extrém rezisztensek (Bendahmane et al., 1999), ellentétben az *Rx1* gént nem tartalmazó kontrolldohánnyal (cv. Samsun *NN*, „SNN”), melyben a PVX akadálytalanul replikálódik és szisztemizálódik, bár látható tüneteket (enyhe sárgulás, ill. mozaik) alig okoz.

Ellenőriztük, hogy az általunk használt *Rx1* transzgenikus dohányvonalban tényleg kifejeződik-e az *Rx1* gén. A génexpressziót a fertőzés után különböző időpontokban mérve (kvantitatív RT-PCR) a várakozásoknak megfelelően a nem-transzgenikus (vad típusú) növényekben nem kaptunk jelet, míg az *Rx1* növényekben igen. Az *Rx1* génexpresszió az egészséges *Rx1* növényekben is megnyilvánult és érdekes módon mechanikai stressz (kontroll /*mock*/ inokulálás) hatására is, azonban ilyenkor a génexpresszió az idő függvényében kicsit lassabban emelkedett, mint a PVX-szel fertőzött növényekben, ahol az *Rx1* expressziója már a vírusfertőzés után 6 órával jelentősen megnőtt (**1. ábra**). Ezek szerint az *Rx1* rezisztenciagén különféle stresszhatásokra is indukálódhat, de a PVX fertőzésére reagál a leggyorsabban, ami az extrém rezisztencia kialakulásának első lépése.

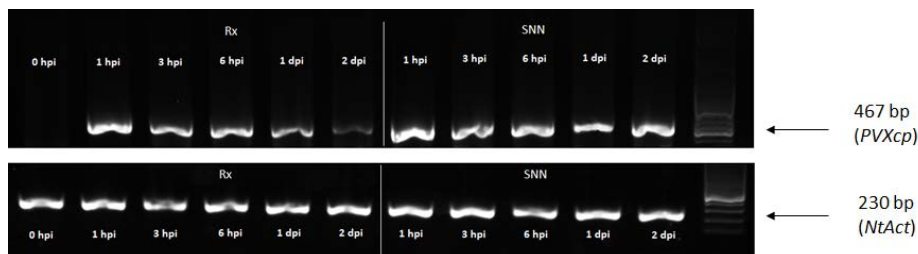


1. ábra: Az *Rx1* rezisztenciagén működésének kimutatása transzgenikus dohányban (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun *NN Rx1*) és az *Rx1* gént nem tartalmazó kontrollnövényekben (*N. tabacum* cv. Samsun *NN*), kvantitatív RT-PCR-rel (relatív géneexpresszió), a burgonya X vírus (*Potato virus X*, PVX) fertőzés, ill. kontrollinokuláció („mock”) után különböző időpontokban (3, 6, 11 és 24 óra). 0 h: fertőzetlen növények. A géneexpresszió normalizálásához egy dohány aktin gén (*NtAct*) expresszióját használtuk.

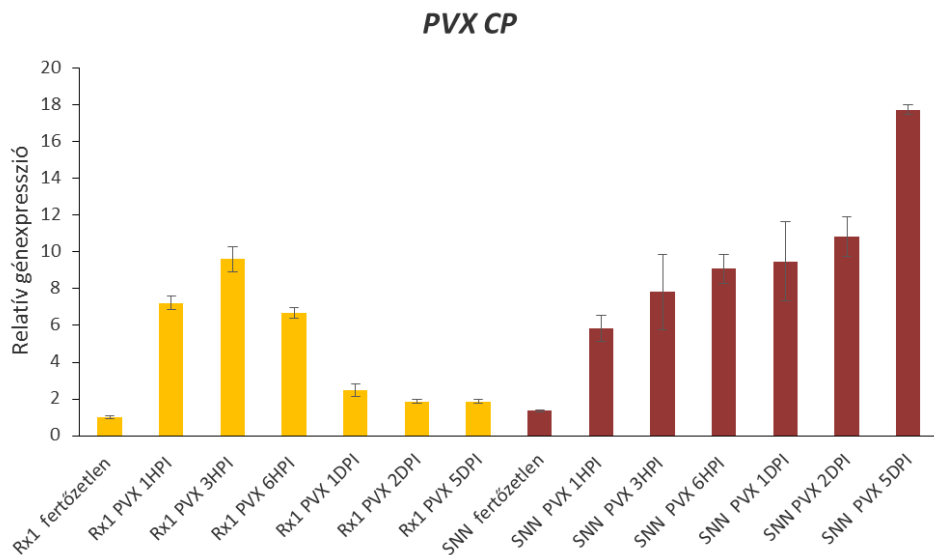
4.1.2. Az *Rx1* gén által meghatározott, PVX-szel szembeni extrém rezisztencia kimutatása dohányban

Az általunk használt PVX - izolátum (Ny) az *Rx1* gént kifejező burgonyában extrém rezisztenciát vált ki (Ahmadvand et al., 2012). Az *Rx1* gént tartalmazó dohányt PVX-Ny-el fertőzve nem kaptunk szabad szemmel látható tüneteket sem az inokulált, sem a felső leveleken, ami az extrém rezisztencia kialakulására utal. A PVX felhalmozódását az extrém rezisztens (ER) és fogékony dohányokban a vírus köpenyfehérjéjére tervezett specifikus indítószekvenciák (primerek) segítségével, RT-PCR-rel követtük nyomon. A növényekről a fertőzés után különböző időpontokban szedett levélmintákban a PVX CP génjének (CP = vírus köpenyfehérje) expressziója az ER-t mutató növényekben a vírusfertőzés utáni 6. órától meredeken csökkent, míg a fogékony növényekben a vírusszint folyamatosan emelkedett (szemikvantitatív RT-PCR, **2. ábra**). A PVX felhalmozódás különbségeinek pontosabb kimutatásához

kvantitatív RT-PCR-t használva kimutattuk, hogy az extrém rezisztens dohányokban a fertőzés utáni 5. napra a PVX szintje a fogékony növényekhez képest közel egy nagyságrenddel kisebb (**3. ábra**).



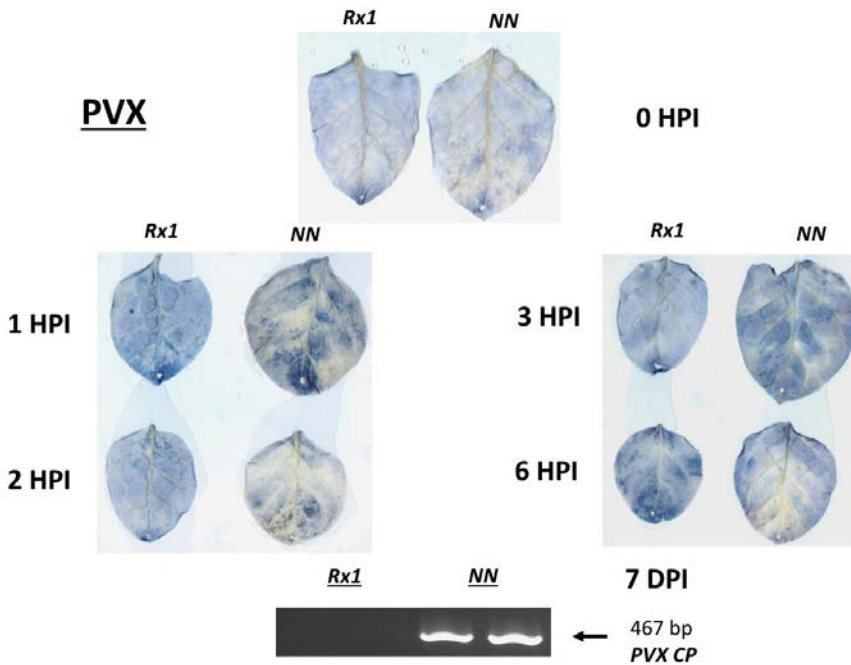
2. ábra: Burgonya X vírus (*Potato virus X*, PVX) felhalmozódása az *Rx1* extrém rezisztenciagént kifejező dohányban (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun *NN Rx1*) és a fogékony kontrollnövényekben (*N. tabacum* cv. Samsun *NN*), a vírusfertőzés után különböző időpontokban (1, 3 és 6 óra, 1 és 2 nap), szemkvantitatív RT-PCR-rel mérve (*PVX CP* génexpresszió). Referenciaként egy dohány-aktingén (*NtAct*) expresszióját tekintettük. 0 hpi = egészséges, fertőzetlen növények. (hpi, ill. dpi: a fertőzéstől eltelt órák, illetve napok)



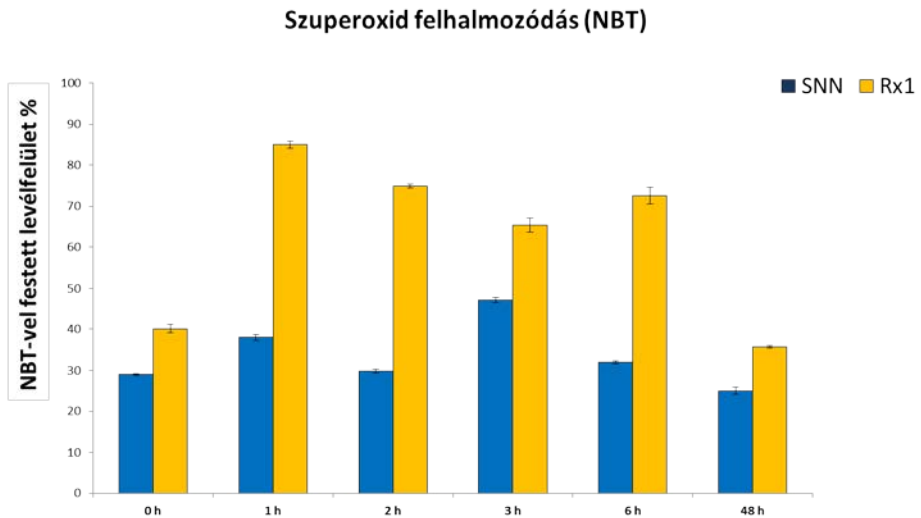
3. ábra: Burgonya X vírus (*Potato virus X*, PVX) felhalmozódása az *Rx1* extrém rezisztenciagént kifejező dohányban (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun *NN Rx1*) és a fogékony kontrollnövényekben (*N. tabacum* cv. Samsun *NN*), a vírusfertőzés után különböző időpontokban (1, 3 és 6 óra, 1, 2 és 5 nap), kvantitatív RT-PCR-rel mérve (*PVX CP* relatív génexpresszió). A génexpresszió normalizálásához egy dohány-aktingén (*NtAct*) expresszióját használtuk.

4.1.3. A szuperoxid korai felhalmozódásának mérése NBT - szövetfestéssel a PVX-szel szemben extrém rezisztens Rx1 dohányban

A szuperoxid ($O_2^{\cdot-}$) felhalmozódásának kimutatásához az extrém rezisztens és fogékony dohányok PVX-szel fertőzött leveleit nitroblue - tetrazolium - kloriddal (NBT) festettük, a vírusfertőzés után 1, 2, 3, 6 és 48 órával (HPI). Eredményeink szerint a szuperoxid az extrém rezisztenciát mutató levelekben a PVX-fertőzés utáni korai időpontokban (elsősorban 1 és 2 óra múlva) halmozódik fel intenzívebben, a fogékony növényekhez képest (**4. ábra**). A szuperoxidszint különbségeinek pontosabb kimutatásához az NBT - festést számítógépes program (Image J) segítségével kvantifikáltuk. A mérések alapján egyértelműnek tűnik, hogy a vírusfertőzés után 48 órára a szuperoxid mennyisége az ER-t mutató *Rx1* dohánylevelekben a fertőzetlen, ill. PVX-re fogékony növényekre jellemző szintre esik vissza (**5. ábra**). Érdekes, hogy az ER során a szuperoxid a fertőzés utáni első 6 órában halmozódik fel, és a PVX mennyisége csak ezt követően csökken jelentősen (**3. és 5. ábra**). Mindez arra enged következtetni, hogy az ER során a szuperoxid közvetlenül hozzájárulhat a fertőző vírus (PVX) gátlásához.



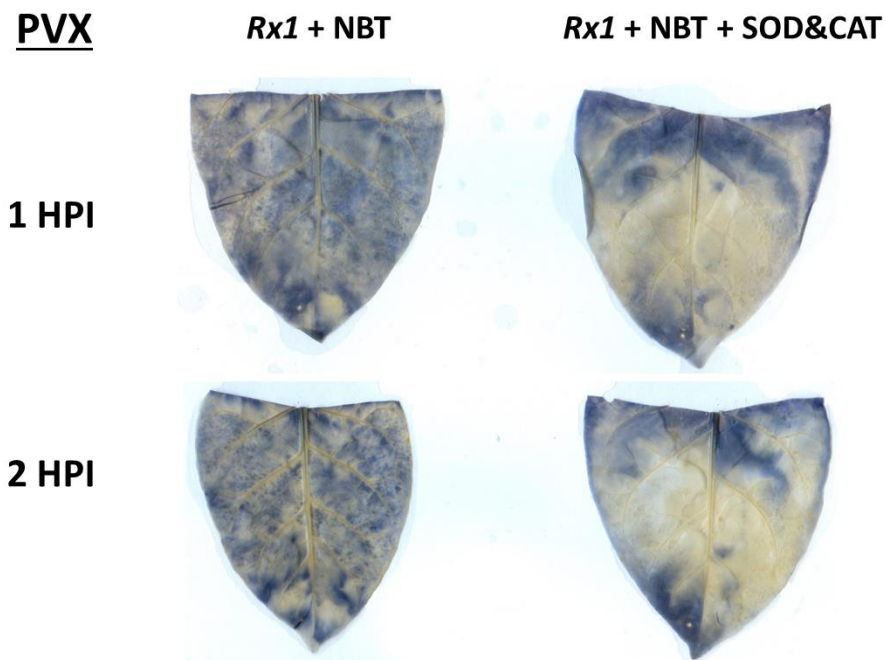
4. ábra: Szuperoxid ($O_2^{\cdot-}$) felhalmozódása (amire a kék szín utal) az *Rx1* extrém rezisztenciagént kifejező dohányban (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun *NN Rx1*) és a fogékony kontroll növényekben (*N. tabacum* cv. Samsun *NN*), burgonya X vírussal (*Potato virus X*, PVX) történő fertőzés után 1, 2, 3 és 6 órával (0 HPI = fertőzetlen növények). A szuperoxidot NBT (nitroblue - tetrazolium - klorid) festéssel detektáltuk. Az alsó ábrarész a PVX-szel szembeni extrém rezisztencia meglétét szemlélteti a vizsgált növényekben, hasonlóan a 2. ábrához.



5. ábra: Szuperoxid ($O_2^{\cdot-}$) felhalmozódás mérése az *Rx1* extrém rezisztenciagént kifejező dohányban (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun *NN Rx1*) és a fogékony kontrollnövényekben (*N. tabacum* cv. Samsun *NN*), a burgonya X vírussal (*Potato virus X*, PVX) történő fertőzés után 1, 2, 3, 6 és 48 órával (0 h = fertőzetlen növények). A szuperoxidot NBT (nitroblue tetrazolium klorid) festéssel detektáltuk, az NBT szövetfestés kvantifikálása Image J számítógépes program segítségével történt.

4.1.4. Az NBT - szövetfestés dohányban specifikus a szuperoxidra

A vírusfertőzés után 1 és 2 órával (HPI) az *Rx1* dohányban tapasztalt intenzív NBT festődés jelentős mértékben csökkent, ha a leveleket az NBT mellett szuperoxid-dizmutázzal (SOD, 3000 U/ml) és katalázzal (CAT, 5000 U/ml) is infiltráltuk (**6. ábra**). A SOD a szuperoxidot hidrogén-peroxiddá (H_2O_2) alakítja, míg a CAT a H_2O_2 -t bontja le. Igazoltuk tehát, hogy PVX fertőzés során az általunk használt dohányokban az NBT szövetfestés valóban specifikus a szuperoxidra.



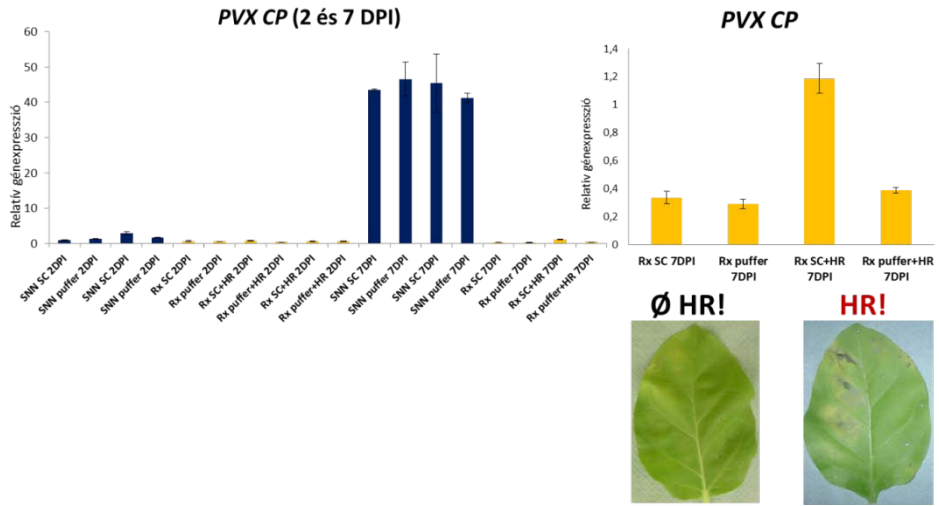
6. ábra: Az NBT (nitroblue - tetrazolium - klorid) szövetfestés a burgonya X vírusra (*Potato virus X*, PVX) extrém rezisztens dohányban (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun NN *Rx1*) specifikus a szuperoxidra ($O_2^{\cdot-}$). A baloldali leveleket a PVX-szel történő fertőzés után 1, ill. 2 órával (HPI) a szuperoxid - felhalmozódás kimutatására NBT-vel infiltráltuk, míg a jobboldali leveleket ugyanezekben az időpontokban NBT-vel, valamint szuperoxid-dizmutázzal (SOD, 3000 U/ml) és katalázzal (CAT, 5000 U/ml) infiltráltuk.

4.1.5. Antioxidáns enzimek (SOD és CAT) infiltrálásának hatása a PVX-szel szembeni extrém rezisztenciára *Rx1* dohányban

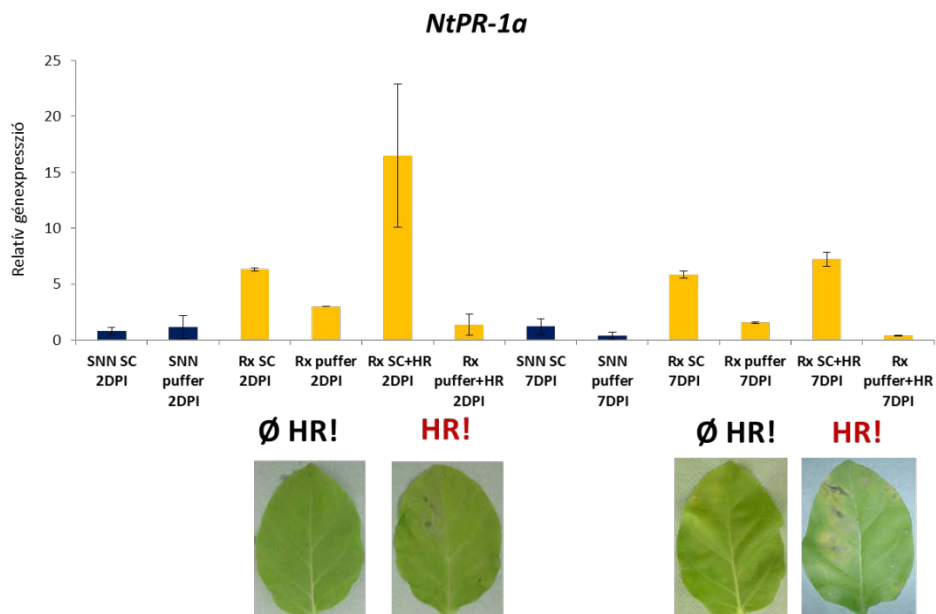
Ha az *Rx1* gént kifejező dohányban a PVX fertőzésénél tapasztalt korai szuperoxid ($O_2^{\cdot-}$) felhalmozódás ténylegesen hozzájárul az extrém rezisztenciához, akkor a $O_2^{\cdot-}$ szint csökkentése antioxidánsal való kezelésekkal megtörheti a rezisztenciát (azaz a rezisztens *Rx1* dohányban legalább részleges fogékonyság alakul ki a PVX fertőzésével szemben). A hipotézis bizonyításához *Rx1* és fogékony kontrolldohánynövények PVX-szel fertőzött leveleinek egyik felét a vírusfertőzés után közvetlenül szuperoxid-dizmutázzal (SOD, 3000 U/ml) és katalázzal (CAT, 5000 U/ml) infiltráltuk (a másik levélfelet

pufferrel infiltráltuk). Az *Rx1* dohányok extrém rezisztensnek bizonyultak a PVX-re, de a vírusfertőzés utáni 7. napon a levelek közel felében az antioxidáns enzimekkel infiltrált levélfélben (SC) szabad szemmel látható, hiperszenzitív lokális nekrózisra (HR) emlékeztető tünetek alakultak ki és ezzel együtt a PVX mennyisége is jelentősen megnőtt a hasonló, de tünetmentes levélfélhez képest (**7. ábra**). Feltételezhető, hogy az extrém vírusrezisztencia lassítása ilyenkor HR típusú rezisztenciát eredményez, amely már nem képes olyan hatékonyan visszaszorítani a kórokozó vírus replikációját (ld. Bendahmane et al., 1999).

A HR-tünetekkel járó szöveti nekrózis megjelenésével jól korrelált az *NtPR-1a* gén expressziója, ez a PVX fertőzés után már 2 nappal észlelhető enyhébb HR-szerű tüneteket mutató levélfelekben is egyértelmű volt (**8. ábra**). Egyes PR gének, ill. fehérjék (pl. PR-1a) ugyanis vírusfertőzések során a rezisztenciával járó szöveti stressz (HR-nekrózis) markerei, bár a rezisztenciában nincs tényleges szerepük (Cutt et al., 1989; Linthorst et al., 1989).



7. ábra: Antioxidáns enzimek hatása a burgonya X vírussal (*Potato virus X*, PVX) szembeni extrém rezisztenciára dohányban (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun NN Rx1), a PVX fertőzés után 2 és 7 nappal (DPI). SC = az inokulált levelek bal felének infiltrálása szuperoxid-dizmutázzal (SOD, 3000 U/ml) és katalázzal (CAT, 5000 U/ml); puffer = az inokulált levelek jobb felének infiltrálása 10 mM kálium-foszfáttal (pH=7,8). A grafikonokon az „SC” és „puffer” jelzésű oszlopok a PVX felhalmozódását reprezentálják egy adott inokulált levél bal, ill. jobb felében. A baloldali grafikon utolsó négy oszlopa van kinagyítva jobbra fent. HR = hyperszenzitív lokális nekrozisra (HR) emlékeztető tünetek az inokulált levelek bal felében. Rx és SNN: extrém rezisztens és fogékony kontroll dohányvonalak. A PVX felhalmozódását (*PVX CP* relatív géneexpresszió) kvantitatív RT-PCR-rel követtük. A géneexpresszió normalizálásához egy dohány-aktin gén (*NtAct*) expresszióját használtuk.



8. ábra: Antioxidáns enzimek hatása a burgonya X vírussal (*Potato virus X*, PVX) szembeni extrém rezisztenciára (ER) dohányban (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun NN *Rx1*), a fertőzés után 2 és 7 nappal (DPI): az ER csökkenése korrelál a HR megjelenésével és az *NtPR-1a* gén fokozott kifejeződésével (kvantitatív RT-PCR, relatív géneexpresszió, a normalizálásához egy dohány aktin gén (*NtAct*) expresszióját használtuk). SC= az inokulált levelek bal felének infiltrálása szuperoxid-dizmutázzal (SOD, 3000 U/ml) és katalázzal (CAT, 5000 U/ml); puffer = az inokulált levelek jobb felének infiltrálása 10 mM kálium-foszfáttal (pH=7,8). A grafikonokon az „SC” és „puffer” jelzésű oszlopok az *NtPR-1a* gén kifejeződését reprezentálják egy adott inokulált levél bal, ill. jobb felében. HR = hiperszenzitív lokális nekrotizisra (HR) emlékeztető tünetek. Rx és SNN: extrém rezisztens és fogékony kontroll dohányvonalak.

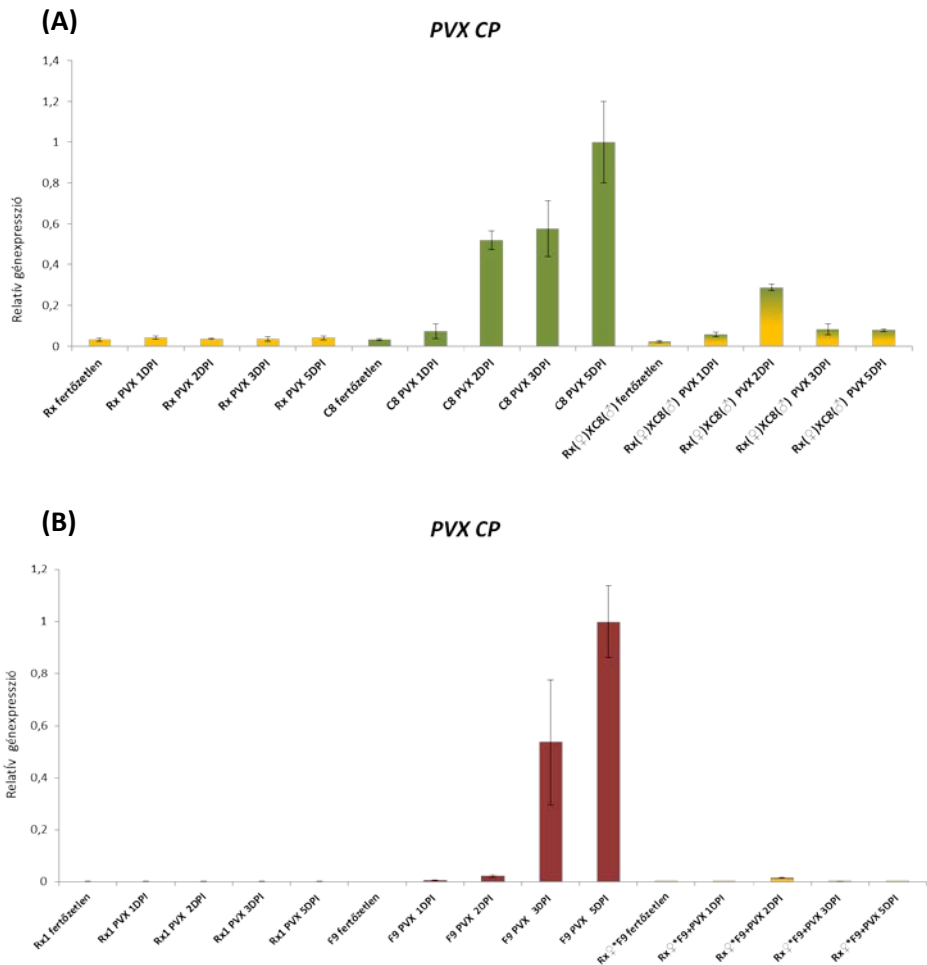
4.1.6. A ROS - képződés gátlásának hatása a PVX-szel szembeni extrém rezisztenciára Rx1 dohányban

Amennyiben dohányban PVX - fertőzésnél a korai ROS (szuperoxid) - felhalmozódás ténylegesen hozzájárul az extrém (*Rx1*) rezisztenciához, akkor a ROS képződés gátlása megtörheti a rezisztenciát. Egy lucernaferritint túltermelő dohányvonalban az egyik leginkább reakcióképes ROS, a hidroxilgyök (OH[•]) termelése visszaszorul (a ferritin megköti a ROS - képződéshez szükséges vasat, ld. Deák et al., 1999). Az *Rx1* gént kifejező dohányvonalat a ferritint túltermelő növényekkel keresztezve feltételezhető, hogy az F₁ utódokban csökken a

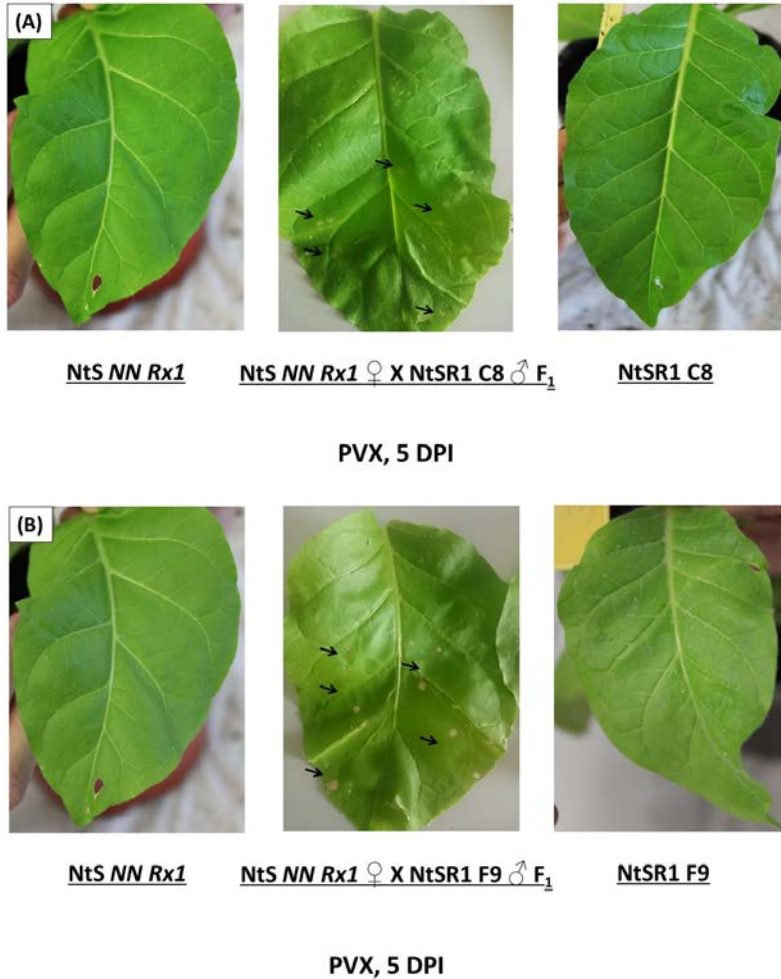
ROS képződés és így az extrém (*RxI*) rezisztencia helyett – legalább részleges – fogékonyság alakulhat ki a PVX fertőzésével szemben.

Az *RxI* dohányokat két ferritin túltermelő dohánnyal (cv. SR1) kereszteztük: a C8 vonalban a lucerna ferritinfehérje szignálpeptid nélküli, rövidebb formája termelődik, míg az F9 vonal a teljes fehérjét fejezi ki (Deák et al., 1999). A keresztezéseknél először az *RxI* dohány volt az anya és a C8, ill. F9 vonal az apa (Nt cv. Samsun *NN RxI* ♀ X Nt cv. SR1 C8 ♂, ill. Nt cv. Samsun *NN RxI* ♀ X Nt cv. SR1 F9 ♂). A keresztezésekből kapott F₁ utódnövényekben a transzgenek (*RxI*, ill. a C8 és F9 lucerna-ferritingén) működését RT-PCR-rel ellenőriztük. A PVX felhalmozódását mérve megállapítható, hogy az F₁ utódnövényekben az extrém rezisztencia részlegesen megtört, azaz az inokulált levelekben a vírusszint jelentősen nagyobb volt az *RxI* dohányokhoz képest, de csak a fertőzés utáni első 2 napban (**9. ábra**). Érdekes, hogy az F₁ növények nagy részében a PVX inokuláció után 5 nappal a fertőzött leveleken szabad szemmel látható, hiperszenzitív lokális nekrotikus léziók (HR) alakultak ki (**10. ábra**). Feltételezhető, hogy a ROS képződésének gátlásával az extrém vírusrezisztencia sérül (lassul), és ez eredményezi a HR típusú rezisztenciát, amely kevésbé képes visszaszorítani a PVX replikációját (ld. Bendahmane et al., 1999). A reciprok-keresztezéseket elvégezve (Nt cv. Samsun *NN RxI* ♂ X Nt cv. SR1 C8 ♀, ill. Nt cv. Samsun *NN RxI* ♂ X Nt cv. SR1 F9 ♀) hasonló eredményeket kaptunk: az *RxI* és a ferritint túltermelő dohányok keresztezéséből kapott F₁ növényekben az extrém rezisztencia (ER) részlegesen megtört, de csak a fertőzés utáni első 2 napban (**11. ábra**), viszont HR-típusú nekrotikus léziók az inokulált leveleken csak elvétve

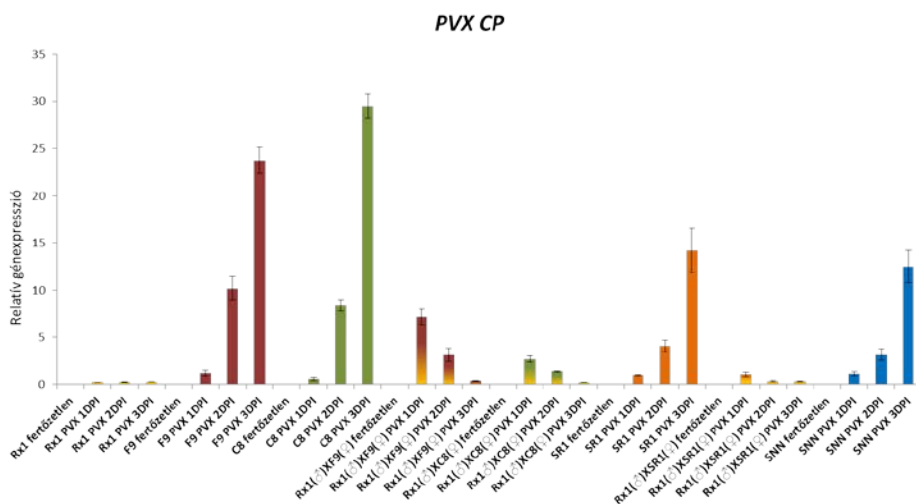
fordultak elő. A kísérletekben kontrollként az SR1 dohányt is kereszteztük az *Rx1* növényekkel. Az így kapott F₁ egyedekben az ER alig csökkent, a ferritin-túltermelő F₁ növényekhez képest. Ezek szerint a ROS-képződés ferritint túltermelésből adódó csökkenése specifikusan képes az extrém rezisztenciát mérsékelni. Erre utal az is, hogy a ferritint túltermelő dohányvonalak (cv. SR1; C8 és F9) sokkal fogékonyabbak PVX-re, mint a két vad típus (cv. SR1 és cv. Samsun *NN*) (**11. ábra**).



