

NÖVÉNYVÉDELEM

46. évfolyam 5. szám, 2010. május



20 ÉVES A MEZŐGAZDASÁGI BIOTECHNOLÓGIAI KUTATÓKÖZPONT



AGROINFORM

A Földművelésügyi és Vidékfejlesztési Minisztérium tudományos lapja

A Földművelésügyi és Vidékfejlesztési Minisztérium szakfolyóirata

Megjelenik havonként

Előfizetési díj a 2010. évre ÁFÁ-val: 5200 Ft
Egyes szám ÁFÁ-val: 520 Ft + postaköltség
Diákoknak 50% kedvezmény

Szerkesztőbizottság:

Elnök: Eke István

Rovatvezetők:

Csőke György (erdővédelem)
Hartmann Ferenc (gyomszabályozási technológia)
Kuroli Géza (technológia, rovartan)
Mészáros Zoltán (rovartan)
Mogyorósyne Szemessy Ágnes (információk,
krónika)

Palkovics László (növénykórtan, virológia)
Ripka Géza (rovartan, akarológia)
Solymosi Péter (gyombiológia, gyomszabályozás)
Szeőke Kálmán (rovartan, most időszerű)
Vajna László (növénykórtan)
Vörös Géza (technológia, rovartan)

A Szerkesztőbizottság munkáját segítik:
Dancsházy Zsuzsanna (angol nyelv)
Böszörményi Ede (angol nyelv)
Palojtay Béla (nyelvi lektorálás)

Felelős szerkesztő: Balázs Klára

Szerkesztőség:

Budapest II., Herman Ottó út 15.
Postacím: 1525 Budapest, Pf. 102.
Telefon: (1) 39-18-645
Fax: (1) 39-18-655
E-mail: h10427bal@ella.hu

Felelős kiadó: Bolyki István

Kiadja és terjeszti:



AGROINFORM Kiadó
1149 Budapest, Angol u. 34.
Telefon/fax: 220-8331
E-mail: kiado@agroinform.com

Megrendelhető a Szerkesztőség címén, illetve elő-
fizethető a Kiadó K&H 10200885-32614451 számú
csekk számláján.

ISSN 0133-0829

AGROINFORM Kiadó és Nyomda Kft.
Felelős vezető: Stekler Mária
2010/80

ÚTMUTATÓ A SZERZŐK SZÁMÁRA

A közlemények terjedelmét a mondanivaló jelle-
ge szabja meg, de ne legyen a kettes sortávolságra
nyomatott szöveg a mellékletekkel együtt 15 oldal-
nál hosszabb. A kéziratot bevezető, anyag és mód-
szer, eredmények (következtetések, köszönetnyilvá-
nítás), irodalom fő fejezetekre kérjük tagolni és a
Szerkesztőség címére 2 pld.-ban + lemezen bekül-
deni. A közlemény címét a Szerző(k) neve, munka-
helye és a rövid összefoglaló kövesse, a dolgozat az
irodalommal fejeződjön be. A táblázatok és ábrák
(címjegyzékkel együtt) a dolgozat végére kerüljenek.
Csak jó minőségű, pauszpapírra rajzolt vagy laser-
nyomatóval készült ábrát, illetve fekete-fehér fotót
fogadunk el. Színes diát és színes fotót csak a borí-
tóra kérünk. Belső színes ábrák elhelyezésére közlé-
si díj befizetése vagy szponzor anyagi támogatása
esetén van lehetőség.

Az angol nyelvű összefoglaló, illetve az e célra
készült magyar szöveg új oldalon kezdődjön.

A kéziratban csak a latin neveket kérjük kurzív-
val (egyszeri aláhúzás vagy italic nyomtatás) jelölni,
egyéb tipizálás mellőzendő. A technológia részbe
szánt kéziratához összefoglalót nem kérünk. A Szer-
kesztőség csak az előírásoknak megfelelő eredeti
kéziratot fogad el.

A Szerkesztő bizottság az internet honlapokról
származó adatokra való hivatkozásokat nem tartja el-
fogadhatónak, ezért felhívja a Szerzők figyelmét,
mellőzzék ezeket. Kivételt képeznek az interneten
„on-line” elérhető tudományos folyóiratok, amelyek
lektorált, szakmailag ellenőrzött dolgozatokat közöl-
nek. Az ezekre történő hivatkozás esetén a szokásos
bibliográfiai adatokat kell megadni.

A kézirat beadásával egyidejűleg kérjük a
Szerző(k) személyi adatait (név, lakcím, munkahely,
munkahely címe, telefon, fax, e-mail) megadni.