9. ábra: A burgonya X vírussal (*Potato virus X*, PVX) szembeni extrém rezisztencia (ER) részleges megtörése ER-t mutató dohány (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun NN Rx1) és két fogékony, ferritint túltermelő dohányvonal (*N. tabacum* cv. SR1; C8 és F9) keresztezéséből kapott F₁ utódnövényekben, a PVX fertőzés utáni első 5 napon. A keresztezésekben az Rx1 dohány volt az anya (♀). Az inokulált levelekben a PVX felhalmozódását (PVX CP relatív géneexpresszió) kvantitatív RT-PCR-rel követtük (a normalizálásához egy dohány-aktíngén (*NtAct*) expresszióját használtuk) (A): Rx1 dohány keresztezése a C8 vonallal; (B): Rx1 dohány keresztezése az F9 vonallal.



10. ábra: A burgonya X vírussal (*Potato virus X*, PVX) szembeni extrém rezisztencia (ER) részleges megtörése ER-t mutató dohány (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun *NN Rx1*) és két fogékony, ferritint túltermelő dohányvonal (*N. tabacum* cv. SR1; C8 és F9) keresztezéséből kapott F₁ utódnövényekben. A keresztezésekben az *Rx1* dohány volt az anya (♀). Az F₁ növények nagy részében a PVX fertőzés után 5 nappal az inokulált levelekben szabad szemmel látható, hiperszenzitív lokális nekrozis (HR) alakult ki (nyíllal jelölve). (A): *Rx1* dohány keresztezése a C8 vonallal; (B): *Rx1* dohány keresztezése az F9 vonallal.

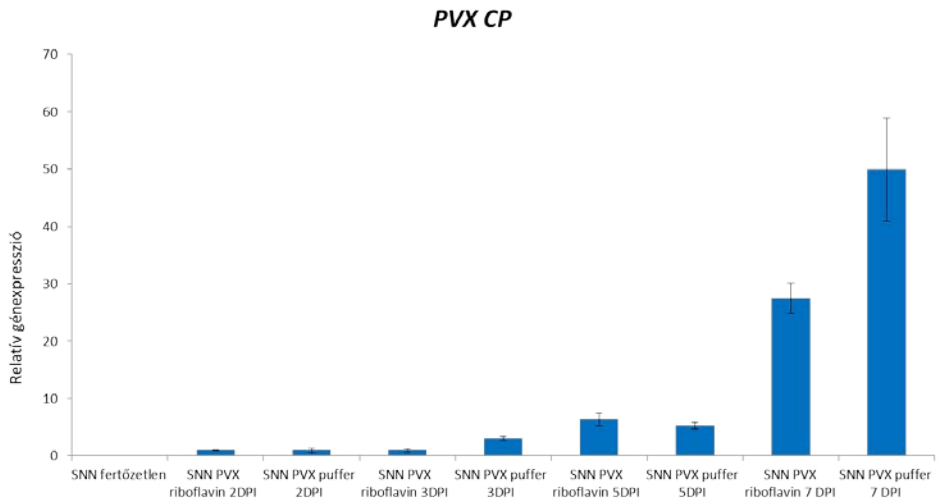


11. ábra: A burgonya X vírussal (*Potato virus X*, PVX) szembeni extrém rezisztencia (ER) részleges megtörése ER-t mutató dohány (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun *NN Rx1*) és két fogékony, ferritin túltermelő dohány vonal (*N. tabacum* cv. SRI; C8 és F9) keresztezéséből kapott F₁ utódnövényekben, a PVX - fertőzés utáni első 3 napon. Kontrollként az SRI dohányt is kereszteztük az *Rx1* növényekkel. A keresztezésekben az *Rx1* dohány volt az apa (♂). SNN: fogékony kontrolldohányvonal. Az inokulált levelekben a PVX felhalmozódását (*PVX CP* relatív géneexpresszió) kvantitatív RT-PCR-rel követtük (a normalizálásához egy dohány aktin gén (*NtAct*) expresszióját használtuk).

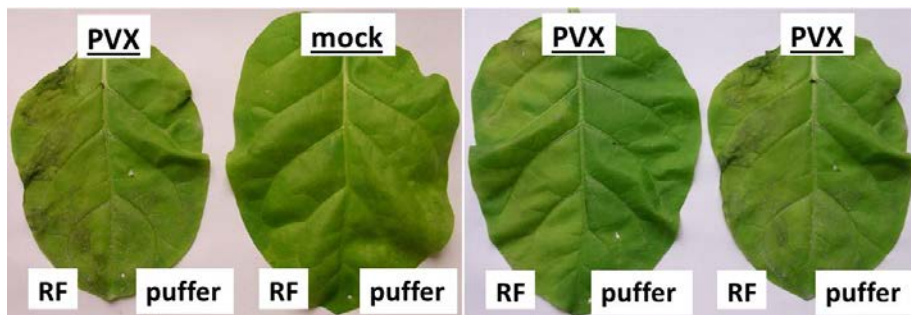
4.1.7. PVX - rezisztencia kialakítása fogékony dohányban (cv. Samsun NN) szuperoxidot (ROS) képző ágens infiltrálásával

Ha az *Rx1* gént kifejező PVX - rezisztens dohányban (cv. Samsun *NN Rx1*) a szuperoxid korai (ROS) felhalmozódása ténylegesen hozzájárul az extrém rezisztenciához, akkor fogékony dohányban (cv. Samsun *NN*) az *in planta* szuperoxidszint növelése mérsékelheti a fogékonyságot (azaz a fogékony *NN* dohányban legalább részleges rezisztencia alakul ki a PVX fertőzésével szemben). A hipotézis bizonyításához PVX - fertőzésre fogékony dohány (cv. Samsun *NN*) vírusfertőzött leveleinek egyik felét a vírusfertőzés után 2 órával szuperoxidot (O₂⁻) képző ágennel (66 μM riboflavin, 10 mM L-metionin) infiltráltuk (a másik levélfelet pufferrel infiltráltuk). Az így kezelt cv. Samsun *NN* dohány fogékony volt a PVX-re, de az inokulált levelek riboflavin-metionin eleggyel infiltrált felében

(a vírusfertőzés után 3 és 7 nappal) a vírusszint jelentősen kisebb volt a pufferral infiltrált levélfélhez képest (**12. ábra**). A vírusfertőzés utáni 5. napra a riboflavin-metionin eleggyel infiltrált levélfelek nagy részében szabad szemmel látható, erősebb vagy gyengébb, hiperszenzitív lokális nekrozisra (HR) emlékeztető tünetek alakultak ki (**13. ábra**). A PVX-re fogékony dohányban az *in planta* szuperoxid (ROS) - szint mesterséges növelése feltételezhetően nem képes extrém rezisztenciát előidézni, de a lassabb, HR típusú rezisztenciát igen, amely részben képes visszaszorítani a PVX replikációját (ld. Bendahmane et al., 1999).



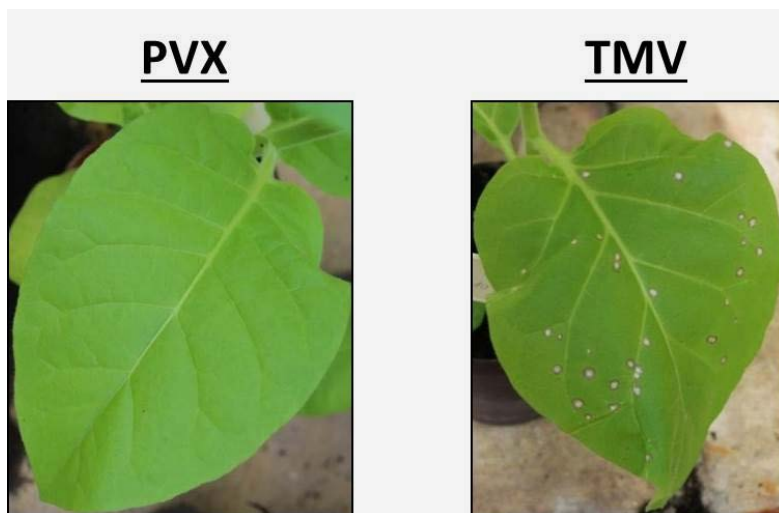
12. ábra: A burgonya X vírussal (*Potato virus X*, PVX) szembeni rezisztencia kialakítása fogékony dohányban (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun NN), szuperoxidot (O_2^-) képző ágens (66 μ M riboflavin, 10 mM L-metionin) infiltrálásával az inokulált levelek egyik felébe (riboflavin), a PVX fertőzés utáni első 7 napon. A PVX felhalmozódását (PVX CP relatív géneexpresszió) az inokulált levelekben kvantitatív RT-PCR-rel követtük (a normalizálásához egy dohány-aktíngén (*NtAct*) expresszióját használtuk).



13. ábra: A burgonya X vírussal (*Potato virus X*, PVX) szembeni rezisztencia kialakítása fogékony dohányban (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun NN), szuperoxidot ($O_2^{\cdot-}$) képző ágens (66 μ M riboflavin, 10 mM L-metionin) infiltrálásával az inokulált levelek egyik felébe (RF). A növények nagy részében a riboflavinnal infiltrált levélfélben a PVX fertőzés után 5 nappal szabad szemmel látható, erősebb vagy gyengébb, hiperszenzitív lokális nekrozisra (HR) emlékeztető tünetek alakultak ki. „mock” = kontroll inokulált levelek.

4.2. A PVX-szel szembeni tünetmentes, extrém rezisztencia és a TMV által kiváltott, lokális nekrozissal (HR) járó ellenálló képesség összehasonlítása dohányban - védekezéssel kapcsolatos gének és antioxidánsok aktivitása

A *Nicotiana tabacum* cv. Samsun NN *Rx1* dohányban a Burgonya X vírus (*Potato virus X*, PVX) fertőzésekor az *Rx1* rezisztenciagén által meghatározott ún. extrém rezisztencia (ER) tünetmentes, míg az *N* rezisztenciagén által meghatározott, dohány mozaik vírussal (*Tobacco mosaic virus*, TMV) szembeni ellenálló képességet lokális sejt- és szövetelhalás (hiperszenzitív reakció, HR) kíséri (ld. Bendahmane et al., 1999) (14. ábra).

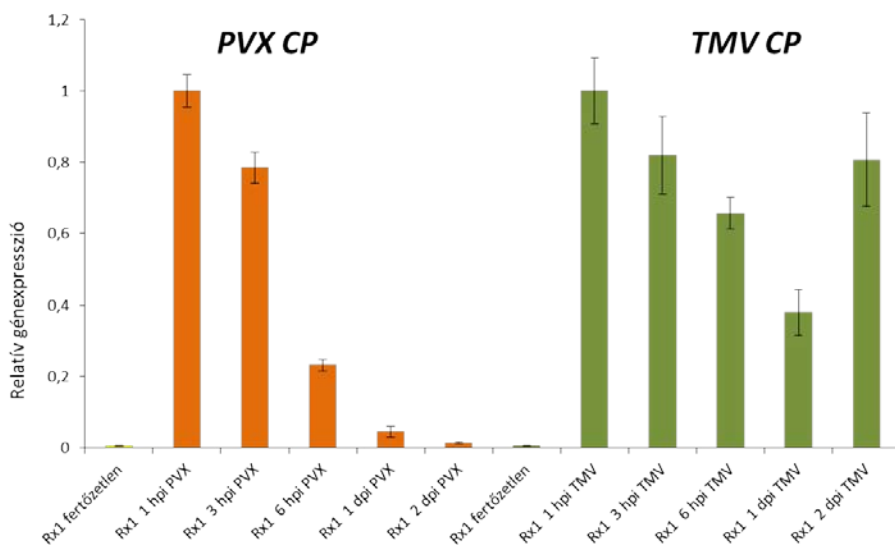


14. ábra: Tünetmentes (extrém) és hiperszenzitív (HR) vírusrezisztencia dohányban (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun *NN Rx1*). Baloldali kép: Az *Rx1* rezisztenciagén által meghatározott extrém rezisztencia (ER) burgonya X vírus (*Potato virus X*, PVX) fertőzésekor. Jobboldali kép: Az *N* rezisztenciagén által irányított HR dohány mozaik vírus (*Tobacco mosaic virus*, TMV) fertőzés esetén. A felvételek 2 nappal a vírusfertőzés után készültek.

A tünetmentes ER során a vírusgátlás tényleges folyamata nagyrészt tisztázatlan, bár a fent ismertetett eredményeink szerint a reaktív oxigénfajták (ROS), elsősorban a szuperoxid (O_2^-), hozzájárulhatnak ehhez a folyamathoz. Kíváncsiak voltunk azonban arra is, hogyan változik egyes védekezési (részben ún. patogenezissel kapcsolatos, PR) gének expressziója, valamint egyes nem enzimátikus és enzimátikus antioxidánsok mennyisége, ill. aktivitása e két vírusrezisztencia mechanizmus (tünetmentes ER és lokális nekrotizissal járó HR) során?

A további kísérletek előtt a PVX-szel szembeni tünetmentes (ER) és a TMV-vel szembeni HR típusú vírus rezisztenciát – a PVX, ill. TMV felhalmozódását – ugyanabban a dohánygenotípusban összehasonlítva látszik, hogy az ER már a vírusfertőzés utáni 6. órától kialakul (a PVX gátolva van), míg a HR során a vírusszint a nekrotikus léziók megjelenésével (2 nap) még emelkedik (**15. ábra**). Ezek szerint már a

fertőzés utáni első 2 napban a HR során kb. egy nagyságrenddel több vírus (TMV) van jelen a gazdanövényben, mint a tünetmentes ER-nél, ahol a vírus (PVX) szinte teljesen visszaszorul.

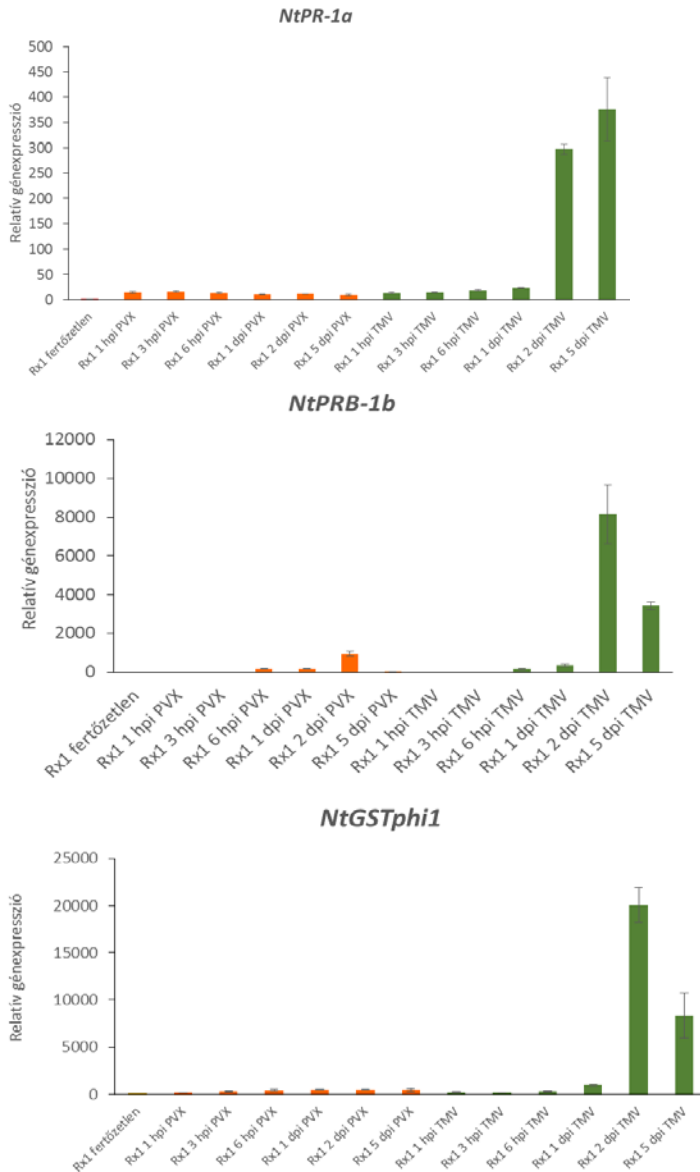


15. ábra: Burgonya X vírus (*Potato virus X*, PVX) és dohány mozaik vírus (*Tobacco mosaic virus*, TMV) felhalmozódása az *Rx1* extrém rezisztenciagént kifejező, PVX-re és TMV-re rezisztens dohányban (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun *NN Rx1*), a vírusfertőzés után különböző időpontokban (1, 3 és 6 óra, 1 és 2 nap), kvantitatív RT-PCR-rel mérve (PVX CP és TMV CP relatív génexpresszió). A génkifejeződés normalizálásához egy dohány-aktin gén (*NtAct*) expresszióját használtuk.

4.2.1. Védekezéssel kapcsolatos gének expressziója a tünetmentes ER és a HR során

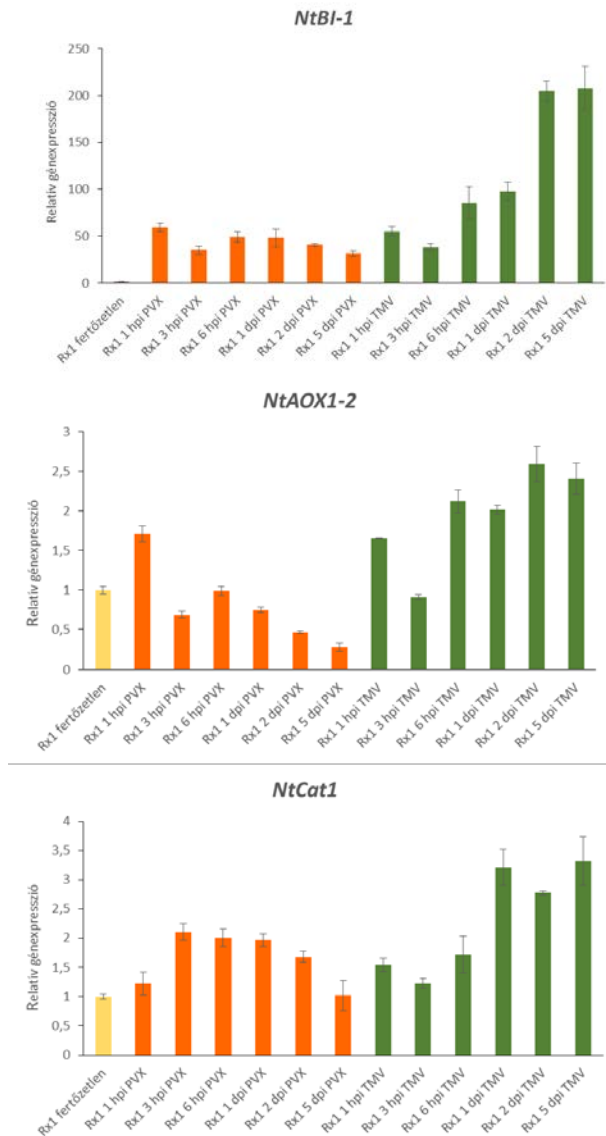
A PVX-szel szembeni tünetmentes (ER) és a TMV-vel szembeni HR típusú rezisztenciánál először két, ún. patogenezissel kapcsolatos (PR) gén (*NtPR-1a* és *NtPRB-1b*), valamint egy szintén PR génnek tekinthető, stresszre jól indukálódó gén (glutation-S-transzferáz, *NtGSTphi1*) expresszióját vizsgáltuk. ER esetén a PVX - fertőzés után 1 és 3 órával az *NtPR-1a* expressziója kissé nőtt, majd a 6. órától fokozatosan csökkent. A TMV fertőzése által kiváltott HR-nél viszont az *NtPR-1a* expresszió a

fertőzés után 1 órától az 1. napig fokozatosan emelkedett, majd a 2. és 5. napra (amikor a HR-léziók kifejlődnek) már kb. tízszeresére nőtt. **(16. ábra)**. Az *NtPRB-1b* gén expressziója mindkét rezisztenciátípusnál kezdetben nőtt, és a fertőzést követő 2. napon tetőzött. Az 5. napra viszont az ER-t mutató (PVX - fertőzött) növényekben az eleve alacsony *NtPRB-1b* mRNS szint teljesen visszaszorult. Ebben az időpontban a TMV - fertőzött növényekben (HR) is megfigyeltünk jelentősebb visszaesést, de a *NtPRB-1b* expresszió még így is igen magas szinten maradt **(16. ábra)**. PVX - fertőzött, ER-t mutató növényekben az *NtGSTphil* expressziója rendkívül alacsony szintű volt és a fertőzés során 5 napig alig növekedett. TMV fertőzött, HR-t mutató növényekben ugyanakkor a fertőzés után 2 és 5 nappal az *NtGSTphil* kifejeződése többszörösére nőtt, a *NtPRB-1b*-hez hasonló expressziós trendet követve **(16. ábra)**.



16. ábra: Három védekezési (stressz) gén (*NtPR-1a*, *NtPRB-1b* és *NtGSTphi1*) kifejeződése burgonya X vírussal (*Potato virus X*, PVX) és dohány mozaik vírussal (*Tobacco mosaic virus*, TMV) fertőzött, PVX-re és TMV-re rezisztens dohányban (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun *NN Rx1*) a vírusfertőzés után különböző időpontokban (1, 3 és 6 óra, 1, 2 és 5 nap), kvantitatív RT-PCR-rel mérve (relatív génexpresszió). A génkifejeződés normalizálásához egy dohány-aktin gén (*NtAct*) expresszióját használtuk, a kapott eredményeket a kontroll inokulált („mock”) minták értékeihez is normalizáltuk.

A PVX-szel szembeni tünetmentes (ER) és a TMV-vel szembeni HR típusú rezisztenciánál figyelemmel kísértük három további olyan dohánygén aktivitását is, amelyek a sejthalál gátlásban (BAX inhibitor-1, *NtBI-1*), ill. a ROS - felhalmozódás szabályozásában (alternatív-oxidáz, *NtAOXI-2* és kataláz, *NtCat1*) játszanak szerepet. Az *NtBI-1* gén expressziója a HR-nél (TMV - fertőzés) eleve jóval nagyobb mértékű volt, és folyamatosan emelkedett, a fertőzés utáni 2. naptól az *NtBI-1* mRNS szintje a kezdeti érték többszörösére nőtt, összhangban a HR-típusú nekrotikus léziók kialakulásával. Tünetmentes ER-nél (PVX - fertőzés) viszont a fertőzés utáni 6. órától az eleve kismértékű *NtBI-1* expresszió stagnált, majd erősen visszaszorult (**17. ábra**). Az *NtAOXI-2* expressziója mindkét rezisztenciatípusnál (ER és HR) a fertőzést követő 3. órában visszaesett. A 6. órától a tünetmentes ER-nél (PVX fertőzés) az *NtAOXI-2* génexpresszió lényegében stagnált, majd csökkent, míg HR-nél (TMV fertőzés) az *NtAOXI-2* mRNS szintje kb. a kétszeresére emelkedett, még jóval a HR-léziók megjelenése előtt (6 HPI) (**17. ábra**). A hidrogén-peroxidot lebontó, katalázt kódoló *NtCat1* expressziója ER-nél a PVX fertőzés után 3 órával kb. a kétszeresére nőtt, de innentől kezdve a génexpresszió stagnált, majd csökkent. HR során, a BAX inhibitorhoz és az alternatív-oxidázhoz hasonlóan, az *NtCat1*-nál is megfigyelhető volt a fertőzés után 3 órával a génexpresszió átmeneti visszaesése, de ezután az *NtCat1* expressziója kb. a kétszeresére nőtt, még a HR-léziók megjelenése előtt (1 DPI) (**17. ábra**).

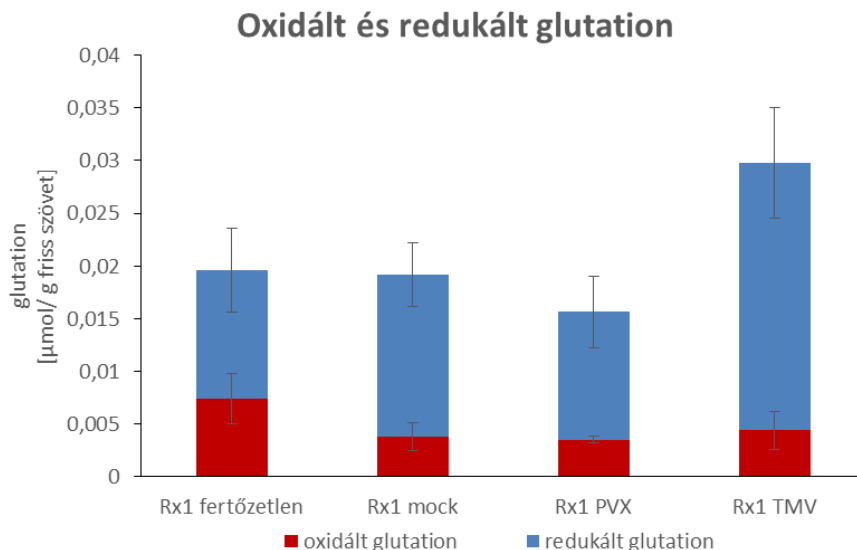


17. ábra: Sejthalál gátló (*NtBI-1*=BAX inhibitor-1), ill. ROS felhalmozódást szabályozó gének (*NtAOX1-2* =alternatív-oxidáz és a *NtCat1*=kataláz) kifejeződése burgonya X vírussal (*Potato virus X*, PVX) és dohány mozaik vírussal (*Tobacco mosaic virus*, TMV) fertőzött, PVX-re és TMV-re rezisztens dohányban (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun NV Rx1) a vírusfertőzés után különböző időpontokban (1, 3 és 6 óra, 1, 2 és 5 nap), kvantitatív RT-PCR-rel mérve (relatív géneexpresszió). A génekifejeződés normalizálásához egy dohány-aktin gén (*NtAct*) expresszióját használtuk, a kapott eredményeket a kontroll inokulált („mock”) minták értékeihez is normalizáltuk.

Összességében a vizsgált védekezési (PR) gének expressziója a tünetmentes ER (PVX fertőzés) esetén csak feleakkora mértékben vagy – a PR gének, az *NtBI-1* és *NtGSTphil* esetén – kb. egy nagyságrenddel kisebb mértékben indukálódott, mint a lokális nekrotikus léziókkal járó HR-nél (TMV fertőzés). Ennek oka feltehetően az, hogy az ER rendkívül gyors lefolyású, már a vírusfertőzés után 6 órával kialakul (ld. **2.**, **3.** és **15. ábra**), ezért hosszabb távon nincs szükség a védekezési gének fokozott expressziójára.

4.2.2. Glutation felhalmozódásának meghatározása a tünetmentes ER és a HR során

A glutation egy olyan nem enzimatisz antioxiidáns, amely nemcsak a ROS semlegesítésében, de a betegségrezisztencia jelátvitelében is fontos szerepet játszik. A vírusfertőzés után 4 nappal az össz-glutation szintje (redukált és oxidált glutation) a HR (TMV - fertőzés) esetében megemelkedett, míg a tünetmentes ER (PVX fertőzés) során nem változott szignifikánsan az egészséges, fertőzetlen növényekben mért szinthez képest. A redukált és oxidált glutation aránya HR esetében volt a legnagyobb, tehát a glutation redukált formájának mennyisége is jelentősen megemelkedett a TMV-vel fertőzött, HR-típusú rezisztenciát mutató dohányban, ami feltehetően a nekrotikus (HR) léziók megjelenésével van összefüggésben (**18. ábra**).



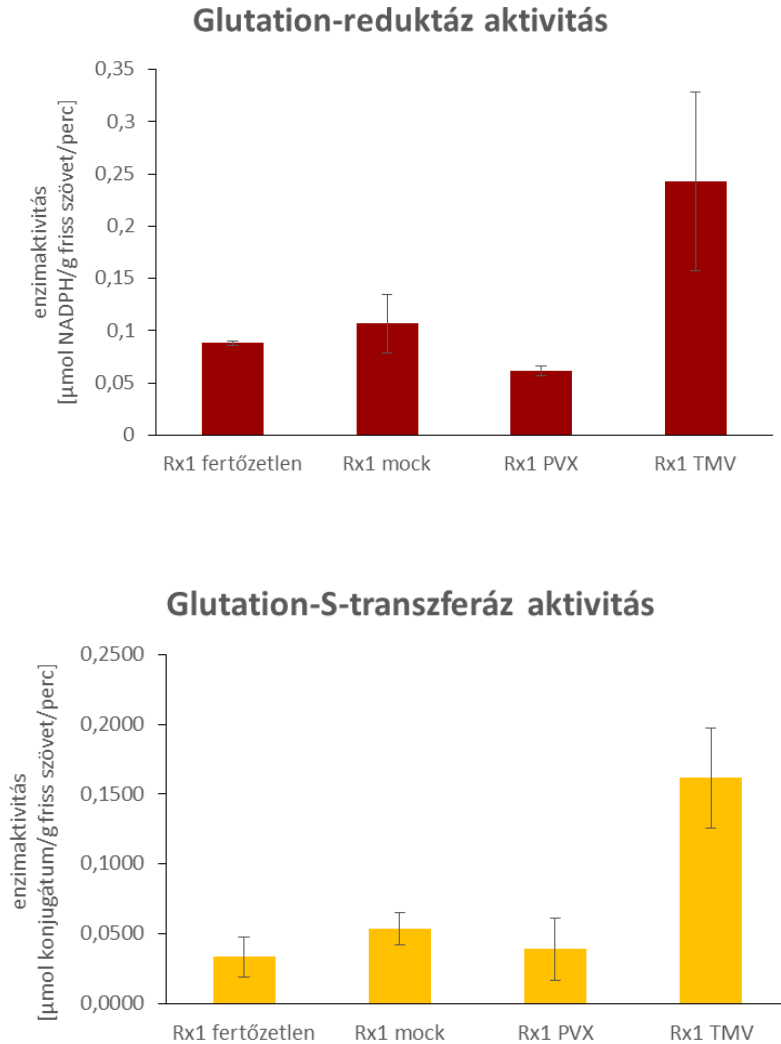
18. ábra: Glutation felhalmozódása és az oxidált és redukált glutation aránya burgonya X vírussal (*Potato virus X*, PVX) és dohány mozaik vírussal (*Tobacco mosaic virus*, TMV) fertőzött, PVX-re és TMV-re rezisztens dohányban (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun NN Rx1) a vírusfertőzés után 4 nappal. „mock” = kontroll inokulált növények.

4.2.3. Glutation-reduktáz és glutation-S-transzferáz enzimek aktivitása a tünetmentes ER és a HR során

A PVX-szel (ER) és TMV-vel (HR) fertőzött dohányokban két, a glutation működésében szerepet játszó antioxidáns hatású enzim, a glutation reduktáz (GR) és a glutation-S-transzferáz (GST) aktivitását mértük. A GR az aszkorbát-glutation-ciklusban az oxidált glutationt regenerálja (redukálja), míg a GST egy méregtelenítő funkciójú enzim: a redukált glutationt konjugálja a növény számára toxikus vegyületekkel, de néhány GST izoenzim glutation-peroxidázként is működik (antioxidáns funkció). A vírusfertőzés után 4 nappal a GR és GST aktivitása a fertőzetlen növényekhez képest HR (TMV - fertőzés) esetében többszörösére nőtt (feltételezhetően a HR léziók megjelenésével

összefüggésben), míg a tünetmentes ER (PVX fertőzés) során nem változott szignifikánsan (**19. ábra**).

Összességében az általunk vizsgált, növényi védekezésben (betegségrezisztenciában) szerepet játszó antioxidánsok (glutation, GR, GST) fokozott aktivitása a TMV rezisztenciára jellemző nekrotikus (HR) léziók kialakulásához köthető. A PVX - fertőzés után 4 nappal a tünetmentes ER során a glutation szintje, ill. a GR és GST aktivitása nem változott, feltehetően azért, mert az ER rendkívül gyors lefolyású, már a vírusfertőzés után 6 órával kialakul (ld. **2.**, **3.** és **15. ábra**).



19. ábra: Glutation-reduktáz (GR) és glutation-S-transzferáz (GST) enzimaktivitás burgonya X vírussal (*Potato virus X*, PVX) és dohány mozaik vírussal (*Tobacco mosaic virus*, TMV) fertőzött, PVX-re és TMV-re rezisztens dohányban (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun NN Rx1) a vírusfertőzés után 4 nappal. „mock” = kontroll inokulált növények.

4.3. A paprika lisztharmattal szembeni, oltással átvihető tünetmentes rezisztenciája cseresznyepaprikában – élettani háttér, a szuperoxid felhalmozódás szerepe

Különös figyelmet fordítottunk a ‘Szentesi’ cseresznyepaprikára (*Capsicum annuum* var. *cerasiforme* cv. Szentesi), mert előzetes megfigyeléseink alapján üvegházi illetve fóliasátoros termesztés során ellenállónak mutatkozott a paprikalisztharmat (*Leveillula taurica*) fertőzésével szemben. Az étkezési paprikák hajtató felület alatt (üvegházban, illetve fóliasátorban) történő termesztés során viszont igen fogékonyak erre a kórokozóra (Glits és Folk, 2000). A ‘Totál’ étkezési paprikafajta hajtató felület alatt minden esetben fogékonynak bizonyult mutatott a paprikalisztharmattal szemben.

Paprikatermesztés során a kertészeti oltás alkalmazásának egyik eredeti célja, hogy az alanyhatás segítségével javuljon a növények kalciumfelvétele (lásd: Lantos, 2011). Előzetes provokációs kísérleteinkben hajtató felület alatt történő termesztési körülmények között azt tapasztaltuk, hogy a lisztharmatra fogékony ‘Totál’ étkezési paprika rezisztenssé válik, ha az ellenálló cv. Szentesi cseresznyepaprika alanyra oltjuk (**20. és 21. ábra**).



20. ábra: *Capsicum annuum* var. *cerasiforme* cv. Szentesi cseresznyepaprika-alanya oltott *Capsicum annuum* cv. Totál, étkezési paprika (nemes). A piros vonal az oltási pontot mutatja.



21. ábra: Lisztharmatos (*Leveillula taurica*) fertőzésnek kitett, 'Szentesi' cseresznyepaprikára oltott 'Totál' étkezési paprika (Szentesi+Totál) gyakorlatban való használata Szentesen a Duna-R Kft telepén. Baloldali és középső kép: Szentesi+Totál oltott növények; jobboldali kép: saját gyökerű 'Totál' növények.

Doktori munkám egyik fő célkitűzése volt annak tisztázása, hogy a cseresznyepaprika oltással átvihető lisztharmat - rezisztenciájában milyen

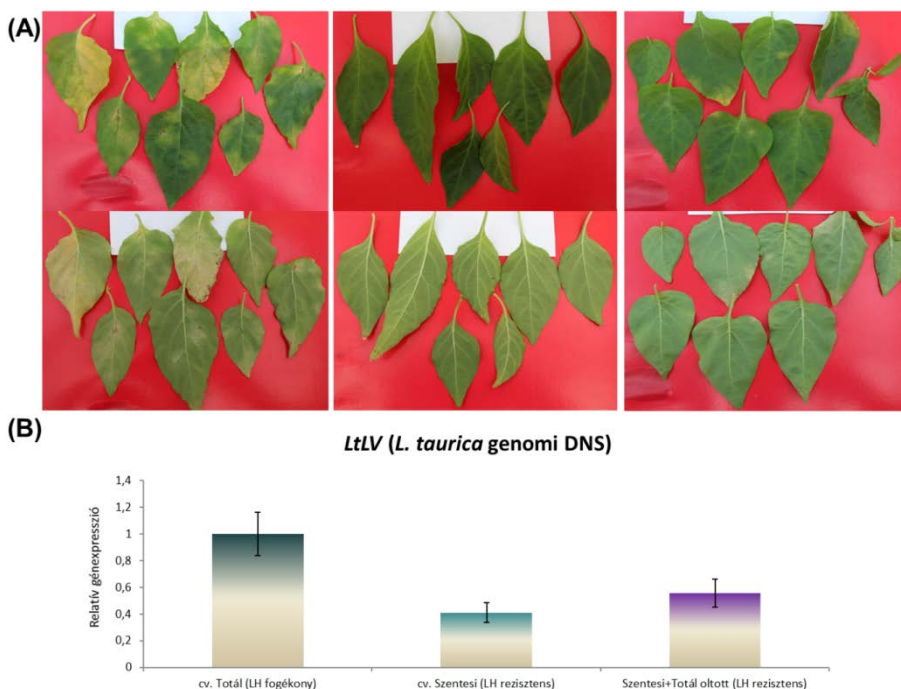
szerepe van a szuperoxid felhalmozódásának, ill. az ehhez kapcsolódó védekezési folyamatoknak?

4.3.1. A cseresznyepaprika oltással átvihető lisztharmat - rezisztenciája együtt jár-e a kórokozó gátlásával?

Kíváncsiak voltunk arra, hogy a cseresznyepaprika oltással átvihető lisztharmat - rezisztenciája kontrollált, laboratóriumi körülmények között is hatásos-e, ill. a rezisztencia együtt jár-e a kórokozó tényleges gátlásával? A fent említett paprikanövényeket (saját gyökerű cv. Totál és cv. Szentesi, ‘Szentesi’ alanyra oltott ‘Totál’) egy fóliasátorból izolált paprikalisztharmattal (*L. taurica*) inokuláltuk. A fertőzött növényeket növénynevelő kamrában tartottuk. A lisztharmatos inokuláció után 45 nappal a saját gyökerű ‘Totál’ növények egységesen a tipikus betegség tüneteket mutatták: a levél színén klorotikus foltok (kb. 1-2 cm átmérő), a fonákon a klorotikus foltokkal átellenben lisztharmat telepek alakultak ki. A ‘Szentesi’ paprikanövények nem mutattak szabad szemmel látható tüneteket, míg a ‘Szentesi’ alanyra oltott ‘Totál’ növényeknél (Szentesi+Totál) az alsó, idősebb levelek felületének legfeljebb 30 %-án jelent meg enyhe lisztharmat, ill. klorózis (**22A. ábra**). Ezekben az oltott növényekben (Szentesi+Totál) a bogyótermés mennyisége (darabszám és méret) valamint külleme ugyanolyan volt, mint a saját gyökerű ‘Totál’ egyedekben.

A növényi betegség - ellenállóság akkor tekinthető valódi rezisztenciának, ha nemcsak a betegség tünetek (pl. lisztharmatbevonat, klorózis) szorulnak vissza, hanem a kórokozó felhalmozódása is ténylegesen gátlódik. A paprikalisztharmat (*L. taurica*) felhalmozódását a

fent említett növényekben kvantitatív PCR-rel követtük nyomon. A fertőzés előrehaladott fázisában (45 nappal az inokuláció után) a *L. taurica* genomi DNS - szintje szignifikánsan alacsonyabb volt a lisztharmatos tüneteknek ellenálló paprikákban (saját gyökerű ‘Szentesi’ és oltott Szentesi+Totál), mint a fogékony, saját gyökerű ‘Totál’ egyedekben (**22B. ábra**).



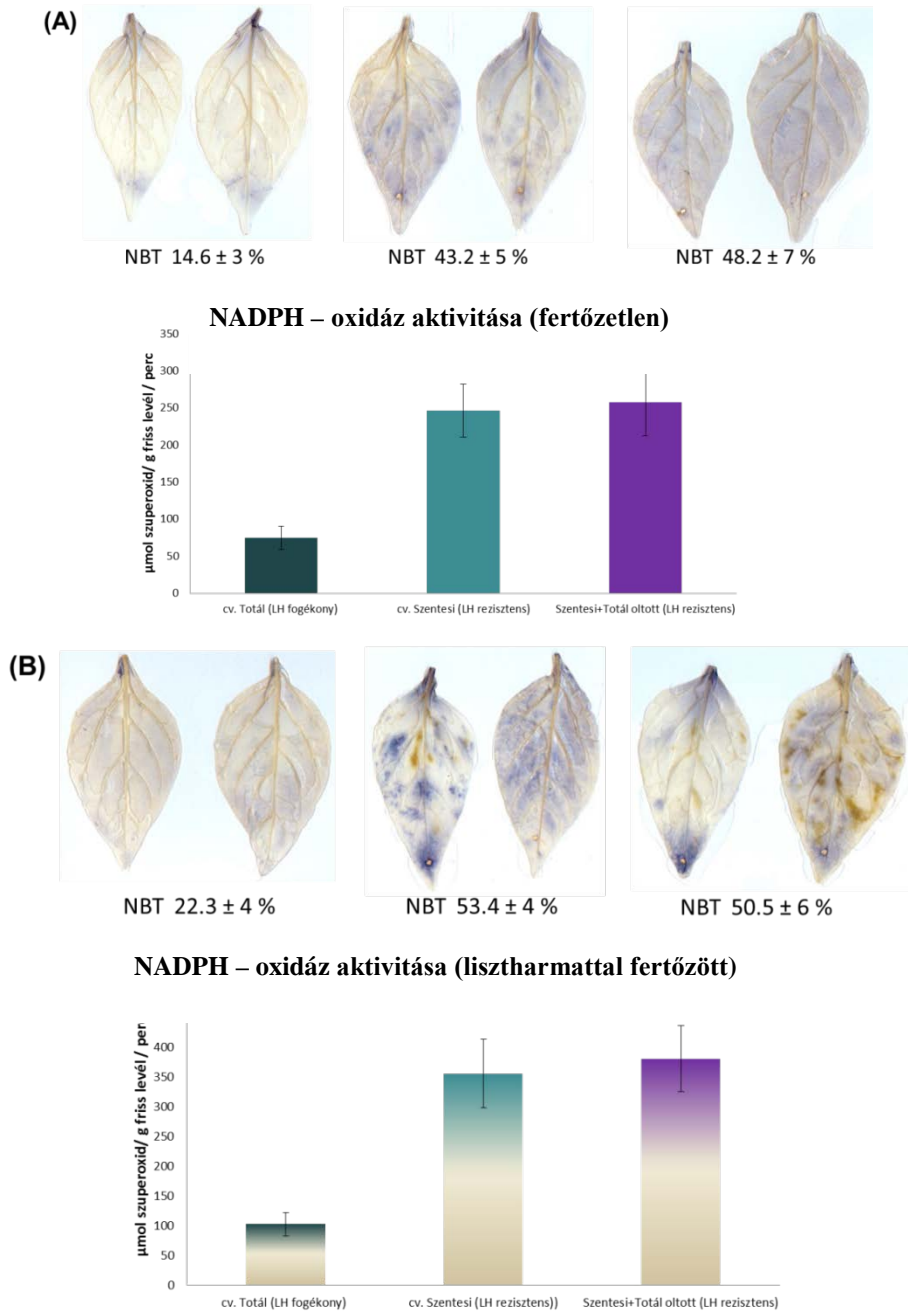
22. ábra: A ‘Szentesi’ cseresznyepaprika (*Capsicum. annuum* var. *cerasiforme* cv. Szentesi) lisztharmattal (*Leveillula taurica*) szembeni rezisztenciája oltással átvihető: a ‘Szentesi’ cseresznyepaprikára oltott, eredetileg fogékony ‘Totál’ étkezési paprikában (Szentesi+Totál) lisztharmat -rezisztencia indukálódik. (A) Lisztharmatos fertőzés tipikus tünetei paprikaleveleken 45 nappal az inokuláció után. Felső képek: klorotikus foltok a levél színén; alsó képek: a klorotikus foltokkal átellenben lisztharmattelepek a levél fonákján. Baloldali, középső és jobboldali képek: lisztharmatra fogékony (saját gyökerű cv. Totál) és rezisztens (saját gyökerű cv. Szentesi és oltott Szentesi+Totál) paprika levelei. (B) A paprikalisztharmat (*L. taurica*) felhalmozódását kvantitatív PCR-rel követtük nyomon 45 nappal az inokuláció után (relatív genomi DNS - szint). A normalizáláshoz egy paprika - aktingént (*CaAct*) használtunk.

4.3.2. A szuperoxid - felhalmozódás és a NADPH-oxidáz aktivitásának szerepe a 'Szentesi' cseresznyepaprika oltással átvihető lisztharmat - rezisztenciájában

Mivel a reaktív oxigénfajták (ROS) felhalmozódása sok esetben együtt jár a betegségrezisztenciával, kíváncsiak voltunk arra, van-e összefüggés a paprika tünetmentes lisztharmat - rezisztenciája és egy ROS, a szuperoxid ($O_2^{\cdot-}$) jelenléte között? Eredményeink szerint a 'Szentesi' cseresznyepaprika és 'Totál' étkezési paprikafajta lisztharmattal szembeni rezisztenciája, ill. fogékonysága jól korrelált a nitroblue - tetrazolium - kloridos (NBT) festéssel kimutatható szuperoxid felhalmozódással, ill. annak hiányával. Kísérleteink igazolták, hogy a kertészeti oltással átvitt ismeretlen jel hatására is szuperoxid halmozódik fel a lisztharmatrezisztens 'Szentesi' alanyra oltott fogékony 'Totál' oltórészben, amely ellenállóvá válik (**22. és 23. ábra**). A fertőzetlen 'Szentesi' cseresznyepaprika leveleiben NBT - festéssel kimutatható intenzív szuperoxid - akkumuláció a lisztharmatos fertőzés következtében tovább fokozódott. Ezzel szemben a fogékony növény (étkezési paprika, cv. Totál) leveleiben igen enyhe szuperoxid - felhalmozódást mértünk, de a rezisztens 'Szentesi' alanyra való oltás után fertőzés hiányában is a fertőzés után meg különösen intenzív volt ennek a reaktív oxigénfajtának a jelenléte, ezzel párhuzamosan pedig a rezisztencia is megnyilvánult (**22. és 23. ábra**).

A patogenezissel összefüggő szuperoxid termelés növényekben elsősorban a NADPH-oxidáz enzim működéséhez köthető (Pogany et al., 2009; Marino et al., 2012). Kíváncsiak voltunk arra, hogy paprikában a NADPH-oxidáz aktivitás korrelációban van-e az NBT - festéssel

kimutatható szuperoxid mennyiségével és a liztharmat rezisztenciával? Eredményeink szerint a liztharmatra rezisztens ‘Szentesi’ cseresznyepaprikára oltott ‘Totál’ étkezési paprikában a liztharmat-ellenállóság megjelenése együtt jár nemcsak a szuperoxid felhalmozódásával, de a NADPH oxidáz aktivitásának jelentős mértékű fokozódásával is. Fertőzetlen növényekben a ‘Szentesi’ cseresznyepaprika NADPH-oxidázának aktivitása szignifikánsan nagyobb volt, mint a ‘Totál’ étkezési paprika enzimaktivitása. A ‘Szentesi’ cseresznyepaprikára oltott ‘Totál’ étkezési paprikák NADPH-oxidáz aktivitása megegyezett a saját gyökerű ‘Szentesi’ cseresznyepaprikáéval, ami jól korrelál a NBT - szövetfestés eredményeivel. A liztharmatos inokuláció után 45 nappal a NADPH-oxidáz aktivitásértékei összességében emelkedtek, de a rezisztens növényekre jellemző lényegesen magasabb aktivitás megmaradt (**22. és 23. ábra**).



23. ábra: A 'Szentesi' cseresznyepaprika (*Capsicum. annuum* var. *cerasiforme* cv. Szentesi) lisztharmattal (*Leveillula taurica*) szembeni, oltással átvihető rezisztenciájának markere a szuperoxid ($O_2^{\cdot-}$)-felhalmozódás és a fokozott NADPH-oxidáz enzimaktivitás, a fertőzetlen (A) és lisztharmattal fertőzött (B) növényekben egyaránt (45 nappal az inokuláció után). Felső képek: szuperoxid-felhalmozódás kimutatása fertőzetlen és lisztharmattal fertőzött paprika levelekben, nitroblue-tetrazolium-klorid (NBT) festéssel detektálva. Az NBT-

szövetfestés kvantifikálása Image J számítógépes program segítségével történt (NBT festés a levélfelület %-ában). Baloldali, középső és jobboldali képek: liztharmatra fogékony (saját gyökerű cv. Totál) és rezisztens (saját gyökerű cv. Szentesi és oltott Szentesi+Totál) paprika levelei. Alsó grafikonok: NADPH-oxidáz aktivitása fertőzetlen és liztharmattal fertőzött paprikalevelekben.

4.3.3. A szuperoxid - felhalmozódás és a NADPH-oxidáz aktivitásának összefüggése cseresznyepaprika-alanyok oltással átvihető liztharmat - rezisztenciájával

Hajtató felület alatt történő termesztési körülmények között további provokációs kísérleteket végezve kimutattuk, hogy a liztharmatra fogékony ‘Totál’ étkezési paprika akkor is rezisztenssé válik, ha a ‘Szentesi’ mellett más ellenálló cseresznyepaprika alanyokra (‘Kalocsai A’, ‘Kalocsai M’, ‘Garai fehér’) oltjuk. A fogékony cseresznyepaprika - alanyokra (‘Globál’, ‘Koral’, ‘Óriás cseresznye’) oltott ‘Totál’ viszont liztharmatra fogékony maradt. Igazoltuk továbbá, hogy a kertészeti oltás hatására ebben az esetben is szuperoxid halmozódik fel a liztharmat-rezisztens alanyra oltott, eredetileg fogékony ‘Totál’ oltórészben, azaz a liztharmat - rezisztencia jól korrelál a szuperoxid felhalmozódással (**1. táblázat**).

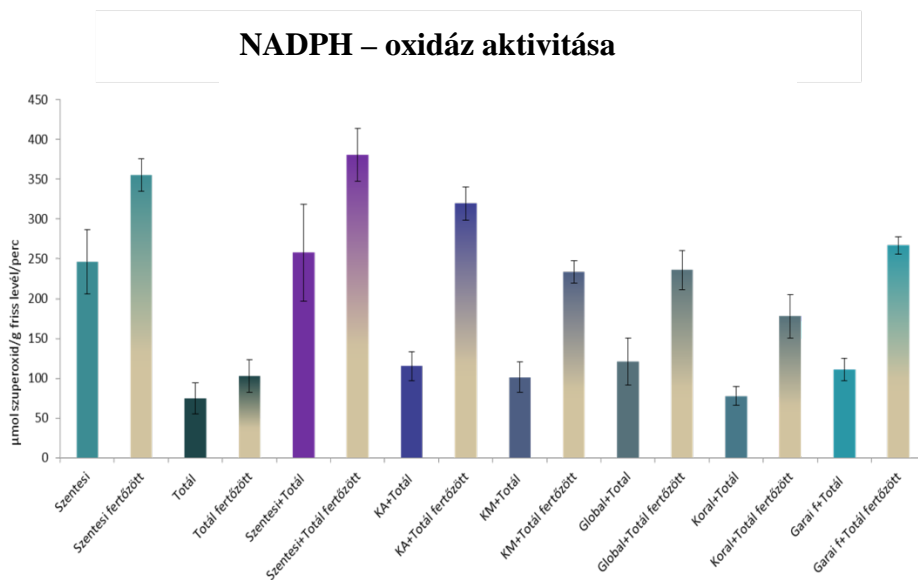
1. táblázat: Különböző cseresznyepaprika - alanyokra oltott étkezési paprika (cv. Totál) liztharmat-ellenállósága és szuperoxid - felhalmozódása

Cseresznyepaprika alany (ráoltva: cv. Totál)	Rezisztens (db)	Fogékony (db)	Szuperoxid felhalmozódás ¹
Szentesi	15	0	48.2 ± 7 %
Kalocsai A	13	2	45.7 ± 5 %
Kalocsai M	12	3	39.3 ± 4 %
Globál	0	15	13.4 ± 3 %
Koral	0	15	11.2 ± 3 %
Garai fehér	10	5	35.2 ± 5 %
Óriási cseresznye	2	13	15.6 ± 4 %

¹A levelek nitroblue-tetrazolium-kloridos (NBT) festésével detektálva. Az NBT - szövetfestés kvantifikálása Image J számítógépes program segítségével történt (NBT - festés a levélfelület %-ában).

Kíváncsiak voltunk arra is, hogy a ‘Szentesi’ mellett más, liztharmatrezisztens cseresznyepaprika - alanyok esetében is igaz-e, hogy a NADPH-oxidáz fokozott aktivitása összhangban van a szuperoxid felhalmozódásával és a liztharmat - rezisztenciával? Liztharmatrezisztens (‘Szentesi’, ‘Kalocsai A’, ‘Kalocsai M’, ‘Garai fehér’) és fogékony (‘Globál’, ‘Koral’) cseresznyepaprika alanyokra oltott ‘Totál’ étkezési paprikát liztharmattal (*L. taurica*) inokuláltunk. A fertőzetlen paprikáknál a NADPH-oxidáz aktivitása az oltott növények nagy részében csak kb. feleakkora volt, mint a Szentesi+Totál (oltott) esetében. 45 nappal a liztharmatos inokuláció után viszont az említett oltott növényekben a NADPH-oxidáz aktivitása közel 2,5-3-szorosára nőtt, megközelítve a Szentesi+Totál (oltott) mintákban mért értékeket. Ez a jelenség elsősorban a rezisztens oltványok (Kalocsai A+Totál , Kalocsai M+Totál, Garai fehér+Totál) esetében volt szembetűnő (24.

ábra). Feltételezhető, hogy a ‘Kalocsai A’, ‘Kalocsai M’ és ‘Garai fehér’ által biztosított lisztharmat - ellenállóság azért kevésbé hatékony, mint a ‘Szentesi’ rezisztenciája (ld. **1. táblázat**), mert az egészséges növényekben is eleve jóval kisebb a NADPH-oxidáz aktivitása.



24. ábra: Fertőzetlen és paprikalisztharmattal (*Leveillula taurica*) fertőzött, különböző cseresznyepaprika - alanyokra oltott étkezési paprika (cv. Totál) NADPH-oxidáz enzimaktivitása. ‘Szentesi’, ‘Totál’: saját gyökerű növények; Szentesi+Totál, Kalocsai A+Totál, stb.: oltott növények. A fertőzött növényekben a NADPH-oxidáz aktivitását a lisztharmatos inokuláció után 45 nappal mértük.

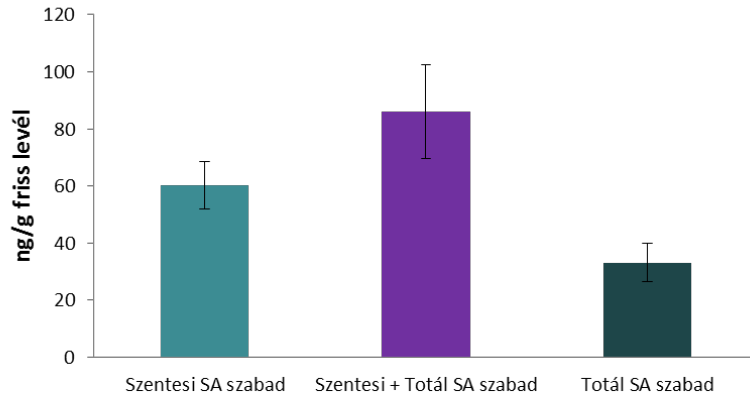
4.3.4. Védekezési folyamatok a ‘Szentesi’ cseresznyepaprika oltással átvihető lisztharmat - rezisztenciájában: szalicilsav - felhalmozódás és spontán sejtelhalások

Növényekben a ROS - termelés szorosan összefügg egy védekezésben (betegségrezisztenciában) szerepet játszó hormon, a szalicilsav (SA) termelésével (Chen et al., 1993; Neuenschwander et al., 1995). Mivel eredményeink szerint a lisztharmat-ellenálló ‘Szentesi’ cseresznyepaprikában már fertőzés nélkül is nagy a szuperoxid szintje,

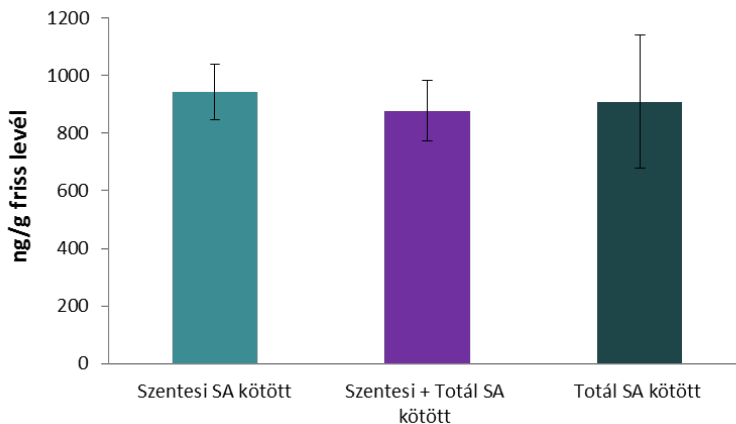
kíváncsiak voltunk, van-e összefüggés egy ROS, a szuperoxid, és a SA termelése között?

Fertőtlen paprikanövények leveleiben mértük a SA szabad és kötött (glikozilált) formájának mennyiségét nagyteljesítményű folyadékkromatográfiával (HPLC). A liztharmatrezisztens növények leveleiben (saját gyökerű ‘Szentesi’ és oltott Szentesi+Totál) a szabad SA szintje kb. kétszer akkora volt, mint a fogékony saját gyökerű ‘Totál’ egyedekben. Ugyanakkor nem tapasztaltunk különbséget a kötött SA mennyiségében; ez lényegében ugyanakkora volt mind a liztharmatrezisztens, mind a fogékony paprikákban (**25. ábra**).

Szabad szalicilsav – tartalom



Kötött szalicilsav – tartalom

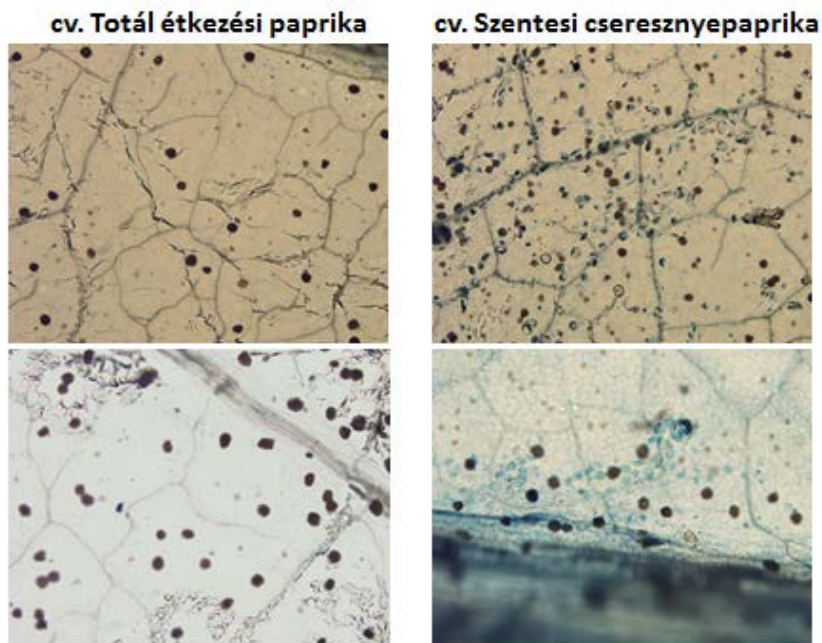


25. ábra: A ‘Szentesi’ cseresznyepaprika (*Capsicum. annuum* var. *cerasiforme* cv. Szentesi) lisztharmattal (*Leveillula taurica*) szembeni, oltással átvihető rezisztenciájának markere a szalicilsav felhalmozódása fertőzetlen növényekben. Szabad és kötött szalicilsav (SA) lisztharmatrezisztens (saját gyökerű cv. Szentesi és oltott Szentesi+Totál) és fogékony (saját gyökerű cv. Totál) paprika leveleiben.

Ismert, hogy kétszikű növényekben a nagy szalicilsav -, és ROS - tartalom oly módon járul hozzá a szerzett betegségrezisztenciához, hogy az „érzékenyített” szövetekben ún. mikroléziókat („mikro-HR”), azaz egy-egy növényi sejt spontán elhalását idézi elő (Alvarez et al., 1998; Alvarez, 2000). Mivel a lisztharmat-ellenálló ‘Szentesi’

cseresznyepaprikában már fertőzés nélkül is nagy a szuperoxid és a szabad szalicilsav szintje, kíváncsiak voltunk, hogy ez együtt jár-e a fokozott mértékű spontán sejtelhalással?

Fertőzetlen paprikanövények leveleit festettük Tripán - kék festékkel, amely növényekben specifikusan az elhalt sejteket festi meg. A liztharmatrezisztens paprikák (saját gyökerű ‘Szentesi’) leveleiben a spontán sejtelhalás mértéke (sűrűsége) jóval intenzívebb volt, mint a fogékony saját gyökerű ‘Totál’ egyedekben, és a sejtelhalás elsősorban az erek környékén volt nyilvánvaló (**26. ábra**). A ‘Szentesi’ levelekben a fokozott spontán sejtelhalással párhuzamosan sűrűn előforduló, szintén az erek mentén koncentrálandó barna foltok feltételezhetően a nagy kalciumtartalom miatt (Lantos, 2011) az egyes sejtek vakuólumaiban felhalmozódó kalcium-oxalát kristályok jelenlétére utalnak (lásd Weryszko-Chmielewska és Michałojć, 2009) (**26. ábra**).



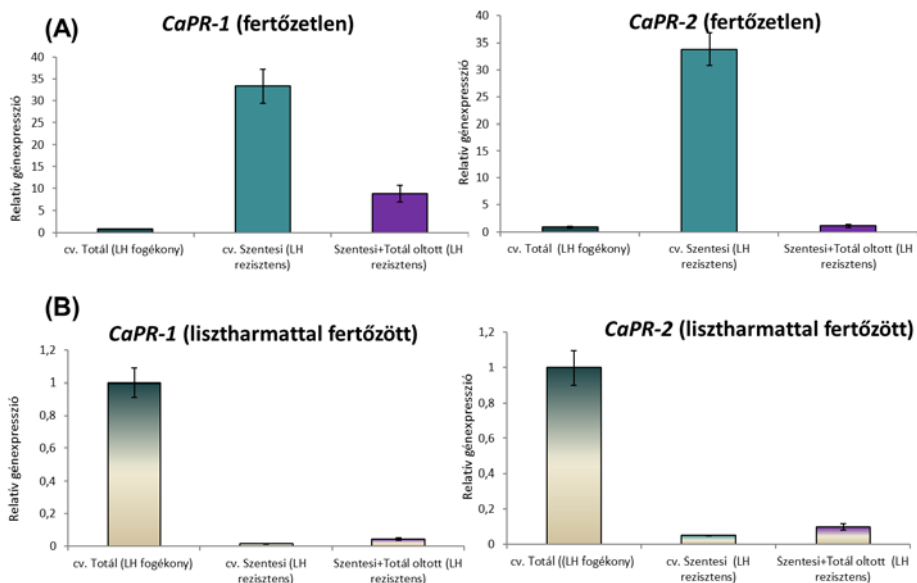
26. ábra: A ‘Szentesi’ cseresznyepaprika (*Capsicum. annum* var. *cerasiforme* cv. Szentesi) lizstarmattal (*Leveillula taurica*) szembeni, oltással átvihető rezisztenciájának potenciális markere a fokozott mértékű spontán sejtelhalás a fertőzetlen növények leveleiben. Spontán sejtelhalás lizstarmatrezisztens (saját gyökerű cv. Szentesi) és fogékony (saját gyökerű cv. Totál) paprika leveleiben. Az elhalt sejteket Tripán kék-festéssel hívtuk elő. A sötétbarna foltok feltételezhetően az egyes sejtek vakuólumaiban felhalmozódó kalcium-oxalát kristályok jelenlétére utalnak (lásd Weryszko-Chmielewska és Michalojć,2009).

4.3.5. Védekezési folyamatok a ‘Szentesi’ cseresznyepaprika oltással átvihető lizstarmat - rezisztenciájában: patogenezissel kapcsolatos és sejthalált szabályozó gének kifejeződése

A növényben fertőzések nyomán termelt szuperoxid hidrogén-peroxiddá alakulva, a szalicilsavval együtt többek között az ún. patogenezissel kapcsolatos (PR) védekezési géneket/fehérjéket is aktiválja, amely végső soron további védekezési folyamatokat és betegségrezisztenciát indukálhat (Van Loon et al., 2006; Torres, 2010; Lehmann et al., 2015). A paprika PR-1 és PR-2 génje/fehérjéje (*CaPR-1*, *CaPR-2*) szerepet

játszik egyes baktérium- és oomicéta kórokozókkal szembeni ellenálló képességben (Sarowar et al., 2005; Silvar et al., 2008).

Fertőzetlen és lisztharmat fertőzött (45 nappal az inokuláció után, 45 DPI) paprikákban követtük nyomon két PR gén, a *CaPR-1* és *CaPR-2* expresszióját. Fertőzetlen növényekben a *CaPR-1* expressziója a lisztharmat - ellenálló paprikákban többszörösen nagyobb volt, mint a fogékony ‘Totál’ étkezési paprikában. Ugyanakkor a *CaPR-1* kifejeződése a saját gyökerű ‘Szentesi’ cseresznyepaprikában volt messze a legnagyobb, és ennél jóval kisebb expressziót mértünk a szintén lisztharmatrezisztens Szentesi’ cseresznyepaprikára oltott ‘Totál’ étkezési paprikákban (oltott Szentesi+Totál). A *CaPR-2* fokozott expressziója viszont csak részben korrelált a rezisztenciával, mivel csak a saját gyökerű ‘Szentesi’ cseresznyepaprikában volt detektálható, de az oltott Szentesi+Totál és saját gyökerű ‘Totál’ étkezési paprikában nem (**27A. ábra**). Érdekes, hogy a lisztharmattal fertőzött (45 DPI) paprikákban a PR génexpressziós mintázat pont fordított volt, mint a fertőzetlen növényekben, mivel a saját gyökerű ‘Totál’ paprikában a rendkívül nagy *CaPR-1* és *CaPR-2* expresszió a lisztharmat - fogékonysággal korrelált, míg a rezisztens növényekben (saját gyökerű ‘Szentesi’ és oltott Szentesi+Totál) alig volt kimutatható PR gén expressziója (**27B. ábra**).

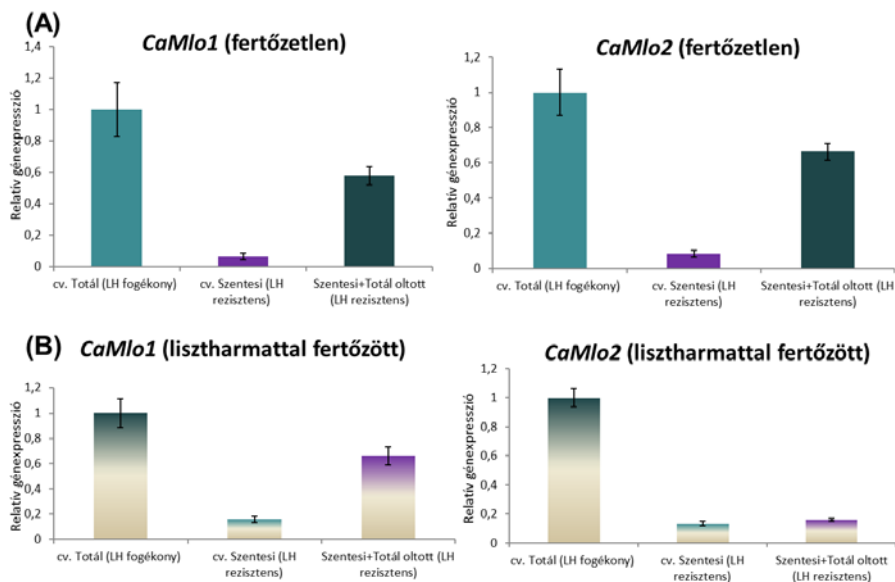


27. ábra: A ‘Szentesi’ cseresznyepaprika (*Capsicum. annuum* var. *cerasiforme* cv. Szentesi) lisztharmattal (*Leveillula taurica*) szembeni, oltással átvihető rezisztenciájának markere a *CaPR-1* és *CaPR-2* gén fokozott expressziója a fertőzetlen növényekben (A), de nem a lisztharmattal fertőzött paprikában (45 nappal az inokuláció után) (B). Saját gyökerű cv. Szentesi és Szentesi+Totál oltott: lisztharmatrezisztens paprika; saját gyökerű cv. Totál: lisztharmatfogékony paprika. A géneexpressziót kvantitatív RT-PCR-rel követtük nyomon (relatív géneexpresszió). A génkifejeződés normalizálásához egy paprika-aktin gén (*CaAct*) expresszióját használtuk.

Mivel a lisztharmat-ellenálló ‘Szentesi’ cseresznyepaprika leveleiben már fertőzés nélkül is a szokásosnál jóval intenzívebb (sűrűbb) a spontán sejtelhalások mértéke, elképzelhető, hogy ebben a makroszkopikusan tünetmentes lisztharmat - ellenállóságban szerepet játszik a sejtelhalást szabályozó *Mlo* gén(ek) csökkent működése is, hasonlóan pl. a lisztharmatrezisztens *mlo* mutáns árpavonalakhoz, amelyeket szintén nagymértékű spontán sejtelhalás jellemez (Wolter et al., 1993; Büschges et al., 1997).

Fertőzetlen és lisztharmat fertőzött (45 nappal az inokuláció után, 45 DPI) paprikákban követtük nyomon a két ismert *Mlo* gén, a *CaMlo1* és *CaMlo2* (Zheng et al., 2013a) expresszióját. Fertőzetlen növényekben a két gén expressziója a lisztharmat ellenálló paprikákban jóval kisebb

volt, mint a fogékony ‘Totál’ étkezési paprikában, azonban a saját gyökerű ‘Szentesi’ cseresznyepaprikában volt messze a legkisebb, ennél nagyobb (de a ‘Totál’-ban mérténél kisebb) expressziót mértünk a szintén lisztharmatrezisztens Szentesi’ cseresznyepaprikára oltott ‘Totál’ étkezési paprikákban (oltott Szentesi+Totál) (28A. ábra). A lisztharmattal fertőzött (45 DPI) növényekben a két *Mlo* gén expressziós mintázata lényegében nem változott, kivéve az *CaMlo2* gént, ahol az expresszió mindkét rezisztens paprikában (saját gyökerű ‘Szentesi’ és oltott Szentesi+Totál) a fogékony ‘Totál’-hoz képest igen alacsony szintre esett vissza (28B. ábra). Ezek szerint paprikában az *Mlo* gének expressziója fordított arányban áll a lisztharmat rezisztenciával és ez elsősorban a *CaMlo2* génnél szembetűnő.



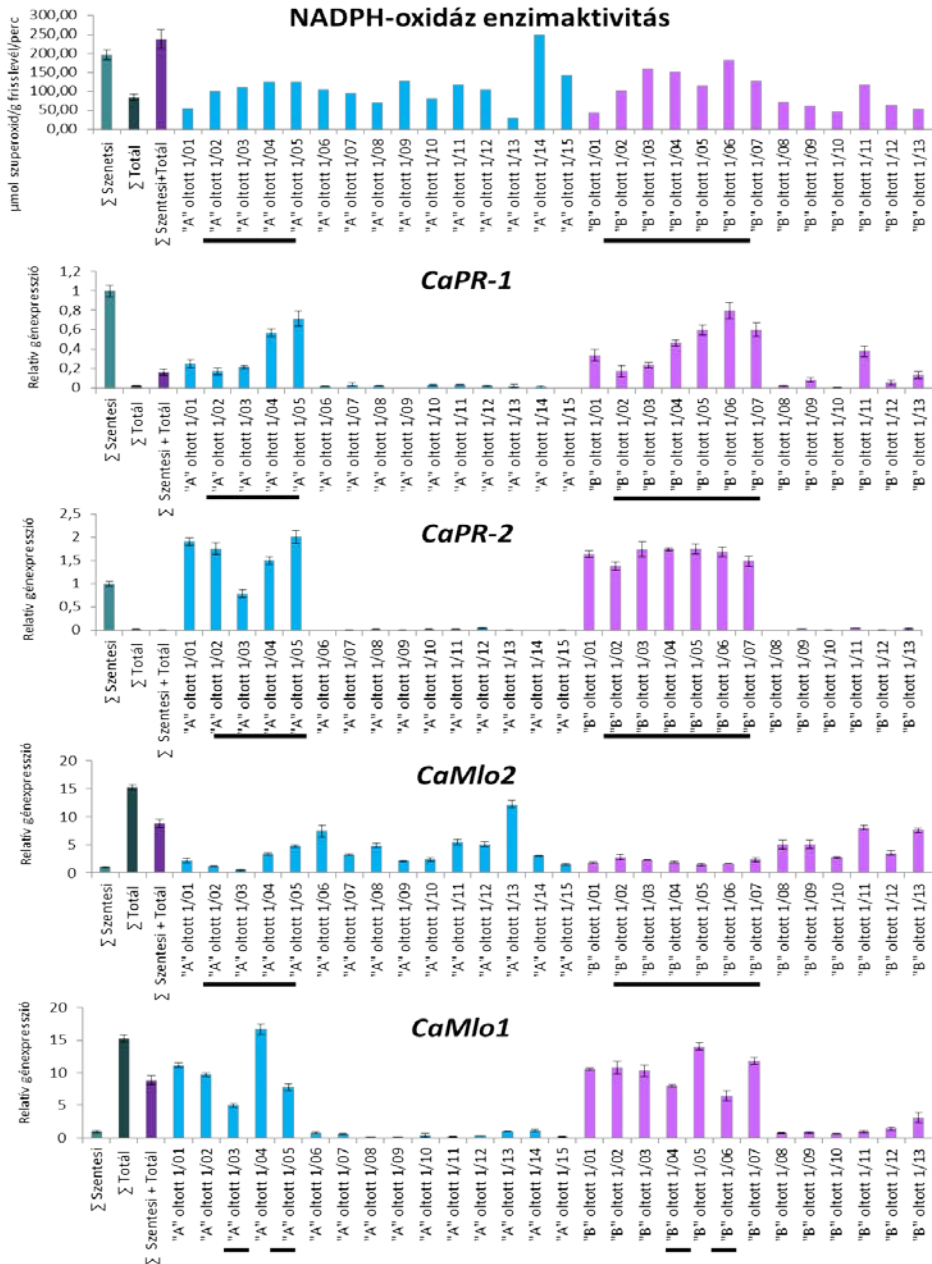
28. ábra: A ‘Szentesi’ cseresznyepaprika (*Capsicum. annuum* var. *cerasiforme* cv. Szentesi) lisztharmattal (*Leveillula taurica*) szembeni, oltással átvihető rezisztenciájának markere a *CaMlo1* és *CaMlo2* gén csökkent mértékű expressziója a fertőzetlen növényekben (A) és a lisztharmattal fertőzött paprikában (45 nappal az inokuláció után) (B). Saját gyökerű cv. Szentesi és Szentesi+Totál oltott: lisztharmatrezisztens paprika; saját gyökerű cv. Totál: lisztharmatfogékony paprika. A génextpressziót kvantitatív RT-PCR-rel követtük nyomon (relatív génextpresszió). A génkifejeződés normalizálásához egy paprika-aktin gén (*CaAct*) expresszióját használtuk.

4.3.6. Az oltással átvihető lizstharmanat - rezisztencia biokémiai markereinek öröklődése paprikában, az oltott rezisztens növények utódaiban

Eredményeink szerint egy paprikalizstharmanatra (*Leveillula taurica*) fogékony étkezési paprikafajta (cv. Totál) betegség-ellenállóvá válik, ha egy rezisztens cseresznyepaprika alanyra (cv. Szentesi) oltjuk. Az oltással átvihető lizstharmanat - rezisztencia biokémiai markerei paprikában pl. a NADPH-oxidáz-enzimaktivitása, ill. az általa termelt szuperoxid felhalmozódása, valamint egyes patogenezissel kapcsolatos (*PR*) és sejtelhalást szabályozó (*Mlo*) gének fokozott, ill. csökkent mértékű kifejeződése.

Kérdés, hogy a szuperoxid - felhalmozódáshoz kapcsolódó génextpressziós, ill. enzimaktivitás - változások mint rezisztencia markerek öröklődnek-e a lizstharmanatrezisztens, oltott paprikák utódaiban? A rezisztencia markerek öröklődésének vizsgálatához 1-1 oltott, rezisztens növény utódaiban (15, ill. 13 db, összesen 28 utódnövény) mértük a NADPH oxidáz enzimaktivitást, ill. az említett gének expresszióját. Az utóegyedek legalább felében megnyilvánultak az említett rezisztenciamarkerek. Az öt marker közül négy (fokozott NADPH-oxidáz-aktivitás, fokozott *CaPR-1* és *CaPR-2* génextpresszió, alacsony *CaMlo2* expresszió) feltehetően kapcsolatosan öröklődik, ugyanis nagyrészt ugyanazokban az utóegyedekben (10 db növény) fordult elő. A négy markert kifejező 10 utód közül 4 növényben viszont valamennyi marker, tehát az alacsony *CaMlo1* expresszió is megnyilvánult (**29. ábra**). Ezek szerint paprikában az oltással átvihető lizstharmanat -

rezisztenciával összefüggő biokémiai markerek nagy része az oltott, rezisztens növények utódaiban jól kimutathatóan öröklődik.

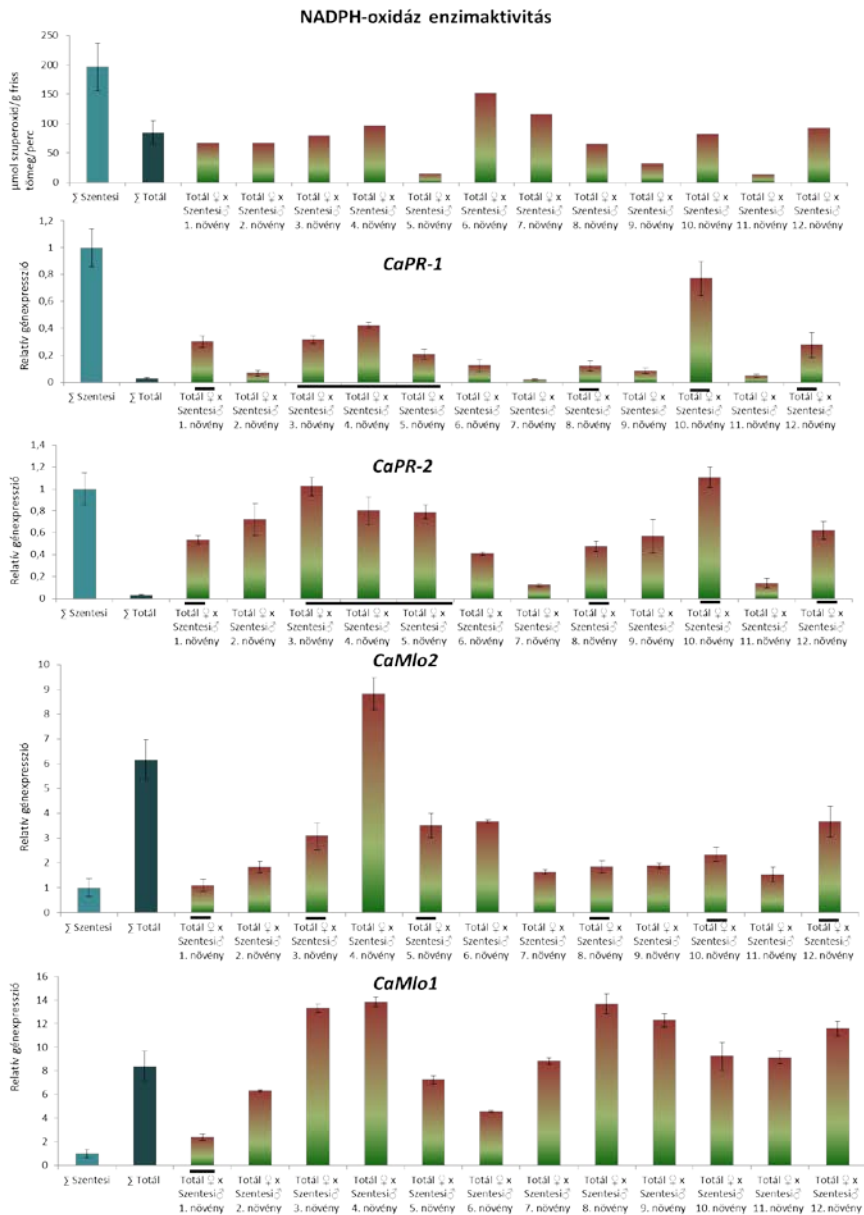


29. ábra: A 'Szentesi' cseresznyepaprika (*Capsicum. annum* var. *cerasiforme* cv. Szentesi) oltással átvihető lisztharmat (*Leveillula taurica*) rezisztenciája biokémiai markereinek (fokozott NADPH-oxidáz aktivitás, fokozott *CaPR-1* és *CaPR-2*, ill. alacsony *CaMlo1* és *CaMlo2* géneexpresszió) öröklődése az oltott rezisztens növények utódaiban („A” oltott növény: 15 utódegyed; „B” oltott növény: 13 utódegyed). A fekete vonallal jelölt utódnövényekben négy, ill. mind az öt marker megnyilvánul. Saját gyökérű 'Szentesi' és Szentesi+Total

oltott: liztharmatrezisztens paprika; saját gyökerű 'Totál': liztharmatfogékony paprika. A génkifejeződés normalizálásához egy paprika-aktinén (*CaAct*) expresszióját használtuk.

4.3.7. Az oltással átvihető liztharmat - rezisztencia biokémiai markereinek öröklődése paprikában, a keresztezett saját gyökerű rezisztens és fogékony növények utódaiban

Kíváncsiak voltunk arra is, hogy a fent említett öt biokémiai rezisztencia marker öröklődik-e egy liztharmatrezisztens, ill. -fogékony saját gyökerű paprika keresztezéséből származó utódokban? A rezisztenciamarkerek öröklődésének vizsgálatához a liztharmatrezisztens, saját gyökerű 'Szentesi' cseresznyepaprikát kereszteztük a fogékony 'Totál' étkezési paprikával [Totál (♀) x Szentesi (♂)]. Az F_1 utódnemzedék 12 egyedében követtük a markerek megnyilvánulását. Az F_1 egyedek legalább felében megnyilvánultak a rezisztenciamarkerek, kivéve a fokozott NADPH-oxidáz aktivitást és az alacsony *CaMlo1* expressziót, amely csak az utódok kisebb részében (2/12, ill. 3/12 db F_1 növény) jelent meg. Az öt marker közül három (fokozott *CaPR-1* és *CaPR-2* génexpresszió, alacsony *CaMlo2* expresszió) feltehetően kapcsolatosan öröklődik, ugyanis nagyrészt ugyanazokban az utódegyedekben (6 F_1 növény) fordult elő (**30. ábra**). Ezek szerint paprikában az oltással átvihető liztharmat - rezisztenciával összefüggő biokémiai markerek nagy része a keresztezett saját gyökerű rezisztens és fogékony növények F_1 utódaiban jól kimutathatóan öröklődik.



30. ábra: A ‘Szentesi’ cseresznyepaprika (*Capsicum annuum* var. *cerasiforme* cv. Szentesi) oltással átvihető lisztharmat (*Leveillula taurica*) - rezisztenciája biokémiai markereinek (fokozott NADPH-oxidáz-aktivitás, fokozott *CaPR-1* és *CaPR-2*, ill. alacsony *CaMlo1* és *CaMlo2* génexpresszió) öröklődése a keresztezett saját gyökerű fogékony és rezisztens növények F_1 utódaiban [Total (♀) x Szentesi (♂)]. A fekete vonallal jelölt utódnövényekben két, három, ill. négy marker is megnyilvánul. Saját gyökerű ‘Szentesi’: lisztharmatrezisztens paprika; saját gyökerű ‘Total’: lisztharmat fogékony paprika. A génkifejeződés normalizálásához egy paprika -aktin gén (*CaAct*) expresszióját használtuk.

5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

Kimutattuk, hogy a szuperoxid ($O_2^{\cdot-}$) egy, a vírusrezisztenciában szerepet játszó reaktív oxigénfajta (ROS), amely a tünetmentes, ún. extrém rezisztenciát (ER) mutató dohányban (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun *NN Rx1*) a burgonya X vírus (*Potato virus X*, PVX) fertőzése utáni korai időpontokban (a fertőzés után 6 órán belül) halmozódik fel nagyobb mértékben. A PVX mennyisége csak ezt követően csökken jelentősebben. Ezek szerint az ER során a szuperoxid közvetlenül hozzájárulhat a fertőző vírus (PVX) gátlásához.

A ROS, ezen belül a szuperoxid vírusrezisztenciában játszott szerepe régóta ismert. A dohány mozaik vírusnak (*Tobacco mosaic virus*, TMV) ellenálló dohányban (*NN* genotípus) a rezisztenciát nemcsak HR típusú, lokális nekrotikus léziók kísérik, hanem a szuperoxid NADPH- és kalciumfüggő, membránfrakcióhoz kötött felhalmozódása is megfigyelhető a fertőzött levelekben (Doke és Ohashi, 1988). Ha az *N* rezisztenciagént kifejező dohány (*NN*) egy NADPH-oxidázt szabályozó fehérjének (Rac1) a hibás (mutáns) formáját termeli túl, a TMV által okozott HR késve jelenik meg, a lokális nekrotikus léziók kisebbek lesznek és szignifikánsan kevesebb ROS (szuperoxid és hidrogénperoxid) termelődik (Moeder et al., 2005). Feltételezhető, hogy ezekben a ROS - hiányos növényekben sérül a TMV - rezisztencia, tehát a vírus felhalmozódása is fokozott mértékű. Ezt igazolja, hogy viszonylag magas hőmérsékleten (30 °C) nemcsak a TMV-vel szembeni, *N* gén által irányított HR-típusú rezisztencia sérül, hanem a NADPH-függő szuperoxid termelése is visszaszorul, ezzel párhuzamosan pedig csökken

a NADPH-oxidáz aktivitása, valamint egy dohány NADPH-oxidáz-gén (*NtRBOHD*) expressziója (Király et al., 2008). Ezek az eredmények rámutatnak arra, hogy a ROS, elsősorban a szuperoxid, lényeges szerepet játszik mind a hiperszenzitív lokális nekrozis (HR), mind a vírusrezisztencia kialakításában. Bizonyos esetekben viszont a kórokozók, ill. elicitoraik ROS (szuperoxid és hidrogén-peroxid) - felhalmozódást válthatnak ki a rezisztens növényben HR nélkül is (Glazener et al., 1996; Jabs et al., 1997). A szuperoxid vírusrezisztenciában betöltött közvetlen funkciójára (a kórokozó gátlására) mutat rá Shang et al. (2010) munkája. Eszerint az uborka mozaik vírussal (*Cucumber mosaic virus*, CMV) szisztemikusan fertőzött, mozaikos levelek ún. zöld szigeteiben a vírus hiánya jól korrelál a szuperoxid felhalmozódásával. Ezek szerint a HR típusú sejt- és szövetelhalás nem mindig szükséges a ROS által indukált növényi védekezési (rezisztencia -) válaszokhoz. Az oxidatív robbanásnak tehát a makroszkopikusan tünetmentes (HR nélküli), pl. az ún. extrém vírusrezisztenciában (ER) is lehet szerepe, ahogy azt Bendahmane és munkatársai (1999) eredetileg felvetették. Erre utal az az eredményünk, hogy az *Rx1* gén által meghatározott, PVX elleni ER-nél a szuperoxid - felhalmozódás megelőzi a PVX titerének csökkenését.

A PVX-szel fertőzött „Rx” dohányban antioxidánsal való kezelések (szuperoxid-dizmutáz és kataláz) hatására részlegesen megtörik az ER: a vírusfertőzés után a levelek kb. felében szabad szemmel látható, HR-re emlékeztető tünetek alakulnak ki, és a PVX mennyisége is jelentősen megnő. Hasonló eredményt kaptunk, ha az „Rx” dohányvonalat egy lucerna ferritin gént túltermelő dohánynövényekkel kereszteztük. A

ferritin hatására az egyik leginkább reakcióképes ROS, a hidroxilgyök (OH \cdot) termelése gátolt, ugyanis ez a fehérje megköti az OH \cdot termeléséhez szükséges szabad vasat (Fe $^{2+}$) (Deák et al., 1999). Feltételezhető tehát, hogy az *Rx1* gén által meghatározott, PVX elleni ER kialakulásához a szuperoxid mellett más ROS, pl. a hidroxilgyök is hozzájárulhat.

A szuperoxid felhalmozódásának az *Rx1* gén által irányított, PVX elleni ER-ben játszott szerepére mutat rá az az eredményünk, hogy PVX - fogékony dohányban (cv. Samsun *NN*) egy szuperoxidképző ágenssel (riboflavin/metionin) történő kezelés mérsékeli a fogékonyságot, azaz a fogékony dohányban részleges rezisztencia alakul ki a PVX fertőzésével szemben. Ilyenkor szabad szemmel látható, HR-re emlékeztető tünetek jelennek meg, és a vírusszint szignifikánsan alacsonyabb a kezeletlen növényekéhez képest. A szuperoxidszint mesterséges növelése tehát dohányban nem képes tünetmentes ER-t előidézni, de a lokális nekروزissal járó, HR típusú rezisztenciát igen, amely részben képes gátolni a PVX replikációját.

Több adat utal arra, hogy a fertőzés utáni korai időpontokban (pár órával) kialakuló *in planta* ROS - felhalmozódás és általában a korai védekezés fontos tényezője lehet a gyors, tünetmentes rezisztenciának pl. vírusfertőzéseknél is. Szuperoxidot és hidrogén-peroxidot képző ágensek növénybe juttatása az inokuláció után 2 órával fogékony dohányban tünetmentes rezisztenciát indukál TMV-vel szemben, míg a vírusfertőzés után 3 nappal történő ROS - kezelések nem váltanak ki TMV - rezisztenciát, csak HR típusú sejt- és szövetelhalást (Király et al., 2008; Bacsó et al., 2011). Az *Rx1* gént hordozó, PVX-re extrém rezisztens dohányban a PVX - köpenyfehérje (a vírus effektora) folyamatos

túltermeltetése HR típusú tüneteket (lokális nekrozis) okoz (Bendahmane et al., 1999). Ezek szerint az Rx1 fehérje által a PVX ellen biztosított ER (vírusgátlás) annyira gyors, hogy a PVX - köpenyfehérje nem képes olyan mennyiségben felhalmozódni, hogy HR-t váltson ki. Hasonló modellel magyarázható a *HRT* gén által a tarlórépa göndörödés vírus (*Turnip crinkle virus*, TCV) ellen *Arabidopsis thaliana*-ban biztosított rezisztencia mechanizmusa is. A *HRT* gént hordozó növények a TCV fertőzésére HR-rel reagálnak, de a *HRT* gént túltermelő transzgenikus *A. thaliana* nem HR-t, hanem tünetmentes extrém rezisztenciát alakít ki a TCV-re (Cooley et al., 2000). A tünetmentes (HR nélküli) és rendkívül gyors ER egyik lehetséges biokémiai mechanizmusa a kórokozó behatolásának helyén felhalmozódó ROS közvetlen antivirális hatása lehet (Bendahmane et al., 1999). Ezt támasztja alá a mesterségesen megnövelt növényi ROS koncentráció tünetmentes TMV - rezisztenciát előidéző hatása is (Bacsó et al., 2011).

A PVX-szel szembeni tünetmentes (ER) és a TMV-vel szembeni HR típusú vírusrezisztenciát ugyanabban a dohány genotípusban (*N. tabacum* cv. Samsun *NN Rx1*) összehasonlítva kimutattuk, hogy az ER már a PVX fertőzése utáni 6. órától (a O_2^- felhalmozódást követően) kialakul, míg a HR során a vírusszint (TMV) a nekrotikus léziók megjelenésével (fertőzés utáni 2. nap) még emelkedik és kb. egy nagyságrenddel magasabb, mint ER-nél a PVX szintje. Bendahmane és munkatársai (1999) igazolták, hogy az Rx1 fehérje által a PVX ellen biztosított ER (vírusgátlás) annyira gyors, hogy a PVX köpenyfehérjéje nem képes olyan mennyiségben felhalmozódni, hogy HR-t váltson ki. Ezek szerint a HR a tünetmentes ER lassabban kialakuló, kevésbé hatékony formájának

tekinthető, amit a következő kísérlettel is bizonyítottak. Nevezetesen ha a PVX-szel szembeni tünetmentes ER-re, ill. TMV-vel szembeni HR-re is képes növényeket (*N. benthamiana NN Rx1*) olyan TMV konstrukcióval fertőzték, amely kifejezte a PVX köpenyfehérjéjét (effektorát) is, a fertőzés tünetmentes ER-t eredményezett a HR helyett (Bendahmane et al., 1999).

A HR-ben és az ER-ben tehát feltehetően hasonló védekezési folyamatok indukálódnak, csak a HR esetén a folyamat lassabb, ami lokális nekrotikus léziókat és magasabb vírusszintet eredményez. Kíváncsiak voltunk arra, hogyan változik egyes védekezési (részben az ún. patogenezissel kapcsolatos, PR) gének expressziója, valamint egyes nem enzimátikus és enzimátikus antioxidánsok mennyisége, ill. aktivitása e két vírusrezisztencia - mechanizmus (tünetmentes ER és lokális nekrozissal járó HR) során? Három, a növényi betegség- és stressz - rezisztenciában szerepet játszó védekezési gén (*NtPR-1a*, *NtPRB-1b* és *NtGSTphi1*) aktivitását vizsgálva azt tapasztaltuk, hogy a génexpresszió a tünetmentes ER (PVX-fertőzés) során kb. egy nagyságrenddel kisebb mértékben indukálódik, mint a HR típusú rezisztenciánál (TMV fertőzés). Liu et al. (2010) a PVX-szel fertőzött *Rx1* dohányban a vírusinokuláció után 1 nappal figyelte meg az *NtPR-1a* indukcióját, ez idáig az egyetlen adat egy ER-hez köthető növényi védekezési gén aktivitásáról. Az eredmények alapján az említett gének (*NtPR-1a*, *NtPRB-1b* és *NtGSTphi1*) elsősorban az oxidatív stressz, ill. nekrotizáció markerei, de szerepük lehet a HR-típusú rezisztenciában is. TMV - fertőzésnél az *NtPR-1a* elsősorban a HR (rezisztencia) során indukálódik (Ward et al., 1991; Delaney et al., 1994). A TMV által dohányban

kiváltott HR esetén viszont az *NtPR-1a* fokozott expressziója figyelhető meg akkor is, ha a HR-rezisztencia szulfátos-kezelés hatására erősödik, azaz nemcsak a lokális nekrosis, hanem a vírusreplikáció is visszaszorul. Ez pedig arra utal, hogy az *NtPR-1a* gén nemcsak a stressz- (nekrotikus tünet), hanem a vírus rezisztencia tényleges markere is lehet (Király et al., 2012b). Ezt igazolja, hogy a szulfát-kezelés rezisztenciát indukáló hatását az *NtPR-1a* fokozott expressziója kíséri kompatibilis (fogékonysággal járó) dohány-TMV kapcsolatban is (Höller et al., 2010). Az *NtPR-1a* esetén azonban nincs ok-okozati összefüggés a génexpresszió és a vírus - ellenállóság között, ugyanis a kérdéses PR-gént túltermelő dohánynövényekben a TMV-vel szembeni rezisztencia nem változott (Linthorst et al., 1989). Az *NtPRB-1b* szintén a PR-1 családba tartozó PR gén, fehérjetermékének szintézisét a sejtelhalással és öregedéssel – így a HR-típusú sejtelhalással is – összefüggésbe hozható növényi hormon, az etilén szabályozza (Eyal et al., 1992). Vírusfertőzés esetén az *NtPRB-1b* – az *NtPR-1a*-hoz hasonlóan – azonban nemcsak stressz-, hanem rezisztenciamarker is lehet, ugyanis a szulfátos-kezeléssel tovább fokozott, TMV-vel szembeni HR-típusú rezisztenciánál a *NtPRB-1b* expressziója is nőtt (Király et al., 2012b). Tünetmentes ER (PVX - fertőzés) esetén viszont a *NtPRB-1b* kifejeződése a rezisztenciát csak késve jelezheti, ugyanis eredményeink szerint az expresszió csak a PVX - inokuláció után 2 nappal fokozódik átmenetileg, míg az ER ennél jóval hamarabb kialakul. Egy glutation-S-transzferáz izoenzimet kódoló gén (*NtGSTphi1*) az általunk vizsgált mindkét rezisztencia (ER és HR) esetében elsősorban stresszmarkerként viselkedik, mivel a tünetmentes ER során a gén-indukció a HR-hez képest elhanyagolható mértékű. A

NtGSTphi1 fokozott mértékű expresszióját először nekrozissal járó kompatibilis gomba – növény kapcsolatokban fertőzéseknél írtak le (Dean et al., 2005). Dohány nekrozis vírussal (*Tobacco necrosis virus*, TNV) fertőzött *N. benthamiana*-ban az *NtGSTphi1* fokozott expressziója a vírusra és az általa okozott szisztemikus nekrozisra különösen fogékony növényekre volt jellemző (Király et al., 2012a).

A programozott sejthalál (PCD: programmed cell death) gátlásában szerepet játszó *BAX inhibitor-1* (*NtBI-1*) gén expressziója mindkét rezisztenciatípusnál (ER és HR) megnő, de a HR esetén a gén indukciója többszöröse a tünetmentes ER-nél mért értéknek. Az *NtBI-1* indukciója jól korrelál a HR-rel, ami azt jelzi, hogy a TMV fertőzésekor indukált HR-típusú lokális nekrozis kialakulásában fontos szerepe van a PCD-nek, amelyet a fertőzött növény – többek között a BI-1 fehérjék segítségével – szabályoz. Árpában a BI-1 túltermelés a nekrotrof *Fusarium graminearum* fertőzésekor fokozott mértékű rezisztenciát okoz, összhangban a PCD - gátló hatással (Babaeizad et al., 2009). Ugyanakkor pl. a biotróf árpalisztharmat (*Blumeria graminis* f. sp. *hordei*) fertőzésekor a BI-1 túltermelés fokozott fogékonyságot idéz elő (Hückelhoven et al., 2003; Eichmann et al., 2010). Érdekes, hogy az *NtBI-1* a tünetmentes (sejthalál nélküli) ER során kezdetben indukálódik, de a PVX fertőzése utáni 6. órától, amikor az ER lényegében már lezajlott, a génextpresszió stagnál, ill. csökken. Hasonló jelenséget tapasztaltunk árpában a búzalisztharmattal (*B. graminis* f. sp. *tritici*) szembeni tünetmentes nemgazda-rezisztencia során is (Künstler et al., 2018). Ezek szerint a BI-1 fehérjének a PCD gátlása mellett a rezisztenciában is közvetlen szerepe lehet. Kimutatták, hogy a búzának a

sárgarozsda kórokozójával (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) szembeni rezisztenciája (HR) a BI-1 termelés géncsendesítés általi gátlásával részleges fogékonysággá alakítható (Wang et al., 2012).

Az alternatív oxidázok csökkentik a ROS - szintet és a PCD-t, mivel a növényi mitokondriumokban és kloroplasztiszokban akadályozzák az elektrontranszport - láncok túlzott redukálódását biotikus stressz során is (Mizuno et al., 2005; Hanqing et al., 2010). A TMV - rezisztens dohányban (cv. Samsun *NV Rx1*) a HR-léziók megjelenésével együtt az *NtAOXI-2* gén kifejeződése jelentősen nőtt. Hasonló tendenciát a sejthalál nélküli ER során (PVX fertőzés) is megfigyeltünk, de ebben az esetben az ER kialakulása után az *NtAOXI-2* gén expressziója már erősen csökkent. A HR és ER során lényegében ugyanígy változott a hidrogén-peroxid-lebontás fontos antioxidáns enzimjét (kataláz) kódoló *NtCat1* gén kifejeződése is, ami a ROS extrém rezisztenciában játszott szerepére utalhat. Az *NtCat1* expresszióinak a HR-léziók kialakulását követő indukcióját korábban több vírus (TMV, TNV) fertőzése kapcsán is leírták (Dorey et al., 1998; Yi et al., 2003; Künstler et al., 2007).

Eredményeink szerint egy nem enzimatisz antioxidáns, a glutation mennyisége a TMV - inokuláció után 4 nappal (HR) jelentősen megemelkedik, míg PVX fertőzésénél (tünetmentes ER) nem változik. Lényegében hasonló trendet tapasztaltunk két, a glutation működésében szerepet játszó antioxidáns hatású enzim (glutation reduktáz, GR és glutation-S-transzferáz, GST) aktivitásában is. Kórokozó fertőzéseknél a glutation kétféle szerepet tölthet be. Antioxidáns hatása csökkentheti a fertőzések tüneteit, pl. a TMV által indukált HR-típusú lokális nekrozist (Farkas et al., 1960). TMV - rezisztens dohánynövényekben a HR

megjelenését követően a glutationszint mellett erősen emelkedik a GR és GST aktivitása is (Fodor et al., 1997). Egy másik vírus, a TNV fertőzésekor is a HR kialakulásához köthető a magas GST - aktivitás (Gullner et al., 1995). A glutation azonban jelátvivőként a betegségrezisztencia kialakításában is ténylegesen részt vehet. A gazdanövény glutation szintjének mesterséges növelése kémiai kezelésekkel nemcsak a vírushatás tüneteit, de a víruskoncentrációt is mérsékelte, kompatibilis és inkompatibilis (HR) növény - vírus kapcsolatokban egyaránt (Gullner et al., 1999; Zechmann et al., 2007; Höller et al., 2010; Király et al., 2012b). Mivel a PVX által indukált ER a vírushatást követő kb. 1 napon belül lezajlik, feltételezhető, hogy a szokásosnál nagyobb glutationszint a patogenezis e korai szakaszában hozzájárulhat az extrém rezisztencia kialakulásához. Ezt valószínűsíti, hogy egyes sejthalál-, ill. ROS - szabályozó gének (*NtBI-1*, *NtAOX1-2*, *NtCat1*) ER-hez köthető átmeneti indukcióját már a PVX fertőzés utáni 1. napon belül észleltük.

Eredményeink szerint a reaktív oxigénfajták (ROS), elsősorban a szuperoxid (O_2^-), hozzájárulhatnak a PVX-szel szembeni tünetmentes extrém rezisztenciához. Ugyanakkor a ROS tünetmentes extrém rezisztenciában játszott szerepe, ill. az ER kialakulásának pontos kórélettani mechanizmusa jelenleg nem ismert. Kimutatták, hogy ha az Rx1 fehérje kizárólag a sejtmagban halmozódik fel, sérül a PVX elleni ER, viszont ha az Rx1 csak a citoplazmában van jelen, a rezisztencia „túlvezérelt” lesz, mivel már egészséges növényekben is HR-szerű tünetek alakulnak ki (Slootweg et al., 2010; Tameling et al., 2010). Az Rx1 fehérjén belül az egyes domének (CC, NBS, LRR) közötti

interakciók, valamint az Rx1-nek egy transzkripciós faktorra (Glk1) kifejtett gátló hatása „kikapcsolt” állapotban tartják a rezisztenciát, míg PVX - fertőzés hatására a vírus effektora (köpenyfehérjeje) képes feloldani ezt a gátlást és beindítani az ER-t (Moffett et al., 2002; Townsend et al., 2018). A jövő kutatásai tisztázhatják, hogy az Rx1 fehérje által meghatározott extrém rezisztencia jelátvitelében mi a jelentősége az olyan ROS - molekuláknak, mint a szuperoxid (O_2^-)?

Kimutattuk, hogy a ‘Szentesi’ cseresznyepaprika (*Capsicum annuum* var. *cerasiforme* cv. Szentesi) oltással átvihető, tünetmentes (HR nélküli) lisztharmat - rezisztenciája kontrollált, laboratóriumi körülmények közötti mesterséges fertőzésnél is hatásos. A rezisztencia a ‘Szentesi’ alanyra oltott ‘Totál’ étkezési paprikában (Szentesi+Totál) is megnyilvánult. Lisztharmatokra hatásos, oltással átvihető rezisztenciát eddig csak uborkában dokumentáltak, ahol egyes esetekben az oltványok ellenállónak bizonyultak a *Podospaera xanthii* által okozott lisztharmatos tünetekkel szemben (Sakata et al., 2006). Kísérleteink során hasonló jelenséget tapasztaltunk egy Solanaceae növényben (paprika), ahol azonban nemcsak a lisztharmatos tünetek, de a kórokozó (*Leveillula taurica*) felhalmozódásának gátlását is sikerült kimutatnunk. A lisztharmatrezisztens paprikákban (saját gyökerű ‘Szentesi’ és oltott Szentesi+Totál) a szuperoxid (O_2^-) erőteljes felhalmozódását figyeltük meg, ami jól korrelált a növényi betegségrezisztenciával összefüggő szuperoxid - termelésért elsősorban felelős NADPH-oxidáz enzimaktivitásával. A lisztharmatfogékony ‘Totál’ étkezési paprika akkor is rezisztenssé vált és szuperoxidot termelt, ha a ‘Szentesi’ mellett más ellenálló cseresznyepaprika alanyokra (‘Kalocsai A’, ‘Kalocsai M’,

‘Garai fehér’) oltottuk. Kék fény hatására lizstarmattal (*P. xanthii*) szembeni tolerancia idézhető elő sárgadinnyében és ilyenkor már a fertőzetlen növényekben is megnő a védekezésben szerepet játszó másodlagos anyagcseretermékek (fenolok, flavonoidok, lignin) mellett a szuperoxid mennyisége is (Jing et al., 2018). A NADPH-oxidáz-függő szuperoxidtermelés lizstarmat - rezisztenciában játszott szerepére több korábbi eredmény is utal. El-Zahaby és munkatársai (2004) kimutatták, hogy árpalevelekben szuperoxidot képző ágensekkel történő kezelés hatására rezisztencia alakul ki az árpa lizstarmattal (*Blumeria graminis* f. sp. *hordei*) szemben. Az árpa saját lizstarmatával szembeni penetrációs (behatolási) rezisztenciájához nélkülözhetetlen egy NADPH-oxidáz-gén (*HvRBOHF2*) működése (Proels et al., 2010). Egy nemrég megjelent közleményünk szerint a NADPH-oxidáz függő szuperoxidtermelés az árpa búzalizstarmattal (*B. graminis* f. sp. *tritici*) szembeni, tünetmentes nemgazda-rezisztenciájában is fontos szerepet játszik. Ha ugyanis a szuperoxid felhalmozódást antioxidánsokkal, ill. hőkezeléssel csökkentjük, jelentősen sérül a rezisztencia (Künstler et al., 2018). A jelen munkában ismertetett, oltással átvihető paprika lizstarmatarezisztencia hasonlóan tünetmentes, mivel nem jár együtt HR-típusú lokális nekrotikus léziók kialakulásával. A NADPH-oxidáz-függő szuperoxidtermelés a baktériumos fertőzésekkel szembeni tünetmentes nemgazda-rezisztenciában is alapvető fontosságú. Így pl: *Arabidopsis thaliana*-ban a rezisztencia alapvetően egy NADPH-oxidáz-gén (*AtRBOHD*) működésén és a ROS (szuperoxid) felhalmozódáson múlik, amelyet hiszton-acetiltranszferáz (Elongator)-gének szabályoznak (An et al., 2017).

Eredményeink szerint a 'Szentesi' cseresznyepaprika oltással átvihető lisztharmat rezisztenciájában a NADPH-oxidáz függő szuperoxidtermelés mellett szerepet játszhat egy fontos növényi védekezési hormon, a szalicilsav (SA) felhalmozódása is. A lisztharmatrezisztens paprikák (saját gyökerű 'Szentesi' és oltott Szentesi+Totál) fertőzetlen leveleiben a szabad SA szintje kb. kétszer akkora volt, mint a fogékony saját gyökerű 'Totál' egyedekben. A SA növényi betegségrezisztenciában betöltött funkcióját olyan transzgenikus növények (*N. tabacum* és *A. thaliana*) segítségével igazolták, amelyek nem képesek az SA szintézisére, ill. felhalmozására (Gaffney et al., 1993; Delaney et al., 1994; Wildermuth et al., 2001). Az is ismert, hogy SA-t túltermelő transzgenikus vagy interspecifikus hibrid növényekben fokozódik az ellenálló képesség egyes vírusokkal és gombákkal szemben (Verberne et al., 2000; Cole et al., 2004).

Érdekes módon a SA kötött (glükózidos) formájának mennyiségében nem mutatkozott különbség a lisztharmatrezisztens és -fogékony paprikák között, ami azt sugallja, hogy a kötött SA közvetlenül nem felelős a paprika lisztharmatos fertőzéssel szembeni védekezéséért. Hangsúlyozandó viszont, hogy növényekben a SA elsősorban kötött formában raktározódik és a kötött SA hidrolízise a paprikához rendszertanilag közeli dohányban (*N. tabacum*) akár 2 óra alatt is végbemehet (Hennig et al., 1993; Vlot et al., 2009). Igazolták továbbá, hogy a kötött SA hidrolízise aktívan hozzájárul a kórokozóval szembeni rezisztenciához pl. vírussal (TMV) fertőzött dohányban. A transzgenikus dohánynövények által túltermelt SA-glükozidáz enzim ugyanis növelte a szabad SA mennyiségét, ugyanakkor gátolta a vírus sejtről-sejtre

terjedését (kisebb HR-léziók alakultak ki) (Yao et al., 2007). A fentiek alapján feltételezhető, hogy a kötött SA a ‘Szentesi’ cseresznyepaprikában is hozzájárulhat a fokozott liztharmat - rezisztenciához.

A liztharmatrezisztens ‘Szentesi’ cseresznyepaprika fertőzetlen leveleiben a főleg az erek környékén kialakuló spontán sejtelhalás mértéke is jóval intenzívebb volt, mint a liztharmatra fogékony ‘Totál’ egyedekben. Kétszikű növényekben a nagy szalicilsav- és ROS-tartalom úgy járulhat hozzá a szerzett betegségrezisztenciához, hogy az „érzékenyített” szövetekben ún. mikroléziókat („mikro-HR”), azaz egy-egy növényi sejt spontán elhalását idézi elő (Alvarez et al., 1998; Alvarez, 2000). Mivel a liztharmat-ellenálló ‘Szentesi’ cseresznyepaprikában már fertőzés nélkül is nagy a szuperoxid és a szabad szalicilsav szintje, így várható volt, hogy az egészséges levélszövetekben a spontán sejtelhalás is fokozott mértékű. Érdekes módon a ‘Szentesi’ levelekben az erek mentén koncentrálódó barna foltok sűrűsége is jóval nagyobb volt, ami a nagy kalciumtartalom miatt (Lantos, 2011) az egyes sejtek vakuólumaiban felhalmozódó kalcium-oxalát-kristályok jelenlétére utalhat. Kalcium-tartalmú levéltrágya-készítményekkel kezelt étkezési paprika leveleiben jelentős mértékű barna foltokként észlelhető kalcium-oxalát-kristályok felhalmozódása, elsősorban a mezofill sejtekben (Weryszko-Chmielewska és Michałojć, 2009). Kalciummal előkezelt szójában a fokozott ROS (szuperoxid, hidrogén-peroxid, hidroxil gyök)-felhalmozódással együtt nőtt a *Sclerotinia sclerotiorum* fertőzésével szembeni tolerancia is (Arfaoui et al., 2018). Ezek szerint a kalcium fokozhatja a növények ROS

felhalmozódását is. A rezisztenciában fontos, szuperoxidtermelésért felelős egyik NADPH-oxidáz (RBOHD) aktivitását a kalcium (Ca^{2+}) részben közvetlenül szabályozza, az ún. EF fehérjemotívumokhoz való kötődéssel, a közvetett szabályozást a Ca^{2+} -függő kinázok végzik, a NADPH-oxidáz foszforilálása révén (lásd pl. Kadota et al., 2015). Lúdfüben (*A. thaliana*) egy Ca^{2+} -függő kináz (CPK5) már a kórokozó baktérium (*Pseudomonas syringae* pv. tomato DC3000) sejtalkomponenseinek hatására is aktiválódik és foszforilálja az RBOHD fehérjét, amely a szuperoxid és szalicilsav felhalmozódását és a baktériumos fertőzéssel szemben rezisztenciát eredményez (Dubiella et al., 2013).

Fertőzetlen, lisztharmatellenálló paprikákban (saját gyökerű ‘Szentesi’ és oltott Szentesi+Totál) egy patogenezissel kapcsolatos gén (*CaPR-1*) expressziója a rezisztencia markere, míg a *CaPR-2* fokozott expressziója csak a saját gyökerű ‘Szentesi’ cseresznyepaprikában detektálható. Az *in planta* termelt szuperoxid hidrogén-peroxiddá alakulva többek között a PR géneket/fehérjéket is aktiválhatja, amely végső soron további védekezési reakciókhoz és kórokozó rezisztenciához vezet (ld. pl. Van Loon et al., 2006; Torres, 2010; Lehmann et al., 2015). A *CaPR-1* gén egy bázikus PR-1 fehérjét kódol és paprikában fokozottan expresszálódik a *Phytophthora capsici* oomicéta fertőzésével szembeni rezisztencia során (Silvar et al., 2008). A *CaPR-1* túltermeltetése dohányban fokozza az oomicétás és baktériumos fertőzésekkel szembeni toleranciát (Sarowar et al., 2005). A *PR-1* gének az árpa lisztharmattal (*B. graminis* f. sp. *hordei*) szembeni penetrációs rezisztenciájához is hozzájárulhatnak; ezt az árpa epidermiszsejtjeiben a *PR-1b* gén csendesítésével igazolták

(Schultheiss et al., 2003). A PR-1 fehérje a kórokozó gombákat többféle élettani-biokémiai mechanizmus segítségével gátolhatja, pl. védekezési szignál peptidként vagy a gombasejtfalban levő szterolok megkötésével (Breen et al., 2017). Lóbabban (*Vicia faba*) a bázikus PR-1 fehérje az *Uromyces fabae* rozsdá hifáinak differenciálódását akadályozza (Rauscher et al., 1999). A *CaPR-1* gén által kódolt bázikus PR-1 fehérje hasonló funkciót tölthet be a paprika liztharmatrezisztenciájában, ugyanis a két kórokozó (*U. fabae* és *L. taurica*) közös vonása, hogy a fertőzött levelekbe a gázcserenyílásokon keresztül hatolnak be.

A *CaPR-2* gén egy bázikus β -1,3-glukanázt kódol, amely a gomba- ill. oomicéta-sejtfalak β -1,3-glukán vegyületeit hidrolizálja (ld. pl. Van Loon et al., 2006). A *P. capsici* fertőzését követő *CaPR-2*-indukció viszont csak néhány rezisztens paprikafajtában észlelhető és a génexpresszió jelentősen megnő a fogékony gazda - kórokozó kombinációkban is (Silvar et al., 2008). Ez egybevág saját eredményeinkkel, miszerint a paprikaliztharmat patogenezisének előrehaladott szakaszában (45 DPI: 45 nappal a fertőzés után) a nagymértékű *CaPR-1* és *CaPR-2* expresszió a liztharmat - fogékonyság során – és nem a rezisztenciánál – észlelhető. Hasonló jelenséget más gazda - kórokozó kapcsolatban is kimutattak: *Bipolaris sorokiniana*-val vagy a gomba tenyésztésűrlétével fertőzött/kezelt árpadban a *PR-1b* génexpresszió szintén a fogékonysággal korrelált (Király et al., 2002a; Schultheiss et al., 2003). A PR-1b transzkriptumok, ill. fehérje erőteljes felhalmozódását tapasztalták különféle kórokozó gombákkal (*Drechslera teres*, *Magnaporthe grisea*, *B. sorokiniana*) fertőzött fogékony árpadban és rizsben is (Reiss és Bryngelsson, 1996; Manandhar et al., 1999). A fentiek alapján a PR

gének expressziója a paprika lizstarmattal (*L. taurica*) szembeni rezisztenciájának markere vagy akár funkcionális komponense is lehet, de a patogenezis előrehaladott szakaszában feltehetően nincs szerepe a védekezés fenntartásában.

Eredményeink szerint két, sejthalált szabályozó és lizstarmat - fogékonyságot meghatározó gén (*CaMlo1* és *CaMlo2*) csökkent mértékű expressziója szintén a lizstarmat rezisztencia markere, fertőzetlen és lizstarmattal fertőzött paprikában egyaránt. Az elsőként árpában leírt *Mlo* gén terméke egy transzmembrán fehérje, amelyet a tünetmentes (HR-nélküli) lizstarmat-rezisztencia, ill. a növényi sejthalál negatív regulátorának tekintenek (Büschges et al., 1997), és árpán kívül több más növényben, többek között paprikában is megtalálható (Zheng et al., 2013a; Acevedo-Garcia et al., 2014). Az *mlo*-rezisztens (MLO-hiányos mutáns) növényekben a lizstarmat által megtámadott, de ellenálló epidermis-sejt ún. papillákat (sejtfal-vastagodásokat) képez (Koga et al., 1990; Hüchelhoven et al., 1999). Az *mlo* növények másik jellegzetessége a levél mezofill szövetében jelentkező spontán sejtelhalások (Wolter et al., 1993; Piffanelli et al., 2002), amelyet mi a lizstarmatrezisztens 'Szentesi' cseresznyepaprikában is észleltünk. Elképzelhető, hogy a lizstarmatrezisztens paprikában (saját gyökerű 'Szentesi' és oltott Szentesi+Totál) tapasztalt csökkent mértékű *CaMlo1* és *CaMlo2* génexpresszió háttérében egy olyan *mlo* mutáció áll, mint árpában az *mlo-11*, amely a lizstarmat rezisztencia mellett jelentősen gátolt *Mlo* transzkripciót és fehérjeszintézist eredményez (Piffanelli et al., 2004).

Paprikában az oltással átvihető lizstarmat - rezisztencia biokémiai markerei (fokozott NADPH-oxidáz-aktivitás, magas *CaPR-1* és *CaPR-2*,

ill. alacsony *CaMlo1* és *CaMlo2* génexpresszió) az oltott, rezisztens növények (Szentesi+Totál) utódainak kb. felében jól kimutathatóan öröklődtek. Mivel a markerek közül négy (fokozott NADPH-oxidáz-aktivitás, magas *CaPR-1* és *CaPR-2*, ill. alacsony *CaMlo2* expresszió) feltehetően kapcsolatosan öröklődött (nagyrészt ugyanazokban az utód egyedekben fordult elő), elképzelhető, hogy az oltott paprikák utódaiban a lizstharman - rezisztencia is stabilan, a biokémiai markerekkel kapcsolatosan öröklődik. Régóta ismert, hogy az oltás elősegítheti több genotípusos és fenotípusos tulajdonság (pl. RAPD DNS-profil, a termés formája, színe) átvitelét az alanyról a ráoltott nemes növényre, amelyek az így szerzett tulajdonságokat stabilan tovább örökíthetik (Taller et al., 1998, 1999; Tsaballa et al., 2013). Azt is kimutatták, hogy paprikában és más rokon fajokban (paradicsom, tojásgyümölcs) két növényfaj egyedeinek egymásra oltása a nemes részben a DNS - metilációs mintázatokat megváltoztatja és ezek a változások szintén öröklődnek (Wu et al., 2013; Warschefsky et al., 2016). Igazolták továbbá, hogy kb. 24 nukleotid hosszú növényi eredetű kis RNS - molekulák az oltási ponton átjutva epigenetikai változásokat (DNS - metilálás, géncsendesítés) indukálnak, amelyek megváltoztathatják a ráoltott növény génexpressziós mintázatait (Molnar et al., 2010).

Az oltással átvihető paprikalisztharman - rezisztencia biokémiai markerei közül három (fokozott *CaPR-1* és *CaPR-2* génexpresszió, alacsony *CaMlo2* expresszió) a keresztezett saját gyökerű fogékony és rezisztens paprika F₁ utódainak [Totál (♀) x Szentesi (♂)] több mint a felében szintén jól kimutathatóan öröklődött. A három rezisztenciamarker öröklődése feltehetően kapcsolatos, ugyanis nagyrészt ugyanazokban az F₁

utódegyedekben fordult elő. Korábbi megfigyelések szerint a vírus (TMV) rezisztencia és a PR-1 fehérje korai kifejeződése is kapcsolatosan öröklődik két interspecifikus *Nicotiana* hibrid keresztezéséből származó utódokban, akár négy generáción (F_4) át (Cole et al., 2004).

Érdekes, hogy a paprika lisztharmat - rezisztencia biokémiai markerei közül az alacsony *CaMlo1* expresszió ugyan öröklődött (mind az oltott növények, mind a keresztezett fogékony és rezisztens szülő utódaiban), de a többi markertől általában függetlenül (nagy részt más utódegyedekben fordult elő, mint a többi marker). Eredményünk rámutat arra, hogy az *CaMlo1* expresszió, ill. annak hiánya a paprika lisztharmat - fogékonyságnak, ill. rezisztenciának kevésbé fontos eleme. Ezt valószínűsíti az is, hogy lisztharmatos fertőzéskor a rezisztens oltott növényekben (Szentesi+Totál) az *CaMlo1* expressziója sokkal kevésbé szorult vissza, mint az *CaMlo2* transzkripciója (28B. ábra). Zheng és munkatársai (2013a) szerint az *CaMlo1* transzkripciója a lisztharmattal (*L. taurica*) fertőzött, fogékony paprikában jóval lassabban indukálódik, mint az *CaMlo2* gén kifejeződése, ráadásul önmagában az *CaMlo2* túltermeltetése már képes fokozni a *L. taurica*-val szembeni fogékonyságot paradicsomban.

Eredményeink szerint az oltással átvihető lisztharmat - rezisztencia egyik közvetlen biokémiai oka a 'Szentesi' cseresznyepaprikában a NADPH-oxidáz által termelt szuperoxid felhalmozódása, amely az oltás során – a rezisztenciával együtt egy ismeretlen jelátviteli mechanizmus segítségével továbbítódik az eredetileg fogékony ráoltott növénybe. Elvileg elképzelhető, hogy az oltással átvihető lisztharmat - rezisztencia jelátvivői maguk a ROS molekulák, mint pl. a szuperoxid. Annak

ellenére, hogy a ROS érzékeny a lebomlásra (pl. antioxidánsok hatására), kimutatták, hogy a növényeket érő abiotikus stresszek során egy sejtről-sejtre terjedő, gyorsan szisztemizálódó (akár 8,4 cm/perc sebességű) és NADPH-oxidáz - függő „ROS-hullám” alakul ki (Miller et al., 2009; Mittler et al., 2011; Gilroy et al., 2014). Az ehhez hasonló „ROS-hullámok” kialakulása igen valószínű a betegségrezisztencia, ill. növényi védekezés során is, ugyanis több kutatás szerint a ROS-felhalmozódás stimulálása növényi szövetekben a távoli, kezeletlen növényi részekben fokozott ROS-szintézist és betegség - ellenállóságot indukál (Alvarez et al., 1998; Fodor et al., 2001; Dubiella et al., 2013). Ugyanakkor nem kizárható, hogy az alanyból a ráoltott növénybe (vagy fordítva) irányuló, floémában terjedő egyéb jelátviteli mechanizmusok is részt vesznek a növényi betegségrezisztenciának oltással történő átvitelében. Ilyenek lehetnek pl. az mRNS-ek, kis RNS-ek, védekezéssel kapcsolatos fehérjék, hormonok, stb. (Golecki et al., 1998; Lough és Lucas, 2006; Park et al., 2007; Kehr és Buhtz 2008; Guan és Zhao 2012; Warschefsky et al. 2016). A jövő kutatásai tisztázhatják paprikában, ill. más termesztett növényekben az oltással átvihető betegség (pl. lisztharmat) rezisztencia pontos genetikai/biokémiai jelátviteli mechanizmusát.

6. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Egy reaktív oxigénfajta (ROS), a szuperoxid ($O_2^{\cdot-}$) a tünetmentes extrém rezisztenciát (ER) mutató „Rx” dohányban (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun NN Rx1) a burgonya X vírus (*Potato virus X*, PVX) fertőzés utáni korai időpontokban (6 órán belül) halmozódik fel.
2. PVX-szel fertőzött „Rx” dohányban a korai $O_2^{\cdot-}$ felhalmozódás csökkentése antioxidáns (szuperoxid-dizmutáz és kataláz) -kezelésekkel az extrém rezisztenciát részlegesen megtöri, míg PVX-re fogékony dohányban (cv. Samsun NN) egy szuperoxidképző ágenssel (riboflavin/metionin) történő kezelés részleges rezisztenciát ad: lokális nekrotikus, hiperszenzitív léziók (HR) jelennek meg, a vírusszint szignifikánsan csökken.
3. Az „Rx” dohányt ferritint túltermelő (OH $^{\cdot}$ termelésben gátolt) növényekkel keresztezve az F₁ utódokban az ER-t részlegesen sikerül megtörni. Egyes védekezési és ROS- szabályozó gének (*NtPR-1a*, *NtPRB-1b*, *NtGSTphi*, *NtBI-1*, *NtAOX1-2*, *NtCat1*), ill. antioxidánsok (glutathion, glutathion-reduktáz, glutathion-S-transzferáz) aktivitása a HR-típusú vírusrezisztenciánál jelentősen megemelkedik, míg az ER-nél alig változik.
4. A liztharmatrezisztens paprikákban (‘Szentesi’, oltott Szentesi+Totál) a $O_2^{\cdot-}$ egészséges és fertőzött növények leveleiben is felhalmozódik. A $O_2^{\cdot-}$ termelő NADPH oxidáz aktivitása korrelál a $O_2^{\cdot-}$ szinttel és az oltással átvihető liztharmatrezisztenciával.

5. Fertőzetlen növényekben egy PR gén (*CaPR-1*) expressziója a lizstharman - ellenálló paprikákban ('Szentesi', oltott Szentesi+Totál) a rezisztencia markere, míg a *CaPR-2* fokozott expressziója csak a 'Szentesi'-ben detektálható. A lizstharman fertőzés késői fázisában (45 DPI) a *CaPR-1* és *CaPR-2* expresszió a lizstharman fogékonyással korrelál. Két, sejtthál szabályozó gén (*CaMlo1* és *CaMlo2*) csökkent expressziója is a lizstharman rezisztencia markere, fertőzetlen és lizstharmanfertőzött paprikában is.
6. A paprikalizstharman rezisztencia biokémiai markerei (fokozott NADPH-oxidáz-aktivitás, magas *CaPR-1* és *CaPR-2*, ill. alacsony *CaMlo1* és *CaMlo2* expresszió) az oltott, rezisztens növények (Szentesi+Totál) utódainak felében öröklődnek. Három marker (fokozott *CaPR-1* és *CaPR-2* expresszió, alacsony *CaMlo2* expresszió) a keresztezett fogékony és rezisztens paprika F₁ utódainak [Totál (♀) x Szentesi (♂)] felében is öröklődik, nagyrészt ugyanazokban az utódokban (kapcsolt öröklődés).

7. ÖSSZEFOGLALÁS

A *Nicotiana tabacum* cv. Samsun NN *Rx1* transzgenikus dohány („Rx”) a burgonya *Rx1* rezisztenciagénjét fejezi ki, és a burgonya X vírus (*Potato virus X*, PVX) fertőzésével szemben extrém rezisztens (Bendahmane et al., 1999). Kimutattuk, hogy az „Rx” dohány a PVX egy hazai törzsével (PVX Ny) szemben is tünetmentes extrém rezisztenciát (ER) mutat; a lokális sejt/szöveti elhalás (hiperszenzitív reakció, HR) hiánya mellett az extrém rezisztens dohányokban a fertőzés utáni 5. napra a PVX szintje a fogékony növényekben mértnek csupán töredéke. Az ER legvalószínűbb oka, hogy a vírusreplikáció gátlása olyan korán következik be, hogy nincs idő a HR – típusú tünetek kialakítására. A vírusgátlás mechanizmusa azonban mind ez ideig ismeretlen. Eredményeink szerint egy, a vírusrezisztenciában szerepet játszó reaktív oxigénfajta (ROS), a szuperoxid ($O_2^{\cdot-}$) az ER-t mutató „Rx” dohányban a PVX fertőzése utáni korai időpontokban (a fertőzés után 6 órán belül) halmozódik fel, és a PVX mennyisége csak ezt követően csökken jelentősebben. Ezek szerint a PVX-szel szembeni tünetmentes ER háttérben legalább részben az *Rx1* gén által biztosított korai szuperoxid (ROS) - felhalmozódás áll, amely a vírus replikációját gátolhatja.

A PVX-szel fertőzött „Rx” dohányban a szuperoxid felhalmozódás csökkentése antioxidáns (szuperoxid-dizmutáz és kataláz) - kezeléssel az ER-t részlegesen megtöri: HR-re emlékeztető lokális nekrotikus tünetek alakulnak ki, és a PVX mennyisége jelentősen megnő. Az „Rx” dohányt ferritint túltermelő (a hidroxilgyök $/OH/$ termelésében gátolt) növényekkel keresztezve az F₁ utódokban az ER szintén részlegesen megtörik, a fertőzés utáni első 2 napban az inokulált levelekben a

vírusszint jelentősen nagyobb az „Rx” dohányhoz képest, és HR - szerű léziók alakulnak ki. Ezek szerint a ROS-képződés ferritin-túltermelésből adódó csökkenése is képes a PVX - fertőzéssel szembeni ER-t mérsékelni. A szuperoxid-felhalmozódás ER-ben játszott szerepét támasztja alá, hogy PVX-re fogékony dohányban (cv. Samsun NN) egy szuperoxidot képző ágenssel (riboflavin/metionin) történő kezelés hatására részleges rezisztencia alakul ki a PVX-szel szemben: HR-re emlékeztető lokális nekrotikus tünetek jelennek meg és a vírusszint szignifikánsan alacsonyabb a kezeletlen növényekhez képest. Ezek szerint a szuperoxid szintjének mesterséges növelése fogékony dohányban nem képes ER-t előidézni, de a lassabb, HR típusú rezisztenciát igen, amely részben képes gátolni a PVX - replikációt.

A PVX-szel szembeni tünetmentes (ER) és a dohány mozaik vírussal (*Tobacco mosaic virus*, TMV) szembeni HR típusú vírusrezisztenciát az „Rx” dohányban összehasonlítva kimutattuk, hogy HR-nél közel egy nagyságrenddel több vírus (TMV) van jelen a gazdanövényben, mint a tünetmentes ER-nél. Három védekezési/stresszmarker gén (*NtPR-1a*, *NtPRB-1b* és *NtGStphi*), ill. három sejthalál-/ROS-szabályozó gén (*NtBI-1*, *NtAOX1-2*, *NtCat1*) expressziója, valamint egy nem enzimatis antioxiidáns, a glutation mennyisége és két antioxiidáns hatású enzim (glutacion-reduktáz, glutacion-S-transzferáz) aktivitása a HR-nél jelentősen megemelkedik, míg az ER-nél alig változik. A tünetmentes ER során az alig észlelhető védekezési folyamatok is jelzik, hogy a vírusgátlás rendkívül gyorsan kialakul.

A növényi betegségrezisztencia bizonyos esetekben kertészeti oltással is átvihető, de a rezisztencia átvitelének biokémiai és molekuláris háttere

nem ismert. Megfigyeléseink szerint egy paprikalisztharmatra (*Leveillula taurica*) fogékony étkezési paprikafajta (*Capsicum annuum* cv. Totál) betegség-ellenállóvá válik, ha egy ellenálló cseresznyepaprika (*C. annuum* var. *cerasiforme*) alanyra (cv. Szentesi) oltjuk. Kimutattuk, hogy a ‘Szentesi’ cseresznyepaprika oltással átvihető, tünetmentes (HR nélküli) lisztharmat - rezisztenciája kontrollált, laboratóriumi körülmények közötti mesterséges fertőzésnél is hatásos, és együtt jár a kórokozó (*L. taurica*) felhalmozódásának jelentős (50 %-os) gátlásával. A lisztharmatrezisztens paprikákban (saját gyökerű ‘Szentesi’ és oltott Szentesi+Totál) a szuperoxid (O_2^-) erőteljes felhalmozódása figyelhető meg, már egészséges növények leveleiben is. A növényi betegségrezisztenciával összefüggő szuperoxid - termelésért elsősorban felelős NADPH - oxidáz enzim aktivitása jól korrelál a szuperoxid felhalmozódással és a lisztharmat - rezisztenciával. A lisztharmatfogékony ‘Totál’ étkezési paprika akkor is rezisztenssé válik és szuperoxidot termel, ha a ‘Szentesi’ mellett más ellenálló cseresznyepaprika-alanyokra (‘Kalocsai A’, ‘Kalocsai M’, ‘Garai fehér’) oltjuk. A lisztharmatrezisztens paprikák fertőzetlen leveleiben a szabad szalicilsav szintje kb. kétszer akkora, mint a fogékony ‘Totál’ egyedekben, a kötött szalicilsav mennyisége viszont azonos. A saját gyökerű ‘Szentesi’ fertőzetlen leveleiben a főleg az erek környékén kialakuló spontán sejtelhalás mértéke (sűrűsége) is jóval intenzívebb, mint a saját gyökerű ‘Totál’ egyedekben. Fertőzetlen növényekben egy patogenezissel kapcsolatos gén (*CaPR-1*) expressziója a lisztharmat - ellenálló paprikákban (saját gyökerű ‘Szentesi’ és oltott Szentesi+Totál) a rezisztencia markere, míg a *CaPR-2* fokozott expressziója csak a saját

gyökerű ‘Szentesi’ cseresznyepaprikában mérhető. A lisztharmatos fertőzés előrehaladott fázisában (45 DPI) viszont a PR - génexpressziós mintázat fordított, mint a fertőzetlen paprikákban: a rendkívül nagy *CaPR-1* és *CaPR-2* expresszió ilyenkor a lisztharmat - fogékonysággal korrelál. Két, sejthalált szabályozó gén (*CaMlo1* és *CaMlo2*) csökkent mértékű expressziója szintén a lisztharmat - rezisztencia markerének bizonyult, fertőzetlen és lisztharmattal fertőzött paprikában egyaránt.

Paprikában az oltással átvihető lisztharmat rezisztenciával összefüggő biokémiai markerek (fokozott NADPH-oxidáz aktivitás, magas *CaPR-1* és *CaPR-2*, ill. alacsony *CaMlo1* és *CaMlo2* génexpresszió) az oltott, rezisztens növények (Szentesi+Totál) utódainak kb. felében jól kimutathatóan öröklődnek. A markerek közül négy (fokozott NADPH – oxidáz - aktivitás, magas *CaPR-1* és *CaPR-2*, ill. alacsony *CaMlo2* expresszió) feltehetően kapcsoltan öröklődik, ugyanis nagyrészt ugyanazokban az utódegyedekben fordul elő. A rezisztenciamarkerek közül három (fokozott *CaPR-1* és *CaPR-2* génexpresszió, alacsony *CaMlo2* expresszió) a keresztezett saját gyökerű fogékony és rezisztens paprika F₁ utódainak [Totál (♀) x Szentesi (♂)] több mint a felében szintén jól kimutathatóan öröklődik. A három rezisztencia marker öröklődése feltehetően kapcsolt, ugyanis nagyrészt ugyanazokban az F₁ utódegyedekben fordul elő.

Eredményeink szerint egy fontos növényi ROS, a szuperoxid felhalmozódása meghatározó tényezője lehet két, tünetmentes (HR-nekrózis nélküli) rezisztencia típusnak: dohányban a PVX-szel szembeni extrém rezisztenciának és paprikában a lisztharmattal (*L. taurica*) szembeni, oltással átvihető rezisztenciának. További kutatások feladata

lesz tisztázni a szuperoxid pontos funkcióját ezekben a hatékony, tünetmentes növényi rezisztenciaformákban.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek Dr. Király Lórántnak, aki szakmai tudásával, útmutatásával lehetőséget biztosított számomra a MTA ATK Növényvédelmi Intézetében, hogy kutatómunkámat végezzem. Köszönöm segítségét a kísérletek elvégzésében, valamint az értekezés megírásában.

Külön köszönet illeti Prof. Dr. Király Zoltánt, aki szintén támogatott útamon és doktori tanulmányaim megkezdésére biztatott.

Köszönetet szertnék mondani Dr. Künstler Andrásnak, aki mindvégig segítségemre volt a szakmai munkám során.

Köszönöm a fitoplazmás lányoknak a lelki támogatást, valamint az MTA ATK Növényvédelmi Intézet valamennyi munkatársának, akik segítettek a dolgozatom megírását.

Köszönöm Dr. Lantos Ferencnek, hogy megszeretette velem BSc tanulmányaim során a kertészetet, különösen a hajtattott kertészeti kultúrák termesztéstechnológiáját, és a közös munkák eredménye biztatott a doktori tanulmányok elkezdéséhez.

Köszönöm a Magyar Növényvédő Mérnöki és Nővényorvosi Kamara országos vezetésének, valamint a Csongrád megyei területi szervezet vezetőségének, hogy támogattak doktoranduszi éveim alatt.

Köszönöm Dobos Sárának, hogy megtanította számomra a zöldségnövények oltását, valamint köszönöm a SzentésMag Kft-nek, hogy segítettek a paprika vonalak keresztezésében.

Köszönöm Ruskó Józsefnek a Duna-R Kft ügyvezető igazgatójának, hogy fóliaborítású termesztőrendszerben is megvizsgálhattam a Szentesi cseresznyepaprika lisztharmat-ellenállóságát.

Végezetül köszönöm családomnak és barátaimnak a lelki és anyagi támogatást, nélkülük ez a dolgozat nem készülhetett volna el.

Ábrák-, táblázatok jegyzéke

oldal

- 1. ábra:** Az *Rx1* rezisztenciagén működésének kimutatása transzgenikus dohányban (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun *NN Rx1*) és az *Rx1* gént nem tartalmazó kontrollnövényekben (*N. tabacum* cv. Samsun *NN*), kvantitatív RT-PCR-rel (relatív génextpresszió), a burgonya X vírus (*Potato virus X*, PVX) fertőzés, ill. kontrollinokuláció („mock”) után különböző időpontokban (3, 6, 11 és 24 óra). 0 h: fertőzetlen növények. A génextpresszió normalizálásához egy dohány aktingén (*NtAct*) expresszióját használtuk.53
- 2. ábra:** Burgonya X vírus (*Potato virus X*, PVX) felhalmozódása az *Rx1* extrém rezisztenciagént kifejező dohányban (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun *NN Rx1*) és a fogékony kontrollnövényekben (*N. tabacum* cv. Samsun *NN*), a vírusfertőzés után különböző időpontokban (1, 3 és 6 óra, 1 és 2 nap), szemikvantitatív RT-PCR-rel mérve (*PVX CP* génextpresszió). Referenciaként egy dohány-aktingén (*NtAct*) expresszióját tekintettük. 0 hpi = egészséges, fertőzetlen növények. (hpi, ill. dpi: a fertőzéstől eltelt órák, illetve napok).54
- 3. ábra:** Burgonya X vírus (*Potato virus X*, PVX) felhalmozódása az *Rx1* extrém rezisztenciagént kifejező dohányban (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun *NN Rx1*) és a fogékony kontrollnövényekben (*N. tabacum* cv. Samsun *NN*), a vírusfertőzés után különböző időpontokban (1, 3 és 6 óra, 1, 2 és 5 nap), kvantitatív RT-PCR-rel mérve (*PVX CP* relatív génextpresszió). A génextpresszió normalizálásához egy dohány-aktingén (*NtAct*) expresszióját használtuk.54
- 4. ábra:** Szuperoxid (O_2^-) felhalmozódása (amire a kék szín utal) az *Rx1* extrém rezisztenciagént kifejező dohányban (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun *NN Rx1*) és a fogékony kontroll növényekben (*N. tabacum* cv. Samsun *NN*), burgonya X vírussal (*Potato virus X*, PVX) történő fertőzés után 1, 2, 3 és 6 órával (0 HPI = fertőzetlen növények). A szuperoxidot NBT (nitroblue - tetrazolium - klorid) festéssel detektáltuk. Az alsó ábrarész a PVX-szel szembeni extrém rezisztencia meglétét szemlélteti a vizsgált növényekben, hasonlóan a 2. ábrához.56
- 5. ábra:** : Szuperoxid (O_2^-) felhalmozódás mérése az *Rx1* extrém rezisztenciagént kifejező dohányban (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun *NN Rx1*) és a fogékony kontrollnövényekben (*N. tabacum* cv. Samsun *NN*), a burgonya X vírussal (*Potato virus X*, PVX) történő fertőzés után 1, 2, 3, 6 és 48 órával (0 h = fertőzetlen növények). A szuperoxidot NBT (nitroblue tetrazolium klorid) festéssel detektáltuk, az NBT szövetfestés kvantifikálása Image J számítógépes program segítségével történt.57
- 6. ábra:** Az NBT (nitroblue tetrazolium klorid) szövetfestés a burgonya X vírusra (*Potato virus X*, PVX) extrém rezisztens dohányban (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun *NN Rx1*) specifikus a szuperoxidra (O_2^-). A baloldali leveleket a PVX-szel történő fertőzés után 1, ill. 2 órával (HPI) a szuperoxid felhalmozódás kimutatására NBT-vel infiltráltuk, míg a jobboldali leveleket ugyanezekben az időpontokban NBT-vel

valamint szuperoxid-dizmutázzal (SOD, 3000 U/ml) és katalázzal (CAT, 5000 U/ml) infiltráltuk.58

7. ábra: Antioxidáns enzimek hatása a burgonya X vírussal (*Potato virus X*, PVX) szembeni extrém rezisztenciára dohányban (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun NN *Rx1*), a PVX fertőzés után 2 és 7 nappal (DPI). SC = az inokulált levelek bal felének infiltrálása szuperoxid-dizmutázzal (SOD, 3000 U/ml) és katalázzal (CAT, 5000 U/ml). A baloldali grafikon utolsó négy oszlopa van kinagyítva jobbra fent. HR = hiperszenzitív lokális nekrozisra (HR) emlékeztető tünetek. Rx és SNN: extrém rezisztens és fogékony kontrolldohányvonalak. A PVX felhalmozódását (PVX CP relatív génexpresszió) kvantitatív RT-PCR-rel követtük. A génexpresszió normalizálásához egy dohány-aktin gén (*NtAct*) expresszióját használtuk.60

8. ábra: Antioxidáns enzimek hatása a burgonya X vírussal (*Potato virus X*, PVX) szembeni extrém rezisztenciára (ER) dohányban (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun NN *Rx1*), a fertőzés után 2 és 7 nappal (DPI): az ER csökkenése korrelál a HR megjelenésével és az *NtPR-1a* gén fokozott kifejeződésével (kvantitatív RT-PCR, relatív génexpresszió, a normalizálásához egy dohány aktin gén (*NtAct*) expresszióját használtuk). SC= a bal levélfél infiltrálása szuperoxid-dizmutázzal (SOD, 3000 U/ml) és katalázzal (CAT, 5000 U/ml). HR = hiperszenzitív lokális nekrozisra (HR) emlékeztető tünetek. Rx és SNN: extrém rezisztens és fogékony kontroll dohányvonalak.61

9. ábra: A burgonya X vírussal (*Potato virus X*, PVX) szembeni extrém rezisztencia (ER) részleges megtörése ER-t mutató dohány (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun NN *Rx1*) és két fogékony, ferritint túltermelő dohányvonal (*N. tabacum* cv. SR1; C8 és F9) keresztezéséből kapott F₁ utódnövényekben, a PVX fertőzés utáni első 5 napon. A keresztezésekben az *Rx1* dohány volt az anya (♀). Az inokulált levelekben a PVX felhalmozódását (PVX CP relatív génexpresszió) kvantitatív RT-PCR-rel követtük (a normalizálásához egy dohány-aktin gén (*NtAct*) expresszióját használtuk) (A): *Rx1* dohány keresztezése a C8 vonallal; (B): *Rx1* dohány keresztezése az F9 vonallal.64

10. ábra: A burgonya X vírussal (*Potato virus X*, PVX) szembeni extrém rezisztencia (ER) részleges megtörése ER-t mutató dohány (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun NN *Rx1*) és két fogékony, ferritint túltermelő dohányvonal (*N. tabacum* cv. SR1; C8 és F9) keresztezéséből kapott F₁ utódnövényekben. A keresztezésekben az *Rx1* dohány volt az anya (♀). Az F₁ növények nagy részében a PVX fertőzés után 5 nappal az inokulált levelekben szabad szemmel látható, hiperszenzitív lokális nekrozis (HR) alakult ki (nyíllal jelölve). (A): *Rx1* dohány keresztezése a C8 vonallal; (B): *Rx1* dohány keresztezése az F9 vonallal.65

11. ábra: A burgonya X vírussal (*Potato virus X*, PVX) szembeni extrém rezisztencia (ER) részleges megtörése ER-t mutató dohány (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun NN *Rx1*) és két fogékony, ferritin túltermelő dohányvonal (*N. tabacum* cv. SR1; C8 és F9) keresztezéséből kapott F₁ utódnövényekben, a PVX - fertőzés utáni első 3 napon. Kontrollként az SR1 dohányt is kereszteztük az *Rx1* növényekkel. A keresztezésekben az *Rx1* dohány volt az apa (♂). SNN: fogékony kontrolldohányvonal. Az inokulált

levelekben a PVX felhalmozódását (*PVX CP* relatív génexpresszió) kvantitatív RT-PCR-rel követtük (a normalizálásához egy dohány aktin gén (*NtAct*) expresszióját használtuk).66

12. ábra: A burgonya X vírussal (*Potato virus X*, PVX) szembeni rezisztencia kialakítása fogékony dohányban (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun NN), szuperoxidot ($O_2^{\cdot-}$) képző ágens (66 μ M riboflavin, 10 mM L-metionin) infiltrálásával az inokulált levelek egyik felébe (riboflavin), a PVX fertőzés utáni első 7 napon. A PVX felhalmozódását (*PVX CP* relatív génexpresszió) az inokulált levelekben kvantitatív RT-PCR-rel követtük (a normalizálásához egy dohány-aktin gén (*NtAct*) expresszióját használtuk).67

13. ábra: A burgonya X vírussal (*Potato virus X*, PVX) szembeni rezisztencia kialakítása fogékony dohányban (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun NN), szuperoxidot ($O_2^{\cdot-}$) képző ágens (66 μ M riboflavin, 10 mM L-metionin) infiltrálásával az inokulált levelek egyik felébe (RF). A növények nagy részében a riboflavinnal infiltrált levélfélben a PVX fertőzés után 5 nappal szabad szemmel látható, erősebb vagy gyengébb, hiperszenzitív lokális nekrozisra (HR) emlékeztető tünetek alakultak ki. „mock” = kontroll inokulált levelek.68

14. ábra: Tünetmentes (extrém) és hiperszenzitív (HR) vírusrezisztencia dohányban (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun NN *Rx1*). Baloldali kép: Az *Rx1* rezisztenciagén által meghatározott extrém rezisztencia (ER) burgonya X vírus (*Potato virus X*, PVX) fertőzésekor. Jobboldali kép: Az *N* rezisztenciagén által irányított HR dohány mozaik vírus (*Tobacco mosaic virus*, TMV) fertőzés esetén. A felvételek 2 nappal a vírusfertőzés után készültek.69

15. ábra: Burgonya X vírus (*Potato virus X*, PVX) és dohány mozaik vírus (*Tobacco mosaic virus*, TMV) felhalmozódása az *Rx1* extrém rezisztenciagént kifejező, PVX-re és TMV-re rezisztens dohányban (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun NN *Rx1*), a vírusfertőzés után különböző időpontokban (1, 3 és 6 óra, 1 és 2 nap), kvantitatív RT-PCR-rel mérve (*PVX CP* és *TMV CP* relatív génexpresszió). A génkifejeződés normalizálásához egy dohány-aktin gén (*NtAct*) expresszióját használtuk.70

16. ábra: Három védekezési (stressz) gén (*NtPR-1a*, *NtPRB-1b* és *NtGSTphi1*) kifejeződése burgonya X vírussal (*Potato virus X*, PVX) és dohány mozaik vírussal (*Tobacco mosaic virus*, TMV) fertőzött, PVX-re és TMV-re rezisztens dohányban (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun NN *Rx1*) a vírusfertőzés után különböző időpontokban (1, 3 és 6 óra, 1, 2 és 5 nap), kvantitatív RT-PCR-rel mérve (relatív génexpresszió). A génkifejeződés normalizálásához egy dohány-aktin gén (*NtAct*) expresszióját használtuk, a kapott eredményeket a kontroll inokulált („mock”) minták értékeihez is normalizáltuk.72

17. ábra: Sejthalál gátló (*NtBI-1*=BAX inhibitor-1), ill. ROS felhalmozódást szabályozó gének (*NtAOX1-2* =alternatív-oxidáz és a *NtCat1*=kataláz) kifejeződése burgonya X vírussal (*Potato virus X*, PVX) és dohány mozaik vírussal (*Tobacco mosaic virus*, TMV) fertőzött, PVX-re és TMV-re rezisztens dohányban (*Nicotiana tabacum*

cv. Samsun *NN Rx1*) a vírusfertőzés után különböző időpontokban (1, 3 és 6 óra, 1, 2 és 5 nap), kvantitatív RT-PCR-rel mérve (relatív géneexpresszió). A génkifejeződés normalizálásához egy dohány-aktingén (*NtAct*) expresszióját használtuk, a kapott eredményeket a kontroll inokulált („mock”) minták értékeihez is normalizáltuk.74

18. ábra: Glutation felhalmozódása és az oxidált és redukált glutation aránya burgonya X vírussal (*Potato virus X*, PVX) és dohány mozaik vírussal (*Tobacco mosaic virus*, TMV) fertőzött, PVX-re és TMV-re rezisztens dohányban (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun *NN Rx1*) a vírusfertőzés után 4 nappal. „mock” = kontroll inokulált növények.76

19. ábra: Glutation-reduktáz (GR) és glutation-S-transzferáz (GST) enzimaktivitás burgonya X vírussal (*Potato virus X*, PVX) és dohány mozaik vírussal (*Tobacco mosaic virus*, TMV) fertőzött, PVX-re és TMV-re rezisztens dohányban (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun *NN Rx1*) a vírusfertőzés után 4 nappal. „mock” = kontroll inokulált növények.78

20. ábra: *Capsicum annuum* var. *cerasiforme* cv. Szentesi cseresznyepaprika-alanyra oltott *Capsicum annuum* cv. Totál, étkezési paprika (nemes). A piros vonal az oltási pontot mutatja.80

21. ábra: Lisztharmatos (*Leveillula taurica*) fertőzésnek kitett, ‘Szentesi’ cseresznyepaprikára oltott ‘Totál’ étkezési paprika (Szentesi+Totál) gyakorlatban való használata Szentesen a Duna-R Kft telepén. Baloldali és középső kép: Szentesi+Totál oltott növények; jobboldali kép: saját gyökerű ‘Totál’ növények.80

22. ábra: A ‘Szentesi’ cseresznyepaprika (*Capsicum. annuum* var. *cerasiforme* cv. Szentesi) lisztharmattal (*Leveillula taurica*) szembeni rezisztenciája oltással átvihető: a ‘Szentesi’ cseresznyepaprikára oltott, eredetileg fogékony ‘Totál’ étkezési paprikában (Szentesi+Totál) lisztharmat -rezisztencia indukálódik. (A) Lisztharmatos fertőzés tipikus tünetei paprikaleveleken 45 nappal az inokuláció után. Felső képek: klorotikus foltok a levél színén; alsó képek: a klorotikus foltokkal átellenben lisztharmattelepek a levél fonákján. Baloldali, középső és jobboldali képek: lisztharmatra fogékony (saját gyökerű cv. Totál) és rezisztens (saját gyökerű cv. Szentesi és oltott Szentesi+Totál) paprika levelei. (B) A paprikalisztharmat (*L. taurica*) felhalmozódását kvantitatív PCR-rel követtük nyomon 45 nappal az inokuláció után (relatív genomi DNS - szint). A normalizáláshoz egy paprika - aktingént (*CaAct*) használtunk.82

23. ábra: A ‘Szentesi’ cseresznyepaprika (*Capsicum. annuum* var. *cerasiforme* cv. Szentesi) lisztharmattal (*Leveillula taurica*) szembeni, oltással átvihető rezisztenciájának markere a szuperoxid (O_2^-)-felhalmozódás és a fokozott NADPH-oxidáz enzimaktivitás, a fertőzetlen (A) és lisztharmattal fertőzött (B) növényekben egyaránt (45 nappal az inokuláció után). Felső képek: szuperoxid-felhalmozódás kimutatása fertőzetlen és lisztharmattal fertőzött paprika levelekben, nitroblue-tetrazolium-klorid (NBT) festéssel detektálva. Az NBT-szövetfestés kvantifikálása Image J számítógépes program segítségével történt (NBT festés a levélfelület %-ában). Baloldali, középső és jobboldali képek: lisztharmatra fogékony (saját gyökerű cv. Totál)

és rezisztens (saját gyökerű cv. Szentesi és oltott Szentesi+Totál) paprika levelei. Alsó grafikonok: NADPH-oxidáz aktivitása fertőzetlen és lisztharmattal fertőzött paprikaleveleken.85

24. ábra: Fertőzetlen és paprikalisztharmattal (*Leveillula taurica*) fertőzött, különböző cseresznyepaprika - alanyokra oltott étkezési paprika (cv. Totál) NADPH-oxidáz enzimaktivitása. ‘Szentesi’, ‘Totál’: saját gyökerű növények; Szentesi+Totál, Kalocsai A+Totál, stb.: oltott növények. A fertőzött növényekben a NADPH-oxidáz aktivitását a lisztharmatos inokuláció után 45 nappal mértük.88

25. ábra: A ‘Szentesi’ cseresznyepaprika (*Capsicum. annuum* var. *cerasiforme* cv. Szentesi) lisztharmattal (*Leveillula taurica*) szembeni, oltással átvihető rezisztenciájának markere a szalicilsav felhalmozódása fertőzetlen növényekben. Szabad és kötött szalicilsav (SA) lisztharmatrezisztens (saját gyökerű cv. Szentesi és oltott Szentesi+Totál) és fogékony (saját gyökerű cv. Totál) paprika leveleiben.90

26. ábra: A ‘Szentesi’ cseresznyepaprika (*Capsicum. annuum* var. *cerasiforme* cv. Szentesi) lisztharmattal (*Leveillula taurica*) szembeni, oltással átvihető rezisztenciájának potenciális markere a fokozott mértékű spontán sejtelhalás a fertőzetlen növények leveleiben. Spontán sejtelhalás lisztharmatrezisztens (saját gyökerű cv. Szentesi) és fogékony (saját gyökerű cv. Totál) paprika leveleiben. Az elhalt sejteket Tripán kék-festéssel hívtuk elő. A sötétbarna foltok feltételezhetően az egyes sejtek vakuólumaiban felhalmozódó kalcium-oxalát kristályok jelenlétére utalnak (lásd Weryszko-Chmielewska és Michałojć,2009).92

27. ábra: A ‘Szentesi’ cseresznyepaprika (*Capsicum. annuum* var. *cerasiforme* cv. Szentesi) lisztharmattal (*Leveillula taurica*) szembeni, oltással átvihető rezisztenciájának markere a *CaPR-1* és *CaPR-2* gén fokozott expressziója a fertőzetlen növényekben (A), de nem a lisztharmattal fertőzött paprikában (45 nappal az inokuláció után) (B). Saját gyökerű cv. Szentesi és Szentesi+Totál oltott: lisztharmatrezisztens paprika; saját gyökerű cv. Totál: lisztharmatfogékony paprika. A génexpressziót kvantitatív RT-PCR-rel követtük nyomon (relatív génexpresszió). A génkifejeződés normalizálásához egy paprika-aktin gén (*CaAct*) expresszióját használtuk.94

28. ábra: A ‘Szentesi’ cseresznyepaprika (*Capsicum. annuum* var. *cerasiforme* cv. Szentesi) lisztharmattal (*Leveillula taurica*) szembeni, oltással átvihető rezisztenciájának markere a *CaMlo1* és *CaMlo2* gén csökkent mértékű expressziója a fertőzetlen növényekben (A) és a lisztharmattal fertőzött paprikában (45 nappal az inokuláció után) (B). Saját gyökerű cv. Szentesi és Szentesi+Totál oltott: lisztharmatrezisztens paprika; saját gyökerű cv. Totál: lisztharmatfogékony paprika. A génexpressziót kvantitatív RT-PCR-rel követtük nyomon (relatív génexpresszió). A génkifejeződés normalizálásához egy paprika-aktin gén (*CaAct*) expresszióját használtuk.95

29. ábra: A ‘Szentesi’ cseresznyepaprika (*Capsicum. annuum* var. *cerasiforme* cv. Szentesi) oltással átvihető lisztharmat (*Leveillula taurica*) rezisztenciája biokémiai markereinek (fokozott NADPH-oxidáz aktivitás, fokozott *CaPR-1* és *CaPR-2*, ill.

alacsony *CaMlo1* és *CaMlo2* génexpresszió) öröklődése az oltott rezisztens növények utódaiban („A” oltott növény: 15 utódegyed; „B” oltott növény: 13 utódegyed). A fekete vonallal jelölt utódnövényekben négy, ill. mind az öt marker megnyilvánul. Saját gyökerű ‘Szentesi’ és Szentesi+Totál oltott: liztharmatrezisztens paprika; saját gyökerű ‘Totál’: liztharmatfogékony paprika. A génkifejeződés normalizálásához egy paprika-aktinén (*CaAct*) expresszióját használtuk.98

30. ábra: A ‘Szentesi’ cseresznyepaprika (*Capsicum. annuum* var. *cerasiforme* cv. Szentesi) oltással átvihető liztharmat (*Leveillula taurica*) - rezisztenciája biokémiai markereinek (fokozott NADPH-oxidáz-aktivitás, fokozott *CaPR-1* és *CaPR-2*, ill. alacsony *CaMlo1* és *CaMlo2* génexpresszió) öröklődése a keresztezett saját gyökerű fogékony és rezisztens növények F₁ utódaiban [Totál (♀) x Szentesi (♂)]. A fekete vonallal jelölt utódnövényekben két, három, ill. négy marker is megnyilvánul. Saját gyökerű ‘Szentesi’: liztharmatrezisztens paprika; saját gyökerű ‘Totál’: liztharmat fogékony paprika. A génkifejeződés normalizálásához egy paprika -aktinén (*CaAct*) expresszióját használtuk.100

1. táblázat: Különböző cseresznyepaprika - alanyokra oltott étkezési paprika (cv. Totál) liztharmat-ellenállósága és szuperoxid - felhalmozódása.....87

IRODALOMJEGYZÉK

1. Abd El Rahman, T., El Oirdi, M., Gonzalez-Lamothe, R., Bouarab, K. (2012): Necrotrophic pathogens use the salicylic acid signaling pathway to promote disease development in tomato. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 25, 1584-1593.
2. Able, A.J., (2003): Role of reactive oxygen species in the response of barley to necrotrophic pathogens. *Protoplasma* 221, 137-143
3. Acevedo-Garcia, J., Kusch, S., Panstruga, R. (2014): Magical mystery tour: MLO proteins in plant immunity and beyond. *New Phytologist* 204, 273–281.
4. Ádám A.L., Nagy Z.Á., Kátay G, Mergenthaler, E., Viczián, O. (2018): Signals of systemic immunity in plants: Progress and open questions. *International Journal of Molecular Sciences* 19, 1146.
5. Ádám, A., Deising, H., Barna, B., Gullner, G., Király, Z., Mendgen, K. (1997): Imbalances in free radical metabolism: roles in the induction of hypersensitive response and local acquired resistance of plants. In: K. Rudolph, T. J. Burr, J. W. Mansfield, D. Stead, A. Vivian, J. von Kiezell (eds): *Pseudomonas syringae* Pathovars and Related Pathogens (Developments in Plant Pathology), Kluwer Academic Publishers vol. 9, pp. 111–121.
6. Ádám, A.L., Farkas, T., Somlyai, G., Hevesi, M., Király, Z. (1989): Consequence of $O_2^{\cdot-}$ generation during a bacterially induced hypersensitive reaction in tobacco: deterioration of

- membrane lipids. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 34, 13-26.
7. Agarwal, P., Dabi, M., More, P., Patel, K., Jana, K., Agarwal, P.K. (2016): Improved shoot regeneration, salinity tolerance and reduced fungal susceptibility in transgenic tobacco constitutively expressing *PR-10a* gene. *Frontiers in Plant Science* 7, 217
 8. Al-Mawaali, Q.S., Al-Sadi, A.M., Khan, A.J., Al-Hasani, H.D. Deadman, M.K. (2012): Response of cucurbit rootstocks to *Pythium aphanidermatum*. *Crop Protection* 42, 64-68.
 9. Alscher, R.G., Erturk, N., Heath, L.S. (2002): Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. *Journal of Experimental Botany* 53, 1331-1341.
 10. Alvarez, M.E. (2000): Salicylic acid in the machinery of hypersensitive cell death and disease resistance. *Plant Mol. Biol.* 44, 429-442.
 11. Alvarez, M.E., Pennell, R.I., Meijer, P.-J., Ishikawa, A., Dixon, R.A., Lamb, C. (1998): Reactive oxygen intermediates mediate a systemic signal network in the establishment of plant immunity. *Cell* 92, 773-784.
 12. An, C., Wang, C., Mou, Z. (2017): The Arabidopsis Elongator complex is required for nonhost resistance against the bacterial pathogens *Xanthomonas citri* subsp. *citri* and *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* NPS3121. *New Phytologist* 214, 1245-1259.

13. Apel, K., Hirt, H. (2004): Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology* 55, 373-399.
14. Arfaoui, A., El Hadramib, A., Daayf, F. (2018): Pre-treatment of soybean plants with calcium stimulates ROS responses and mitigates infection by *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant Physiology and Biochemistry* 122, 121–128.
15. Asai, S., Yoshioka, H. (2009): Nitric oxide as a partner of reactive oxygen species participates in disease resistance to necrotrophic pathogen *Botrytis cinerea* in *Nicotiana benthamiana*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 22, 619-629.
16. Babaeizad, V., Imani, J., Kogel, K.-H., Eichmann, R., Hückelhoven, R. (2009): Over-expression of the cell death regulator BAX inhibitor-1 in barley confers reduced or enhanced susceptibility to distinct fungal pathogens. *Theor. Appl. Gen.* 118, 455-463.
17. Bacsó, R., Hafez, Y.M., Király, Z., Király, L. (2011): Inhibition of virus replication and symptom expression by reactive oxygen species in tobacco infected with *Tobacco mosaic virus*. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica* 46, 1-10.
18. Barna, B., Fodor, J., Harrach, B., Pogány, M., Király, Z. (2012): The Janus face of reactive oxygen species in resistance and susceptibility of plants to necrotrophic and biotrophic pathogens. *Plant Physiology and Biochemistry* 59, 37-43
19. Bell, J.N., Ryder, T.B., Wingate, V.P.M., Bailey, J.A., Lamb, C.J. (1986): Differential accumulation of plant defense gene

- transcripts in a compatible and an incompatible plant-pathogen interaction. *Molecular and Cellular Biology* 6, 1615–1623.
20. 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.
 21. Bendahmane, A., Köhm, B.A., Dedi, C., Baulcombe, D.C. (1995): The coat protein of potato virus X is a strain-specific elicitor of *Rx1*-mediated virus resistance in potato. *Plant Journal* 8, 933–941.
 22. Bendahmane, A., Querci, M., Kanyuka, K., Baulcombe, D.C. (2000): *Agrobacterium* transient expression system as a tool for the isolation of disease resistance genes: application to the *Rx2* locus in potato. *Plant Journal* 21, 73-81.
 23. Bent, A.F., Mackey, D. (2007): Elicitors, effectors, and R genes: the new paradigm and a lifetime supply of questions. *Annual Review of Phytopathology* 45, 399-436.
 24. Berrocal-Lobo, M., Stone, S., Yang, X., Antico, J., Callis, J., Ramonell, K.M., Somerville, S. (2010): ATL9, a RING zinc finger protein with E3 ubiquitin ligase activity implicated in chitin- and NADPH oxidase-mediated defense responses. *PLoS ONE* 5, e14426.
 25. Bestwick, C.S., Brown, I.R., Mansfield, J.W. (1998): Localized changes in peroxidase activity accompany hydrogen peroxide generation during the development of a nonhost hypersensitive reaction in lettuce. *Plant Physiology* 118, 1067–1078.

26. Boller, T., Felix, G.A. (2009): A renaissance of elicitors: perception of microbe-associated molecular patterns and danger signals by pattern-recognition receptors. *Annual Review of Plant Biology* 60, 379-406.
27. Bolwell, G.P., Wojtaszek, P. (1997): Mechanisms for the generation of reactive oxygen species in plant defense: a broad perspective. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 51, 347-366.
28. Braun, U. (2011): The current systematics and taxonomy of the powdery mildews (Erysiphales): an overview. *Mycoscience* 52, 210–212.
29. Braun, U., Cook, R.T.A. (2012): *Taxonomic Manual of the Erysiphales (Powdery Mildews)*. CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, The Netherlands 707 p.
30. Breen, S., Williams, S.J., Outram, M., Kobe, B., Solomon, P.S. (2017): Emerging insights into the functions of pathogenesis-related protein 1. *Trends in Plant Science* 22, 871-879.
31. Brogue, K., Chet, I., Holliday, M., Cressman, R., Biddle, P., Knowlton, S., Mauvais, C.J., Broglie, R. (1991): Transgenic plants with enhanced resistance to the fungal pathogen *Rhizoctonia solani*. *Science* 254, 1194-1197.
32. Büschges, R., Hollricher, K., Panstruga, R., Simons, G., Wolter, M., Frijters, A., van Daelen, R., van der Lee, T., Diergaarde, P., Groenendijk, J., Töpsch, S., Vos, P., Salamini, F., Schulze-Lefert, P. (1997): The barley *Mlo* gene: a novel control element of plant pathogen resistance. *Cell* 88, 695-705.

33. Cadenas, E. (1989): Biochemistry of oxygen-toxicity. Annual Review of Biochemistry 58, 79–110.
34. Cerkauskas, R.F., Buonassisi, A. (2003): First report of powdery mildew of greenhouse pepper caused by *Leveillula taurica* in British Columbia, Canada. Plant Disease 87, 1151-1151.
35. Chamnongpol, S., Willekens, H., Moeder, W., Langebartels, C., Sandermann, H., Van Montagu, M., Inzé, D., Van Camp, W. (1998): Defense activation and enhanced pathogen tolerance induced by H₂O₂ in transgenic tobacco. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 95, 5818-5823.
36. Chapman, S.N., Kavanagh, T.A. and Baulcombe, D.C. (1992): Potato virus X as a vector for gene expression in plants. Plant Journal 2, 549-557.
37. Chen, Z., Silva, H., and Klessig, D. (1993): Active oxygen species in the induction of plant acquired resistance by salicylic acid. Science 262, 1883-1885.
38. Cole, A.B., Király, L., Lane, L.C., Wiggins, E.B., Ross, K., Schoelz, J.E. (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.
39. Cole, A.B., Király, L., Ross, K., Schoelz, J.E. (2001): Uncoupling resistance from cell death in the hypersensitive response of *Nicotiana* species to *Cauliflower mosaic virus* infection. Molecular Plant-Microbe Interactions 14, 31-41.

40. Coll, N.S., Vercammen, D., Smidler, A., Clover, C., van Breusegem, F., Dangl, J.L., Epple, P. (2010): Arabidopsis Type I metacaspases control cell death. *Science* 330, 1393–1397.
41. Consonni, C., Humphry, M.E., Hartmann, H.A., Livaja, M., Durner, J., Westphal, L., Vogel, J., Lipka, V., Kemmerling, B., Schulze-Lefert, P., Somerville, S.C., Panstruga, R. (2006): Conserved requirement for a plant host cell protein in powdery mildew pathogenesis. *Nature Genetics* 38, 716-20.
42. Cooley, M. B., Pathirana, S., Wu, H.-J., Kachroo, P., Klessig, D. F. (2000): Members of the Arabidopsis HRT/RPP8 family of resistance genes confer resistance to both viral and oomycete pathogens. *Plant Cell* 12, 663-676.
43. Cutt, J.R., Harpster, M.H., Dixon, D.C., Carr, J.P., Dunsmuir, P., Klessig, D.F. (1989): Disease response to tobacco mosaic virus in transgenic tobacco plants that constitutively express the pathogenesis-related PR1b gene. *Virology* 173, 89-97.
44. Csilléry, G., Tóbiás, I., Ruskó, J. (1983): A new pepper strain of tomato mosaic virus. *Acta Phytopathologica Academiae Scientiarum Hungaricae* 18, 195-200.
45. Da Graça, J.V., Martin, M.M. (1976): An electron microscope study of the hypersensitive tobacco infected with tobacco mosaic virus at 32°C. *Physiological Plant Pathology* 8, 215-219.
46. Dangl, J.L., Horvath, D.M., Staskawicz, B.J. (2013): Pivoting the plant immune system from dissection to deployment. *Science* 341, 746-751.

47. Deák, M., Horváth, G.V., Davletova, S., Török, K., Sass, L., Vass, I., Barna, B., Király Z., Dudits, D. (1999): Plants ectopically expressing the iron-binding protein, ferritin, are tolerant to oxidative damage and pathogens. *Nature Biotechnology* 17, 192-196.
48. Dean, J.D., Goodwin, P.H., Hsiang, T. (2005): Induction of glutathione S-transferase genes of *Nicotiana benthamiana* following infection by *Colletotrichum destructivum* and *C. orbiculare* and involvement of one in resistance. *J. Exp. Bot.* 56, 1525-1533.
49. Dean, J.V., Shah, R.P., Mohammed, L.A. (2003): Formation and vacuolar localization of salicylic acid glucose conjugates in soybean cell suspension cultures. *Physiologia Plantarum* 118, 328-336.
50. Delaney, T.P., Uknes, S., Vernooij, B., Friedrich, L., Wyman, K., Negrotto, D., Gaffney, T., Gut-Rella, M., Kessman, H., Ward, E., Ryals, J.A. (1994): A central role of salicylic acid in plant disease resistance. *Science* 226, 1247-1250.
51. Doke, N. (1983a) Generation of superoxide anion by potato tuber protoplasts during the hypersensitive response to hyphal cell wall components of *Phytophthora infestans* and specific inhibition of the reaction by suppressors of hypersensitivity. *Physiological Plant Pathology* 23, 359-367.
52. Doke, N. (1983b): Involvement of superoxide anion generation in the hypersensitive response of potato tuber tissues to infection with an incompatible race of *Phytophthora infestans* and to the

- hyphal wall components. *Physiological Plant Pathology* 23, 345-357.
53. Doke, N. (1985): NADPH-dependent $O_2^{\cdot-}$ generation in membrane fractions isolated from wounded potato tubers inoculated with *Phytophthora infestans*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 27, 311-322.
54. Doke, N., Miura, Y. (1995): In-vitro activation of NADPH-dependent $O_2^{\cdot-}$ generating system in a plasma membrane-rich fraction of potato tuber tissues by treatment with an elicitor from *Phytophthora infestans* or with digitonin. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 46, 17-28.
55. Doke, N., Ohashi, Y. (1988): Involvement of an $O_2^{\cdot-}$ generating system in the induction of necrotic lesions on tobacco leaves infected with tobacco mosaic virus. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 32, 163-175.
56. Dorey, S., Baillieul, F., Saindrenan, P., Fritig, B., Kaufmann, S. (1998): Tobacco class I and II catalases are differentially expressed during elicitor-induced hypersensitive cell death and localized acquired resistance. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 11, 1102-1109.
57. Dubiella, U., Seybold, H., Durian, G., Komandera, E., Lassiga, R., Wittea, C.-P., Schulze, W.X., Romeis, T. (2013): Calcium-dependent protein kinase/NADPH oxidase activation circuit is required for rapid defense signal propagation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110, 8744-8749.

58. Durner, J., Klessig, D.F. (1995): Inhibition of ascorbate peroxidase by salicylic acid and 2,6-dichloroisonicotinic acid, two inducers of plant defense responses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 92, 13-126.
59. Eichmann, R., Bischof, M., Weis, C., Shaw, J., Lacomme, C., Schweizer, P., Duchkov, D., Hensel, G., Kumlehn, J., Hückelhoven, R. (2010): *BAX INHIBITOR-1* is required for full susceptibility of barley to powdery mildew. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 23, 1217-1227.
60. Elad, Y., Messika, Y., Brand, M., Rav David, D., Sztejnberg, A. (2007): Effect of microclimate on *Leveillula taurica* powdery mildew of sweet pepper. *Phytopathology* 97, 813–824.
61. Elstner E.F. (1982): Oxygen activation and oxygen-toxicity. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 33, 73–96.
62. El-Zahaby, H.M., Gullner, G., Király, Z. (1995): Effects of powdery mildew infection of barley on the ascorbate-glutathione cycle and other antioxidants in different host-pathogen interactions. *Phytopathology* 85:1225-1230.
63. El-Zahaby, H.M., Hafez, Y.M., Király, Z. (2004): Effect of reactive oxygen species on plant pathogens in planta and on disease symptoms. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica* 39, 325-345.
64. Eyal, Y., Sagee, O., Fluhr, R. (1992): Dark-induced accumulation of a basic pathogenesis-related (PR-1) transcript and a light

- requirement for its induction by ethylene. *Plant Mol. Biol.* 19, 589-599.
65. Farkas, G., Király, Z., Solymosi, F. (1960): Role of oxidative metabolism in the localization of plant viruses. *Virology* 12, 408-421.
66. Flor, H.H. (1971): Current status of the gene for gene concept. *Annual Review of Phytopathology* 9, 275-296.
67. Fodor, J., Gullner, G., Ádám, A.L., Barna, B., Kőmives, T., Király, Z. (1997): Local and systemic responses of antioxidants to tobacco mosaic virus infection and to salicylic acid. *Plant Physiology* 114, 1443-1451.
68. Fodor, J., Hideg, É., Kecskés, A., Király, Z. (2001): In vivo detection of tobacco mosaic virus-induced local and systemic oxidative burst by electron paramagnetic resonance spectroscopy. *Plant and Cell Physiol.* 42, 775-779.
69. Fu, Z.Q., Dong, X. (2013): Systemic acquired resistance: turning local infection into global defense. *Annual Review of Plant Biology* 64, 839–863.
70. Gaffney, T., Friedrich, L., Vernooij, B., Negrotto, D., Nye, G., Uknes, S., Ward, E., Kessman, H., Ryals, J. (1993): Requirement of salicylic acid for the induction of systemic acquired resistance. *Science* 261, 754-756.
71. Galal, A. A., Ádám, A. L., Érsek, T., Király, Z. (1993): Inhibitory effect of O₂- anion generated *in vitro* on *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. *Acta Phytopathol. Entomol. Hung.* 28, 185-194.

72. Gassmann, W., Bhattacharjee, S. (2012): Effector-triggered immunity signaling: from gene-for-gene pathways to protein-protein interaction networks. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 25, 862–868.
73. Ghanta S., Bhattacharyya D., Sinha R., Banerjee A., Chattopadhyay S. (2011): *Nicotiana tabacum* overexpressing γ -ECS exhibits biotic stress tolerance likely through NPR1-dependent salicylic acid-mediated pathway. *Planta* 233, 895-910.
74. Gianinazzi, S., Martin, C., Valée, J-C. (1970): Hypersensibilité aux virus, temperature et protéines solubles chez le *Nicotiana Xanthi* n.c. Apparition de nouvelles macromolécules lors de la répression de la synthèse virale. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 270D, 2383-2386.
75. Gill, U.S., Lee, S., Mysore, K.S. (2015): Host versus nonhost resistance: distinct wars with similar arsenals. *Phytopathology* 105, 580-587.
76. Gilroy, S., Suzuki, N., Miller, G., Choi, W.G., Toyota, M., Devireddy, A.R., Mittler, R. (2014): A tidal wave of signals: calcium and ROS at the forefront of rapid systemic signaling. *Trends Plant Sci.* 19, 623-630.
77. Glazebrook, J. (2005): Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens. *Annual Review of Phytopathology* 43, 205–227.
78. Glazener, J.A., Orlandi, E.W., Baker, C.J. (1996): The active oxygen response of cell suspensions to incompatible bacteria is

- not sufficient to cause hypersensitive cell death. *Plant Physiology*, 110, 759-763.
79. Glits, M., Folk, Gy. (2000): *Kertészeti növénykórtan. Mezőgazda kiadó, Budapest. 280. p.*
80. Golecki, B., Schulz, A., Carstens-Behrens, U., Kollmann, R. (1998): Evidence for graft transmission of structural phloem proteins or their precursors in heterografts of *Cucurbitaceae*. *Planta* 206, 630–640.
81. Goodman, R.M., Ross, A.F. (1974): Enhancement of potato virus X synthesis in doubly infected tobacco occurs in doubly infected cells. *Virology* 58, 16–24.
82. Goodman, R.N., Király, Z., Wood, K.R. (1986): *The Biochemistry and Physiology of Plant Disease. Univ. Missouri Press, Columbia, MO. 433 p.*
83. Goodman, R.N., Novacky, A.J. (1994): *The Hypersensitive Reaction in Plants to Pathogens. APS Press, St. Paul, MN.*
84. Goulden, M.G., Baulcombe, D.C. (1993): Functionally homologous host components recognize potato virus X in *Gomphrena globosa* and potato. *Plant Cell* 5, 921-930.
85. Govrin, E.M., Levine, A. (2000): The hypersensitive response facilitates plant infection by the necrotrophic pathogen *Botrytis cinerea*. *Current Biology* 10, 751-757.
86. Grant, M., Lamb, C. (2006): Systemic immunity. *Current Opinion in Plant Biology* 9, 414-420.

87. Griffith, O.W. (1980): Determination of glutathione and glutathione disulfide using glutathione reductase and 2-vinylpyridine. *Anal. Biochem.* 106, 207-212.
88. Groom, Q.J., Torres, M.A., Fordham-Skelton, A:P., Hammond-Kossack, K.E., Robinson, N.J., Jones, J.D.G. (1996): RbohA, a rice homologue of the mammalian *gp91phox* respiratory burst oxidase gene. *Plant Journal* 10, 515-522.
89. Guan, W., Zhao, X. (2012): Defense mechanisms involved in disease resistance of grafted vegetables. *HortScience* 47, 164–170.
90. 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.
91. Gullner, G., Tóbiás, I., Fodor, J., Kőmives, T. (1999): Elevation of glutathione level and activation of glutathione-related enzymes affect virus infection in tobacco. *Free Rad. Res.* 31, S155-161.
92. Hafez, Y.M., Király, Z. (2003): Role of hydrogen peroxide in symptom expression of barley susceptible and resistant to powdery mildew. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica* 38, 227-236.
93. Hajimorad, M.R., Hill, J.H. (2001): Rsv1-mediated resistance against Soybean mosaic virus-N is hypersensitive response-independent at inoculation site, but has the potential to initiate a hypersensitive response-like mechanism. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 14, 587-598.

94. Halliwell, B. (2006): Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiology* 141, 312–322.
95. Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. (2015): *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press Inc., New York, 944 p.
96. Han, YI., Chaouch, S., Mhamdi, A., Queval, G., Zechmann, B., Noctor, G. (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
97. Hanqing, F., Kun, S., Mingquan, L., Hongyu, L., Xin, L., Yan, L., Yifeng, W. (2010): The expression, function and regulation of mitochondrial alternative oxidase under biotic stresses. *Mol. Plant Pathol.* 11, 429-440.
98. Harrach, B.D, Fodor, J., Pogány, M., Preuss, J., Barna, B. (2008): Antioxidant, ethylene and membrane leakage responses to powdery mildew infection of near-isogenic barley lines with various types of resistance. *European Journal of Plant Pathology* 121, 21-33.
99. Harrach, B.D., Baltruschat, H., Barna, B., Fodor, J., Kogel, K.H. (2013): The mutualistic fungus *Piriformospora indica* protects barley roots from a loss of antioxidant capacity caused by the necrotrophic pathogen *Fusarium culmorum*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 26, 599-605.
100. He, Y., Zhu, Z., Yang, J., Ni, X., Zhu, B. (2009): Grafting increases the salt tolerance of tomato by improvement of

- photosynthesis and enhancement of antioxidant enzymes activity. *Environmental and Experimental Botany* 66, 270–278.
101. Heath, M. C. (2000): Nonhost resistance and nonspecific plant defenses. *Current Opinion in Plant Biology* 3, 315-319.
 102. Heffer, V., Johnson, K.B., Powelson, M.L., Shishkoff, N. (2006): Identification of powdery mildew fungi anno 2006. *The Plant Health Instructor* doi: 10.1094/PHI-I-2006-0706-01.
 103. Hemenway, C., Fang, R.-X., Kanlewski, W.K., Chua, N.-H., Tumer, N.E. (1988): Analysis of the mechanism of protection in transgenic plants expressing the potato virus X coat protein or its antisense RNA. *The EMBO Journal* 7, 1273-1280.
 104. Hennig, J., Malamy, J., Gryniewicz, G., Indulski, J., Klessig, D.F. (1993): Interconversion of the salicylic acid signal and its glucoside in tobacco. *Plant Journal* 4, 593-600.
 105. Hernández, J.A., Gullner, G., Clemente-Moreno, M.J., Künstler, A., Juhász, C., Díaz-Vivancos, P., Király, L. (2015): Oxidative stress and antioxidative responses in plant-virus interactions. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 94, 134-148.
 106. Herrera-Vásquez, A., Salinas, P., Holuigue, L. (2015): Salicylic acid and reactive oxygen species interplay in the transcriptional control of defense genes expression. *Frontiers in Plant Science* 6, 171.
 107. Hewitt, H.G. (1998): *Fungicides in crop protection*. CABI Publishing, Wallingford, UK, pp. 221.
 108. Holmes, F.O. (1938): Inheritance of resistance to tobacco mosaic virus disease in tobacco. *Phytopathology* 28:553-561.

109. Horváth, J., Gáborjányi, R. (1999): Növényvírusok és virológiai vizsgálati módszerek. Mezőgazda Kiadó, Budapest.
110. Höller, K., Király, L., Künstler, A., Müller, M., Gullner, G., Fattinger, M., Zechmann, B. (2010): Enhanced glutathione metabolism is correlated with sulfur induced resistance in *Tobacco mosaic virus*-infected genetically susceptible *Nicotiana tabacum* plants. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 23, 1448-1459.
111. Hull, R. (2014): *Plant Virology*. Academic Press, Fifth Edition, 1118 p.
112. Hüchelhoven, R., Dechert, C., Kogel, K-H. (2001): Non-host resistance of barley is associated with a hydrogen peroxide burst at sites of attempted penetration by wheat powdery mildew fungus. *Molecular Plant Pathology* 2, 199-205.
113. Hüchelhoven, R., Dechert, C., Kogel, K-H. (2003): Overexpression of barley BAX inhibitor 1 induces breakdown of *mlo*-mediated penetration resistance to *Blumeria graminis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100, 555-5560.
114. Hüchelhoven, R., Fodor, J., Preis, C., Kogel, K-H. (1999): Hypersensitive cell death and papilla formation in barley attacked by the powdery mildew fungus are associated with H₂O₂ but not with salicylic acid accumulation. *Plant Physiol.* 119, 1251-1260.
115. Hüchelhoven, R., Kogel, K-H. (1998): Tissue-specific superoxide generation at interaction sites in resistant and susceptible near-isogenic barley lines attacked by the powdery mildew fungus (*Erysiphe graminis* fsp. *hordei*). *Mol. Plant-Microbe Interact.* 11, 292-300.

116. Jabs, T., Tschöpe, M., Colling, C., Hahlbrock, K., Scheel, D. (1997): Elicitor-stimulated ion fluxes and O_2^- from the oxidative burst are essential components in triggering defense gene activation and phytoalexin biosynthesis in parsley. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94, 4800-4805.
117. Jing, X., Wang, H., Gong, B., Liu, S., Wei, M., Ai, X., Li, Y., Shi, Q. (2018): Secondary and sucrose metabolism regulated by different light quality combinations involved in melon tolerance to powdery mildew. *Plant Physiology and Biochemistry* 124, 77-87.
118. Jones, A.M., Dangl, J.L. (2006): The plant immune system. *Nature* 444, 323-329.
119. Jordan, C. M., Wakeman, R. J., DeVay, J. E. (1992): Toxicity of free riboflavine and methionine riboflavin solutions to *Phytophthora infestans* and the reduction of potato late blight disease. *Canadian Journal of Microbiology* 38, 1108-1111.
120. Jørgensen, J.H. (1992): Discovery, characterization and exploitation of *Mlo* powdery mildew resistance in barley. *Euphytica* 63, 141-152.
121. Kadota, Y., Shirasu, K., Zipfel, C. (2015): Regulation of the NADPH oxidase RBOHD during plant immunity. *Plant Cell Physiol.* 56, 1472–1480.
122. Kehr, J., Buhtz, A. (2008): Long distance transport and movement of RNA through the phloem. *J. Expt. Bot.* 59, 85–92.
123. Keller, T., Damude, H.G., Werner, D., Doerner, P., Dixon, R.A., Lamb, C. (1998): A plant homologue of the neutrophyl NADPH

- oxidase *gp91^{phox}* subunit gene encodes a plasma membrane protein with Ca²⁺ binding motifs. *Plant Cell* 10, 255-266.
124. King, S.R., Davis, A.R., Liu, W., Levi, A. (2008): Grafting for disease resistance. *HortScience* 43, 1673–1676.
125. Király, L., Hafez, Y.M., Fodor, J., Király, Z. (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.
126. Király, L., Kumar, J., Hüchelhoven, R., Kogel, K.-H. (2002a): *mlo5*, a resistance gene effective against a biotrophic pathogen (*Blumeria graminis* f.sp. *hordei*) confers enhanced susceptibility of barley to the necrotrophic fungus *Bipolaris sorokiniana* (teleomorph: *Cochliobolus sativus*). *Acta Biol. Szeged.* 46, 135-136.
127. Király, L., Künstler, A., Angel, C., Schoelz, J. (2012a): The virus resistance gene *N* functions as a susceptibility factor in *Nicotiana benthamiana* during infection by *Tobacco necrosis virus*. FESPB-EPSO Plant Biology Congress, Freiburg, Germany. Abstract, p. 703, poster P-10-017.
128. Király, L., Künstler, A., Bacsó, R., Hafez, Y.M., Király, Z. (2013): Similarities and differences in plant and animal immune systems – What is inhibiting pathogens? *Acta Phytopathol. Entomol. Hung.* 48, 187-205.
129. Király, L., Künstler, A., Höller, K., Fattinger, M., Juhász, Cs., Müller, M., Gullner, G., Zechmann, B. (2012b): 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.
130. Király, Z., Barna, B., Érsek, T. (1972): Hypersensitivity as a consequence, not the cause of plant resistance to infection. *Nature* 239, 456-458.
 131. Király, Z., Barna, B., Kecskés, A., Fodor, J. (2002b): Down-regulation of antioxidative capacity in a transgenic tobacco which fails to develop acquired resistance to necrotization caused by tobacco mosaic virus. *Free Rad. Res.* 36, 981-991.
 132. Király, Z., El-Zahaby, H., Galal, A., Abdou, S., Ádám. A., Barna, B., Klement, Z. (1993): Effect of oxy free radicals on plant pathogenic bacteria and fungi and on some plant diseases. In: Mózsik Gy, Emerit I, Fehér J, Matkovics B, Vincze Á (eds.): *Oxygen Free Radicals and Scavengers in the Natural Sciences.* Akad. Kiadó, Budapest, pp. 9-19.
 133. Klapheck, S., Zimmer, I., Cosse, H. (1990): Scavenging of hydrogen peroxide in the endosperm of *Ricinus communis* by ascorbate peroxidase. *Plant Cell Physiol.* 31, 1005-1013.
 134. Klement, Z. (1982): Hypersensitivity. In: M.S. Mount, G.H. Lacy (eds): *Phytopathogenic prokaryotes II.* Academic Press, New York, pp. 149-177.
 135. Kliebenstein, D.J., Monde, R.A., Last, R.L. (1998): Superoxide dismutase in *Arabidopsis*: an eclectic enzyme family with disparate regulation and protein localization. *Plant Physiology* 118, 637-650.

136. Koga, H., Bushnell, W.R., and Zeyen, R.J. (1990): Specificity of cell type and timing of events associated with papilla formation and the hypersensitive reaction in leaves of *Hordeum vulgare* attacked by *Erysiphe graminis* f.sp. *hordei*. *Canadian Journal of Botany* 68, 2344-2352.
137. Kuć, J. (1982): Induced immunity to plant disease. *Bioscience* 32, 854-860.
138. Künstler, A., Bacsó, R., Albert, R., Barna, B., Király, Z., Hafez Y.M., Fodor J., Schwarczinger, I., Király L. (2018): Superoxide (O_2^-) accumulation contributes to symptomless (type I) nonhost resistance of plants to biotrophic pathogens, *Plant Physiology and Biochemistry*, 128, 115–125.
139. Künstler, A., Bacsó, R., Gullner, G., Hafez, Y.M., Király, L. (2016): Staying alive - is cell death dispensable for plant disease resistance during the hypersensitive response? *Physiological and Molecular Plant Pathology* 93, 75–84.
140. Künstler, A., Bacsó, R., Hafez, Y.M., Király, L. (2015): Reactive oxygen species and plant disease resistance. In: D.K. Gupta, J.M. Palma, F.J. Corpas (eds): *Reactive Oxygen Species and Oxidative Damage in Plants Under Stress*. Springer International Publishing, Switzerland pp. 269-303.
141. Künstler, A., Hafez, Y.M., Király, L. (2007): Transient suppression of a catalase and an alternative oxidase gene during virus-induced local lesion formation (hypersensitive response) is independent of the extent of leaf necrotization. *Acta Phytopathol. Entomol. Hung.* 42, 185–196.

142. Kwak, J-S., Han, K.S., Lee, J.H., Lee, K., Chung, W.S., Mysore, K.S., Kwon, J.S., Kim, H.K., Bae, D-W. (2009): Different oxidative burst patterns occur during host and nonhost resistance responses triggered by *Xanthomonas campestris* in pepper. *Journal of Plant Biotechnology* 36, 244-254.
143. Lacombe, S., Rougon-Cardoso, A., Sherwood, E., Peeters, N., Dahlbeck, D., van Esse, H.P., Smoker, M., Rallapalli, G., Thomma, B.P.H.J., Staskawicz, B., Jones, J.D.G., Zipfel, C. (2010): Interfamily transfer of a plant pattern-recognition receptor confers broad-spectrum bacterial resistance. *Nature Biotechnology* 28, 365-369.
144. Lagrimini, L.M., Burkhart, W., Moyer, M., Rothstein, S. (1987): Molecular cloning of complementary DNA encoding the lignin-forming peroxidase from tobacco: molecular analysis and tissue-specific expression. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 84, 7542–7546.
145. Lantos, F. (2011): A kalciumhiány kialakulásának és hiánytüneteinek vizsgálata a paprikatermesztésben. Doktori (Ph.D.) értekezés, Szent István Egyetem, Gödöllő. 118 p.
146. Lantos, F., Yildirim, I., Albert, R. (2012): The role of the stock effect in the development of hindering of the paprika powdery mildew (*Leveillula taurica* Arn.) infection. *Review on Agriculture and Rural Development*, 342-345.
147. Laurie-Berry, N., Joardar, V., Street, I.H., Kunkel, B.N. (2006): The *Arabidopsis thaliana* JASMONATE INSENSITIVE 1 gene is required for suppression of salicylic acid-dependent defenses

- during infection by *Pseudomonas syringae*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 19, 789-800
148. Lee, H., Raskin, I. (1999): Purification, cloning, and expression of a pathogen inducible UDP-glucose:salicylic acid glucosyltransferase from tobacco. *The Journal of Biological Chemistry* 274, 36637–36642.
 149. Lee, H.A., Lee, H.Y., Seo, E., Lee, J., Kim, S.B., Oh, S., Choi, E., Choi, E., Lee, S.E., Choi, D. (2017): Current understandings of plant nonhost resistance. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 30, 5-15.
 150. Lee, Y.H., Yoon, I.S., Suh, S.C., Kim, H.I. (2002): Enhanced disease resistance in transgenic cabbage and tobacco expressing a glucose oxidase gene from *Aspergillus niger*. *Plant Cell Reports* 20, 857-863.
 151. Lehmann, S., Serrano, M., L'Haridon, F., Tjamos, S.E., Mettraux, J.-P. (2015): Reactive oxygen species and plant resistance to fungal pathogens. *Phytochemistry* 112, 54–62.
 152. Leon, J., Lawton, M.A., Raskin, I. (1995): Hydrogen peroxide stimulates salicylic acid biosynthesis in tobacco, *Plant Physiology* 108, 1673-1678.
 153. Levine, A., Tenhaken, R., Dixon, R., Lamb, C. (1994): H₂O₂ from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response. *Cell* 79, 583-593.
 154. Linthorst, H.J.M., Meuwissen, R.L.J., Kauffmann, S., Bol, J.F. (1989): Constitutive expression of pathogenesis-related proteins

- PR-1*, *GRP*, and *PRS* in tobacco has no effect on virus infection. *Plant Cell* 1, 285-291.
155. Liu, L., Zhang, Z., Zhao, M., Wang, J., Lin, H., Shen, Y., Pan, G. (2011): Molecular cloning and characterization of pathogenesis-related protein 5 in *Zea mays* and its antifungal activity against *Rhizoctonia solani*. *African Journal of Biotechnology* 10, 19286-19293.
156. Liu, P-P., Bhattacharjee, S., Klessig, D.F., Moffett, P. (2010): Systemic acquired resistance is induced by *R* gene-mediated responses independent of cell death. *Molec. Plant Pathol.* 11, 155–160.
157. Livak, K.J., Schmittgen, T.D. (2001): Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. *Methods* 25, 402–408.
158. Lough, T.J., Lucas, W.J. (2006): Integrative plant biology: Role of phloem long-distance macromolecular trafficking. *Annu. Rev. Plant Biol.* 57, 203–232.
159. Louws, F.J., Rivard, C.L., Kubota, C. (2010): Grafting fruiting vegetables to manage soilborne pathogens, foliar pathogens, arthropods and weeds. *Scientia Horticulturae* 127, 127–146.
160. Malamy, J., Carr, J.P., Klessig, D.F. and Raskin, I. (1990): Salicylic acid: A likely endogenous signal in the resistance response of tobacco to viral infection. *Science* 250, 1002-1004.
161. Manandhar, H.K., Mathur, S.B., Smedegaard-Petersen, V., Thordal-Christensen, H. (1999): Accumulation of transcripts of pathogenesis-related proteins and peroxidase in rice plants

- triggered by *Pyricularia oryzae*, *Bipolaris sorokiniana* and u.v. light. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 55, 289-295.
162. Manohar, M., Tian, M., Moreau, M., Park, S.W., Choi, H.W., Fei, Z., Friso, G., Asif, M., Manosalva, P., von Dahl, C.C., Shi, K., Ma, S., Dinesh-Kumar, S.P., O'Doherty, I., Schroeder, F.C., van Wijk, K.J., Klessig, D.F. (2015): Identification of multiple salicylic acid-binding proteins using two high throughput screens, *Frontiers in Plant Science* 5, 777.
163. Marathe, R., Anandalakshmi, R., Liu, Y., Dinesh-Kumar, S.P. (2002): The tobacco mosaic virus resistance gene, *N*. *Molecular Plant Pathology* 3, 167–172.
164. Marino D., Dunand C., Puppo A., Pauly N. (2012): A burst of plant NADPH oxidases. *Trends in Plant Science* 17, 9-15.
165. Mauch, F., Dudler, R. (1993): Differential induction of distinct glutathione-S-transferases of wheat by xenobiotics and by pathogen attack. *Plant Physiol.* 102, 1193-1201.
166. Mellersh, D.G., Foulds, I.V., Higgins, V.J., Heath, M.C. (2002): H₂O₂ plays different roles in determining penetration failure in three diverse plant-fungal interactions. *Plant Journal* 29, 257-268.
167. Métraux, J.-P., Signer, H., Ryals, J., Ward, E., Wyss-benz, M., Gaudin, J., Raschdorf, K., Schmidt, E., Blum, W., Inverardi, B. (1990): Increase in salicylic acid at the onset of systemic acquired resistance in cucumber. *Science* 250, 1004-1006.
168. Meuwly, P., Métraux, J.-P. (1993): *Ortho*-anisic acid as internal standard for the simultaneous quantitation of salicylic acid and its

- putative biosynthetic precursors in cucumber leaves. *Anal. Biochem.* 214, 500-505.
169. Miller, A.F. (2012): Superoxide dismutases: ancient enzymes and new insights. *FEBS Letters*, 586, 585-595.
170. Miller, G., Schlauch, K., Tam, R., Cortes, D., Torres, M.A., Shulaev, V., Dangl, J., Mittler, R. (2009): The plant NADPH oxidase RBOHD mediates rapid systemic signaling in response to diverse stimuli. *Science Signaling* 2, ra45.
171. Mittler, R., Feng, X., Cohen, M. (1998): Post-transcriptional suppression of cytosolic ascorbate peroxidase expression during pathogen-induced programmed cell death in tobacco. *Plant Cell* 10, 461-473.
172. Mittler, R., Vanderauwera, S., Suzuki, N., Miller, G., Tognetti, V.B., Vandepoele, K., Gollery, M., Shulaev, V., Van Breusegem, F. (2011): ROS signaling: the new wave? *Trends Plant Sci.* 16, 300-309.
173. Mizuno, M., Tada, Y., Uchii, K., Kawakami, S. and Mayama, S. (2005): Catalase and alternative oxidase cooperatively regulate programmed cell death induced by β -glucan elicitor in potato suspension cultures. *Planta*, 220, 849-853.
174. Moeder, W., Yoshioka, K., Klessig, D.F. (2005): Involvement of the small GTPase Rac in the defense responses of tobacco to pathogens. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 18, 116-124.
175. Moffett, P., Farnham, G., Peart, J.R., Baulcombe, D.C. (2002): Interaction between domains of a plant NBS-LRR protein in disease resistance-related cell death. *EMBO J*, 21, 4511-4519.

176. Molnar, A., Melnyk, C.W., Bassett, A., Hardcastle, T.J., Dunn, R., Baulcombe, D.C. (2010): Small silencing RNAs in plants are mobile and direct epigenetic modification in recipient cells. *Science* 328, 872-875.
177. Mou, Z., Fan, W., Dong, X. (2003): Inducers of plant systemic acquired resistance regulate NPR1 function through redox changes. *Cell* 113, 935-944.
178. Mudge, K., Janick, J., Scofield, S., Goldschmidt, E.E. (2009): A history of grafting. *Hortic. Rev.* 35, 437–493.
179. Mysore, K.S., Ryu, C-M. (2004): Nonhost resistance: how much do we know? *Trends in Plant Science* 9, 97-104.
180. Neuenschwander, U., Vernooij, B., Friedrich, L., Uknes, S., Kessman, H., and Ryals, J. (1995): Is hydrogen peroxide a second messenger of salicylic acid in systemic acquired resistance? *Plant Journal* 8, 227-233.
181. Nicaise, V. (2014): Crop immunity against viruses: outcomes and future challenges. *Frontiers in Plant Science* 5, 660
182. Nürnberger, T., Lipka, V. (2005): Non-host resistance in plants: new insights into an old phenomenon. *Molecular Plant Pathology* 6, 335-345.
183. O'Brien, J.A., Daudi, A., Butt, V.S., Bolwell, G.P. (2012): Reactive oxygen species and their role in plant defence and cell wall metabolism. *Planta* 236, 765-779.
184. Ogawa, K.I., Kanematsu, S., Asada, K. (1996): Intra-and extra-cellular localization of “cytosolic” CuZn-superoxide dismutase in

- spinach leaf and hypocotyl. *Plant and Cell Physiology*, 37, 790-799.
185. Ombódi, A. (2005): Az oltás elméleti és gyakorlati szerepe a dinnyetermesztésben. *Hajtatás, korai termesztés*, 36, 9-12.
 186. Padgett, H.S., Beachy, R.N. (1993): Analysis of a tobacco mosaic virus strain capable of overcoming N gene-mediated resistance. *Plant Cell* 5:577-586.
 187. Park C.-J., Kim K.-J., Shin R., Park J.M., Shiny-C., Peak K-H. (2004): Pathogenesis related protein 10 isolated from hot pepper functions as a ribonuclease in an antiviral pathway. *Plant Journal* 37, 186-198.
 188. Park, S-W., Kaimoyo, E., Kumar, D., Mosher, S., Klessig, D.F. (2007): Methyl salicylate is a critical mobile signal for plant systemic acquired resistance. *Science* 318, 113-116.
 189. Pastor, V., Luna, E., Mauch-Mani, B., Ton, J., Flors, V. (2013): Primed plants do not forget. *Environmental and Experimental Botany* 94, 46-56.
 190. Pastori, G.M., Foyer, C.H. (2002): Common components, networks, and pathways of cross-tolerance to stress. The central role of “redox” and abscisic acid-mediated control. *Plant Physiology*, 129, 460-468.
 191. Piffanelli, P., Ramsay, L., Waugh, R., Benabdelmouna, A., D’Hont, A., Hollricher, K., Jorgensen, J.H., Schulze-Lefert, P., Panstruga, R. (2004): A barley cultivation-associated polymorphism conveys resistance to powdery mildew. *Nature* 430, 887–891.

192. Piffanelli, P., Zhou, F., Casais, C., Orme, J., Schaffrath, U., Collins, N., Panstruga, R., Schulze-Lefert, P. (2002): The barley *MLO* modulator of defense and cell death is responsive to biotic and abiotic stress stimuli. *Plant Physiol.* 129, 1076-1085.
193. Pogány, M., von Rad, U., Grün, S. Dongó, A., Pintye, A., Simoneau, P., Bahnweg, G., Kiss, L., Barna, B., Durner, J. (2009): Dual roles of reactive oxygen species and NADPH oxidase RBOHD in an *Arabidopsis-Alternaria* pathosystem. *Plant Physiology* 151, 1459-1475.
194. Powell-Abel, P., Nelson, R.S., De, B., Hoffman, N., Rogers, S.G., Fraley, R.T., Beachy, R.N. (1986): Delay of disease development in transgenic plants that express the tobacco mosaic virus coat protein gene. *Science* 232, 738-743.
195. Proels, R.K., Oberhollenzer, K., Pathuri, I.P., Hensel, G., Kumlehn, J., Hückelhoven, R. (2010): *RBOHF2* of barley is required for normal development of penetration resistance to the parasitic fungus *Blumeria graminis* f. sp. *hordei*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 23, 1143-1150.
196. Rauscher, M., Ádám, A.L., Wirtz, S., Guggenheim, R., Mendgen, K., Deising, H.B. (1999): PR-1 protein inhibits the differentiation of rust infection hyphae in leaves of acquired resistant broad bean. *Plant Journal* 19, 625-633.
197. Rayapuram, C., Wu, J., Haas, C., Baldwin, I.T. (2008): *PR-13/Thionin* but not *PR-1* mediates bacterial resistance in *Nicotiana attenuata* in nature, and neither influences herbivore resistance. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 21, 988–1000.

198. Reiss, E., Bryngelsson, T. (1996): Pathogenesis-related proteins in barley leaves, induced by infection with *Drechslera teres* (Sacc.) Shoem. and by treatment with other biotic agents. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 49, 331-341.
199. Ross, A.F. (1961a): Localized acquired resistance to plant virus infection in hypersensitive hosts. *Virology* 14, 329-339.
200. Ross, A.F. (1961b): Systemic acquired resistance induced by localized virus infections in plants. *Virology* 14, 340-358.
201. Ryals, J.A., Neuenschwander, U.H., Willits, M.G., Molina, A., Steiner, H.Y., Hunt, M.D. (1996): Systemic acquired resistance. *Plant Cell* 8, 1809-1819.
202. Sagi, M., Fluhr, R. (2006): Production of reactive oxygen species by plant NADPH oxidases. *Plant Physiology* 141, 336–340.
203. Sakata, Y., Sugiyama, M., Ohara, T., Morishita, M. (2006): Influence of rootstocks on the resistance of grafted cucumber (*Cucumis sativus* L.) scions to powdery mildew (*Podosphaera xanthii* U. Braun & N. Shishkoff). *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science* 75, 135–140.
204. Sarowar, S., Kim, Y.J., Kim, E.N., Kim K.D., Hwang, B.K., Islam, R., Shin, J.S. (2005): Overexpression of a pepper basic pathogenesis-related protein 1 gene in tobacco plants enhances resistance to heavy metal and pathogen stresses. *Plant Cell Rep.* 24, 216–224.
205. Schmittgen, T.D., Livak, K.J. (2008): Analyzing real time PCR data by the comparative C_T method. *Nature Protocols* 3, 1101–1108.

206. Schultheiss, H., Dechert, C., Kogel, K.-H., Hüchelhoven, R. (2003): Functional analysis of barley RAC/ROP G-protein family members in susceptibility to the powdery mildew fungus. *Plant Journal* 36, 589-601.
207. Schulze-Lefert, P., Panstruga, R. (2011): A molecular evolutionary concept connecting nonhost resistance, pathogen host range, and pathogen speciation. *Trends in Plant Science* 16, 117-125.
208. Senthil-Kumar, M., Mysore, K.S. (2013): Nonhost resistance against bacterial pathogens: retrospectives and prospects. *Annual Review of Phytopathology* 51, 407–427.
209. Shang, J., Xi, D.-H., Yuan, S., Xu, F., Xu, M.-Y., Qi, H.-L., Wang, S.-D., Huang, Q.-R., Wen, L., Lin, H.-H. (2010): Difference of physiological characters in dark green islands and yellow leaf tissue of *Cucumber mosaic virus* (CMV)-infected *Nicotiana tabacum* leaves. *Z. Naturforsch.* 65c, 73-78.
210. Shu, S., Gao, P., Li, L., Yuan, Y., Sun, J., Guo, S. (2016): Abscisic acid-induced H₂O₂ accumulation enhances antioxidant capacity in pumpkin-grafted cucumber leaves under Ca(NO₃)₂ stress. *Frontiers in Plant Science* 7, 1489.
211. Silvar, C., Merino, F., Díaz, J. (2008) Differential activation of defense-related genes in susceptible and resistant pepper cultivars infected with *Phytophthora capsici*. *J. Plant Physiol.* 165, 1120-1124.
212. Sloopweg, E., Roosien, J., Spiridon, L.N., Petrescu, A.J., Tameling, W., Joosten, M., Pomp, R., van Schaik, C., Dees, R.,

- Willem Borst, J., Smant, G., Schots, A., Bakker, J., Goverse, A. (2010): Nucleocytoplasmic distribution is required for activation of resistance by the potato NB-LRR receptor *Rx1* and is balanced by its functional domains. *Plant Cell* 22, 4195–4215.
213. Soh, H.C., Park, A.R. Park, S., Back K., Yoon, J.B. Park, H.G., Kim, Y.S. (2012): Comparative analysis of pathogenesis-related protein 10 (*PR10*) genes between fungal resistant and susceptible peppers. *European Journal of Plant Pathology* 132, 37–48.
214. Song, J., Bradeen, J.M., Naess, S.K., Raasch, J.A., Wielgus, S.M., Haberlach, G.T., Liu, J., Kuang, H., Austin-Phillips, S., Buell, C.L., Helgeson, J.P., Jiang, J. (2003): Gene RB cloned from *Solanum bulbocastanum* confers broad spectrum resistance to potato late blight. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100, 9128-9133.
215. Song, J.T. (2006): Induction of a salicylic acid glucosyltransferase, *AtSGT1*, is an early disease response in *Arabidopsis thaliana*. *Molecules and Cells* 22, 233–238.
216. Spanu, P.D., Panstruga, R. (2017): Editorial: biotrophic plant-microbe interactions. *Frontiers in Plant Science* 8, 192.
217. Spillane, C., Verchot, J., Kavanagh, T.A., Baulcombe, D.C. (1997): Concurrent suppression of virus replication and rescue of movement-defective virus in transgenic plants expressing the coat protein of potato virus X. *Virology* 236, 76–84.
218. Spoel S.H., Dong X. (2012): How do plants achieve immunity? Defence without specialized immune cells. *Nature Reviews Immunology* 12, 89-100.

219. Spoel, S.H., Johnson, J.S., Dong, X. (2007): Regulation of tradeoffs between plant defenses against pathogens with different lifestyles. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 104, 18842-18847.
220. Stakman, E.C., Levine, M.N., Loegering, W.Q. (1944): Identification of physiological races of *Puccinia graminis tritici*. USDA Bur Entom Plant Quar E-617.
221. Sutherland, M.W. (1991): The generation of oxygen radicals during host plant responses to infection. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 39, 79-93.
222. Suzuki, N., Miller, G., Morales, J., Shulaev, V., Torres, M.A., Mittler, R. (2011): Respiratory burst oxidases: the engines of ROS signaling. *Current Opinion in Plant Biology* 14, 691-699.
223. Süle, S., Burr, T.J. (1998): The effect of resistance of rootstocks to crown gall (*Agrobacterium spp.*) on the susceptibility of scions in grape vine cultivars. *Plant Pathology* 47, 84–88.
224. Talarczyk, A., Krzymowska, M., Borucki, W., Hennig, J. (2002): Effect of yeast CTA1 gene expression on response of tobacco plants to tobacco mosaic virus infection. *Plant Physiology* 129, 1032–1044.
225. Taller, J., Hirata, Y., Yagishita, N., Kita, M., Ogata, S. (1998): Graft-induced genetic changes and the inheritance of several characteristics in pepper (*Capsicum annuum* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 97, 705-713.
226. Taller, J., Yagishita, N., Hirata, Y. (1999): Graft-induced variants as a source of novel characteristics in the breeding of pepper (*Capsicum annuum* L.). *Euphytica* 108, 73–78.

227. Tameling, W.I.L., Nooijen, C., Ludwig, N., Boter, M., Slootweg, E., Govere, A., Shirasu, K., Joosten, M.H.A.J. (2010): RanGAP2 mediates nucleocytoplasmic partitioning of the NB-LRR immune receptor Rx in the Solanaceae, thereby dictating Rx function. *Plant Cell* 22, 4176–4194.
228. Tang, Y., Liu, Q., Liu, Y., Zhang, L., Ding, W. (2017): Overexpression of *NtPR-Q* up-regulates multiple defense-related genes in *Nicotiana tabacum* and enhances plant resistance to *Ralstonia solanacearum*. *Frontiers in Plant Science* 8, 1963.
229. Tóbiás, I., Rast, B., Maat, D.Z. (1982): Tobamoviruses of pepper, eggplant, and tobacco: comparative host reactions and serological relationships. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 88, 257-268.
230. Torres, M.A. (2010): ROS in biotic interactions. *Physiologia Plantarum* 138, 414-429.
231. Torres, M.A., Jones, J.D., Dangl, J.L. (2005): Pathogen-induced, NADPH oxidase-derived reactive oxygen intermediates suppress cell death in *Arabidopsis thaliana*. *Nat. Gen.* 37, 1130-1134.
232. Torres, M.A., Onouchi, H., Hamada, S., Machida, C., Hammond-Kosack K.E., Jones, J.D.G. (1998): Six *Arabidopsis thaliana* homologues of the human respiratory burst oxidase (gp91^{phox}). *Plant Journal* 14, 365-370.
233. Townsend, P.D., Dixon, C.H., Slootweg, E.J., Sukarta, O.C.A., Yang, A.W.H., Hughes, T.R., Sharples, G.J., Pålsson, L.-O., Takken, F.L.W., Govere, A., Cann, M.J. (2018): The intracellular immune receptor Rx1 regulates the DNA-binding

- activity of a Golden2-like transcription factor. *Journal of Biological Chemistry*, 293, 3218–3233.
234. Tsaballa, A., Athanasiadis, C., Pasentsis, K., Ganopoulos, I., Nianiou-Obeidat, I., Tsaftaris, A. (2013): Molecular studies of inheritable grafting induced changes in pepper (*Capsicum annuum*) fruit shape. *Scientia Horticulturae* 149, 2–8.
235. Tsuda, K., Katagiri, F. (2010): Comparing signaling mechanisms engaged in pattern-triggered and effector-triggered immunity. *Current Opinion in Plant Biology* 13, 459–465.
236. Urbanek Krajnc, A., Kristl, J., Ivancic, A. (2011): Application of salicylic acid induces antioxidant defense responses in the phloem of *Picea abies* and inhibits colonization by *Ips typographus*. *Forest Ecology and Management* 261, 416–426.
237. Van Loon, L.C., Rep, M., Pieterse, C.M. (2006): Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. *Annual Review of Phytopathology* 44, 135–162.
238. Van Loon, L.C., Van Kammen, A. (1970): Polyacrylamide disc electrophoresis of the soluble leaf proteins from *Nicotiana tabacum* var. 'Samsun' and 'Samsun NN'. II. Changes in protein constitution after infection with TMV. *Virology* 40, 199-201.
239. Vanacker, H., Carver, T.L.W., Foyer, C.H. (1998): Pathogen-induced changes in the antioxidant status of the apoplast in barley leaves. *Plant Physiology* 117, 1103–1114.
240. Vance, V.B. (1991): Replication of potato virus X RNA is altered in coinfections with potato virus Y. *Virology* 182, 486-494.

241. Verberne, M.C., Verpoorte, R., Bol, J.F., Mercado-Blanco, J., Linthorst, H.J.M. (2000): Overproduction of salicylic acid in plants by bacterial transgenes enhances pathogen resistance. *Nature Biotechnology* 18, 779-783.
242. Vigers, A.J., Wiedemann, S., Roberts, W.K., Legrand, M., Selitrennikoff, C.P., Fritig, B. (1992): Thaumatin-like pathogenesis-related proteins are antifungal. *Plant Science* 83, 155-161.
243. Vlot, A.C., Dempsey, D.A., Klessig, D.F. (2009): Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease. *Annual Review of Phytopathology* 47, 177–206.
244. Vulić, T., Oparnica, C., Djordjević, B., Kuzmanović, S., Starović, M., Ford, E., Tosić, M. (2013): Plum sectorial resistance to *Plum pox virus* is graft transmissible. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica* 48, 219-225.
245. Wallis, C.M., Wallingford, A.K., Chen, J. (2013): Grapevine rootstock effects on scion sap phenolic levels, resistance to *Xylella fastidiosa* infection, and progression of Pierce's disease. *Frontiers in Plant Science* 4, Article 502.
246. Wang, X., Tang, C., Huang, X., Li, F., Chen, X., Zhang, G., Sun, Y., Han, D., Kang, Z. (2012): Wheat BAX inhibitor-1 contributes to wheat resistance to *Puccinia striiformis*. *J. Exp. Bot.* 63, 4571-4584.
247. Wang, Y., Cheng, X., Shan, Q., Zhang, Y., Liu, J., Gao, C., Qiu, J.L. (2014): Simultaneous editing of three homoeoalleles in

- hexaploid bread wheat confers heritable resistance to powdery mildew. *Nature Biotechnology* 32, 947–951.
248. Ward, E.R., Uknes, S.J., Williams, S.C., Dincher, S.S., Wiederhold, D.L., Alexander, D.C., Ahl-Goy, P., Métraux, J.-P., Ryals, J.A. (1991): Coordinate gene activity in response to agents that induce systemic acquired resistance. *Plant Cell* 3, 1085-1094.
249. Warschefsky, E.J., Klein, L.L., Frank, M.H., Chitwood, D.H., Londo, J.P., von Wettberg, E.J.B. Miller, A.J. (2016): Rootstocks: Diversity, domestication, and impacts on shoot phenotypes. *Trends in Plant Science* 21, 418-437.
250. Wei, G.P., Yang, L.F., Zhu, Y.L., Chen, G. (2009): Changes in oxidative damage, antioxidant enzyme activities and polyamine contents in leaves of grafted and non-grafted eggplant seedlings under stress by excess of calcium nitrate. *Scientia Horticulturae* 120, 443–451.
251. Wei, Y., Zhang, Z., Andersen, C.H., Schmelzer, E., Gregersen, P.L., Collinge, D.B., Smedegaard-Pedersen, V., Thordal-Christensen, H. (1998): An epidermis/papilla-specific oxalate oxidase-like protein in the defence response of barley attacked by the powdery mildew fungus. *Plant Molecular Biology* 36, 101-112.
252. Weryszko-Chmielewska, E., Michałojć, Z. (2009): Anatomical features of leaves of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) fed with calcium using foliar nutrition. *Acta Agrobotanica* 62, 155–164.

253. Whitham, S., Dinesh-Kumar, S.P., Choi, D., Hehl, R., Corr, C., Baker, B. (1994): The product of the tobacco mosaic virus resistance gene *N*: similarity to toll and the interleukin-1 receptor. *Cell* 78, 1101-1115.
254. Wildermuth, M.C., Dewdney, J., Wu, G., Ausubel, F.M. (2001): Isochorismate synthase is required to synthesize salicylic acid for plant defence. *Nature* 414, 562-71.
255. Wolter, M., Hollricher, K., Salamini, F., Schulze-Lefert, P. (1993): The *mlo* resistance alleles to powdery mildew infection in barley trigger a developmentally controlled defense mimic phenotype. *Mol. Gen. Genet.* 239, 122-128.
256. Wright, K.M., Duncan, G.H., Pradel, K.S., Carr, F., Wood, S., Oparka, K.J., Santa Cruz, S. (2000): Analysis of the *N* gene hypersensitive response induced by a fluorescently tagged Tobacco mosaic virus. *Plant Physiology* 123, 1375-1386.
257. Wu, G., Shortt, B.J., Lawrence, E.B., Levine, E.B., Fitzsimmons, K.C., Shah, D.M. (1995): Disease resistance conferred by expression of a gene encoding H₂O₂-generating glucose oxidase in transgenic potato plants. *Plant Cell*, 7, 1357-1368.
258. Wu, R., Wang, X., Lin, Y., Ma, Y., Liu, G., Yu, X., Zhong, S., Liu, B. (2013): Inter-species grafting caused extensive and heritable alterations of DNA methylation in *Solanaceae* plants. *PLoS ONE* 8, e61995.
259. Wutscher, H.K. (1979): Citrus rootstocks. *Horticultural Reviews* 1, 237-269.

260. Xia, X.J., Wang, Y.J., Zhou, Y.H., Tao, Y., Mao, W.H., Shi, K., Tadao, A., Chen, Z., Ju, J.Q. (2009): Reactive oxygen species are involved in brassinosteroid-induced stress tolerance in cucumber. *Plant Physiol.* 150, 801-814.
261. Yao, J., Huot, B., Founé, C., Doddapaneni, H., Enyedi A. (2007): Expression of a β -glucosidase gene results in increased accumulation of salicylic acid in transgenic *Nicotiana tabacum* cv. Xanthi-nc NN genotype. *Plant Cell Reports* 26, 291–301.
262. Yeom, S-I., Baek, H-K., Oh, S-K., Kang, W-H., Lee, S.J., Lee, J.M., Seo, E., Rose, J.K.C., Kim, B-D., Choi, D. (2011): Use of a secretion trap screen in pepper following *Phytophthora capsici* infection reveals novel functions of secreted plant proteins in modulating cell death. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 24, 671-684.
263. Yi, S.Y., Yu, S.H., Choi, D. (2003): Involvement of hydrogen peroxide in repression of catalase in TMV-infected resistant tobacco. *Mol. Cells* 15, 364-369.
264. Yoda, H., Fujimura, K., Takahashi, H., Munemura, I., Uchimiya, H., Sano, H. (2009): Polyamines as a common source of hydrogen peroxide in host- and non host hypersensitive response during pathogen infection. *Plant Molec. Biol.* 70, 103-112.
265. Yoshioka, H., Numata, N., Nakajima, K., Katou, S., Kawakita, K., Rowland, O., Jones, J.D., Doke, N. (2003): *Nicotiana benthamiana* gp91^{phox} homologs *NbrbohA* and *NbrbohB* participate in H₂O₂ accumulation and resistance to *Phytophthora infestans*. *Plant Cell* 15, 706-718.

266. 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.
267. Zaitlin, M. (1962): Graft transmissibility of a systemic virus infection to a hypersensitive host - An interpretation. Phytopathology 52, 1222-1223.
268. Zechmann, B., Zellnig, G., Urbanek-Krajnc, A., Müller, M. (2007): Artificial elevation of glutathione affects symptom development in ZYMV-infected *Cucurbita pepo* L. plants. Arch. Virol. 152, 747-762.
269. Zhang, Z., Collinge, D.B., Thordal-Christensen, H. (1995): Germin-like oxalate oxidase, a H₂O₂-producing enzyme, accumulates in barley attacked by the powdery mildew fungus, Plant Journal 8, 139–145.
270. Zhao D., Song, G. (2014): Rootstock-to-scion transfer of transgene-derived small interfering RNAs and their effect on virus resistance in nontransgenic sweet cherry. Plant Biotechnology Journal 12, 1319–1328.
271. Zheng, Z., Nonomura, T., Appiano, M., Pavan, S., Matsuda, Y., Toyoda, H., Wolters, A-M.A., Visser, R.G.F., Bai, Y. (2013a): Loss of function in *Mlo* orthologs reduces susceptibility of pepper and tomato to powdery mildew disease caused by *Leveillula taurica*. PLoS ONE 8, e70723.
272. Zheng, Z., Nonomura, T., Bóka, K., Matsuda, Y., Visser, R.G.F., Toyoda, H., Kiss, L., Bai, Y. (2013b): Detection and

quantification of *Leveillula taurica* growth in pepper leaves. *Phytopathology* 103, 623-632.

273. Zurbriggen, M.D., Carrillo, N., Tognetti, V.B., Melzer, M., Peisker, M., Hause, B., Hajirezaei, M-R. (2009): Chloroplast-generated reactive oxygen species play a major role in localized cell death during the non-host interaction between tobacco and *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Plant Journal* 60, 962–973.

Publikációs lista

A dolgozat témájából megjelent publikációk

Nemzetközi, impakt faktoros tudományos folyóiratban

- Albert R., Künstler A., Lantos F., Ádám A. L., Király L. (2017): Graft-transmissible resistance of cherry pepper (*Capsicum annuum* var. *cerasiforme*) to powdery mildew (*Leveillula taurica*) is associated with elevated superoxide accumulation, NADPH oxidase activity and pathogenesis-related gene expression. *Acta Physiologiae Plantarum* 39, 53. **IF: 1,364 Q2**

Hazai tudományos/ismeretterjesztő folyóiratban

- Csüllög K., Bodnár D., Albert R., Tarcali G. (2018): A paprika száraz magházkorhadása (*Alternaria alternata* (Fr.) Keissl.) és a kalciumhiány okozta nekrozis kapcsolata. *Georgikon For Agriculture: A Multidisciplinary Journal in Agricultural Sciences* 22 (1), 7-12.
- Albert R., Künstler A., Lantos F., Király L., (2016): Prefomed defense responses in a powdery mildew-resistant Hungarian cherry pepper cultivar, *Review on Agriculture and Rural Development* 5, 5-12.
- Lantos F., Csüllög K., Albert R., Künstler A., Király L. (2015): A kalciumhiány és a szuperoxid ($O_2^{\cdot-}$) termelődésének összefüggése paprikabogyó-szövetekben, *Kertgazdaság* 47, 25-28.
- Albert R., Künstler A. (2014): A hajtattott paprika egyik legfontosabb kórokozója a paprikalisztharmat (*Leveillula taurica*). IX. Növényorvos Nap, 2014. november 12. pp. 44-46

Egyéb megjelent publikációk

Nemzetközi, impakt faktoros tudományos folyóiratban

- Albert, R., Almási, K., Künstler, A., Salamon, P., Király, L. (2019): First Report of lettuce big-vein disease associated with Mirafiori lettuce big-vein virus and Lettuce big-vein associated virus on lettuce in Hungary. Plant Disease DOI: 10.1094/PDIS-10-18-1824-PDN. **IF: 2,941 Q2**
- Künstler, A., Bacsó, R., Albert, R., Barna, B., Király, Z., Hafez Y.M., Fodor J., Schwarczinger, I., Király L. (2018): Superoxide (O₂⁻) accumulation contributes to symptomless (type I) nonhost resistance of plants to biotrophic pathogens, Plant Physiology and Biochemistry 128, 115–125. **IF: 2,724 Q1**

Hazai tudományos/ismeretterjesztő folyóiratban

- Kontschán J., Albert R., Almási K., Kerezsi V., Tóbiás I. (2018): A Penthaleus cf. major (Dugès, 1837) első szabadföldi előfordulásai hazánkban (ACARI: PENTHALEIDAE), Növényvédelem 79 (54):8 , 333-336.
- Kontschán J., Albert R., Almási K., Kerezsi V., Tóbiás I. (2018): First record of the family Penthaleidae (Acari) in Hungary: Morphological and molecular approaches of the Hungarian Penthaleus cf. major (Dugès, 1837). Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica 53, 97–110. **Q3**
- Albert R., Almási K. (2016): A hazai paradicsomtermesztés integrált növényvédelmének aktuális kihívásai üvegházi hajtítás esetén. XI. Növényorvos Nap, 2016. november 9. pp. 43-45.

- Viczián O., Kiss E., Albert R., Mergenthaler E. (2016): Reflektorfényben: újra a sztolbur. XI. Növényorvos Nap, 2016. november 9. pp. 106-107.
- Albert R. (2012): Növényvédelmi előrejelzési módszer bemutatása egy hazai esettanulmány alapján. Östermelő 2012/2. szám: 2012. április-május. pp. 77-80.

Konferencia részvétel, a dolgozat témájából

- Király, L., Künstler, A., Albert, R. (2018): Inheritance of biochemical markers of graft-transmissible resistance to powdery mildew (*Leveillulla taurica*) in progeny of grafted, resistant pepper. Plant Biotic Stresses & Resistance Mechanisms III Conference, Vienna, Austria 2018. Abstract, p. 14. (előadás)
- Király L., Zsemberi O., Künstler A., Albert R. (2017): Distinct activity changes of defense (pathogenesis) related genes and antioxidants during symptomless (extreme) vs. local necrotic (hypersensitive) plant virus resistance, XXII Reunión de la Sociedad Española de Fisiología Vegetal/ XV Spanish Portuguese Congress of Plant Physiology, Barcelona, Spain 2017. Abstract C0205 (poszter)
- Albert R., Zsemberi O., Künstler A., Király L. (2017): Védekezési gének és antioxidánsok tünetmentes (extrém) és lokális nekrozissal járó (hiperszenzitív) növényi vírus rezisztenciában. 63. Növényvédelmi Tudományos Napok, Budapest, 2017. február 21-22. ISSN: 231 2956 (poszter)

- Albert R., Künstler A., Ádám A., Lantos F., Király L. (2015): A cseresznyepaprikáról étkezési paprikára oltással átvihető lisztharmat rezisztencia biokémiai markerei. 61. Növényvédelmi Tudományos Napok, Budapest, 2015. február 17-18. ISSN: 0231 2956 (előadás)
- Király L., Künstler A., Lantos F., Ádám A., Fodor J., Albert R. (2015): Enhanced superoxide accumulation and NADPH oxidase activity predict powdery mildew resistance graft-transmissible from cherry pepper to sweet pepper. 12th International Conference on Reactive Oxygen and Nitrogen Species in Plants: from model systems to field. Verona, Italy 2015. Abstract, p. 107, poster P93. (poszter)
- Albert R., Király L., Király Z., Lantos F., Künstler A. (2013): A szuperoxid szabadgyök szerepe tünetmentes növényi betegség rezisztenciában, Magyar Tudomány Ünnepe 2013, Tudomány a Vidék Mindennapjaiban Konferencia, Szegedi Tudományegyetem Mezőgazdasági Kara, 2013. november 08., Hódmezővásárhely, Konferencia [CD] ISBN: 978-963-306-245-6 (előadás)

Konferencia részvétel, egyéb témákból

- Künstler, A., Albert, R., Király, L. (2018): Mesterségesen adott glutation és előanyagának szerepe egy lisztharmatgombával (*Euoidium longipes*) szembeni rezisztencia indukálásában, szalicilsav hiányos dohányban. 64. Növényvédelmi Tudományos Napok, Előadáskivonatok, p. 60. ISSN: 231 2956 (poszter)
- Künstler A., Csontos Zs., Albert R., Király L. (2017): Glutathione induced resistance to *Tobacco mosaic virus* in salicylic acid-

deficient tobacco. XVth Spanish Portuguese Congress of Plant Physiology, Barcelona, Spain. 2017. Abstract, poster ID C0083/P0083. (poszter)

- Künstler A., Csontos Zs., Albert R., Király L. (2017): Glutation által indukált rezisztencia dohány mozaik vírussal (TMV) szemben, szalicilsav hiányos dohány növényekben. 63. Növényvédelmi Tudományos Napok, Előadáskivonatok, p. 94. ISSN: 231 2956 (poszter)
- Künstler A., Kátay Gy., Albert R., Király L. (2016): Differential roles of glutathione in salicylic acid-mediated resistance of tobacco to *Tobacco mosaic virus* (TMV) and *Tobacco necrosis virus* (TNV), Plant Biology Europe EPSO/FESPB 2016 Congress, Prague, Czech Republic. Abstract, poster ID 533. (poszter)
- Künstler A., Kátay Gy., Albert R., Király L. (2015): A glutation szerepe a szalicilsav által aktivált, biotróf kórokozókkal szembeni rezisztenciában. 61. Növényvédelmi Tudományos Napok, Előadáskivonatok, p. 92. ISSN: 0231 2956 (poszter)
- Künstler A., Kátay Gy., Albert R., Király L. (2015): Role of glutation in salicylic acid mediated plant disease resistance to *Tobacco mosaic virus* (TMV). 12th International Conference on Reactive Oxygen and Nitrogen Species in Plants: from model systems to field. Verona, Italy 2015. Abstract, p. 108, poster P95. (poszter)