CÍMKÉP:

Mezőgazdasági Biotechnológiai
Kutatóközpont

COVER PHOTO:

Agricultural Biotechnology Center

20 éves a Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont



KÖSZÖNTŐ

Két évtized egy intézet történetében nem éppen matuzsálemi kor, mégis elmondhatjuk, hogy a gödöllői Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont, vagyis az MBK, már kinőtt az ifjúkorból, felnőtt a feladatához és kutatómunkáját felelősségteljesen, nagykorú tudatossággal végzi. Többek között a két korábbi főigazgatónak dr. Balázs Ervin és dr. Nagy Ferenc akadémikusoknak, az első intézetvezetőknek: dr. Orosz Lászlónak, dr. Pongor Sándornak és dr. Solti Lászlónak, illetve a későbbi vezetőknek: dr. Gráf László akadémikusnak, dr. Asbóth Bencének, dr. Bősze Zsuzsának és dr. Burgyán Józsefnek köszönhetően az MBK az állat-biotechnológia, a növény-biotechnológia és a mikrobiális-biotechnológia területén egyaránt kiemelkedő kutatásokat végzett és jelenleg is végez. Ezek eredménye számos tudományos közlemény, megannyi poszter és előadás, számtalan elnyert tudományos pályázat. Az intézet megítélése nem csak a hazai fórumokon, de a külföldi országokban is igen kedvező, sok nemzetközi híró kutató látogatott hozzánk és sok nemzetközi híró kutatót adtunk a világ különböző tájain található egyetemeknek és kutatóintézeteknek.

Az MBK – Alapító Okiratában meghatározott – fő tevékenysége a mezőgazdasági biotechnológia és az agrártudományok területén növénynemesítési, állattenyésztési, mikrobiális és biotechnológiai kutatás-fejlesztés végzése klasszikus és modern biológiai módszerekkel. A hasznosítható eredmények elérésére irányuló

célzott alap kutatás, alkalmazott kutatás és kísérleti fejlesztés célja a magyar agrárium versenyképességének növelése és a fenntartható mezőgazdaság elősegítése. Ezen megfogalmazott nemes célok elérése nem könnyű feladat, mert, mint alább látni fogjuk, egyrészt nem körvonalazódnak kristálytisztán a biztos sikert (hasznot) hozó konkrét témák, másrészt a végrehajtandó projektek anyagi finanszírozása sem illeszkedik megfelelően az elvégzendő feladatokhoz.

Napjainkban eredményes és ugyanakkor tudományosan is jelentős biotechnológiai kutatásokat folytatni nagyobb kihívást jelent, mint korábban. Néhány évtizeddel ezelőtt „könnyű” volt olyan témát találni, melynek gyakorlati jelentősége, hasznosíthatósága volt. Manapság azonban már nagyítóval kell keresni a rövid távon kifizetődő projekteket, mert a könnyű, magas labdákat már lecsapták a multik és a gomba módra elszaporodott biotechnológiai magánvállalkozások. Alkalmazott kutatást, hasznos kutatást nem nehéz találni, de a közvetlenül hasznosítható eredményre vezető téma talán olyan ritka, mint a fehér holló. A pályázati rendszer pedig ez utóbbiakat segíti, hisz a rövid, pár éves futamidő kevés egy jól átgondolt hosszabb távú feladat végrehajtáshoz.

Az MBK mindezek mellett körültekintő tudománypolitikai irányítással próbálja fő alaptervékenységét – azaz az agráriumban hasznosítható eredmények elérését – teljesíteni. Ez nem egyszerű feladat, mert a kutatások egyre jobban kiszolgáltatottak a „pályázati piacnak”, ami a „nyerést” és nem feltétlenül az agrárium témaérdekeit helyezi előtérbe (ergo „azzal pályázok,

A Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont Alapító Okirata

(részlet)

A Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont alaptevékenysége:

A mezőgazdasági biotechnológia és az agrártudomány területén növénynevelési, állattenyésztési, mikrobiális és biotechnológiai kutatás-fejlesztés végzése klasszikus és modern molekuláris biológiai módszerekkel, valamint a fentiekkel kapcsolatos pályázati, oktatási, szakértői, tanácsadói, publikációs, koordinációs stb. tevékenységek végzése. A hasznosítható eredmények elérésére irányuló célzott alap kutatás, alkalmazott kutatás és kísérleti fejlesztés célja a mezőgazdasági növények, állatok és mikroorganizmusok vizsgálata, fejlesztése és nemesítése, hasznosítható szellemi alkotások létrehozása molekuláris biológiai módszerekkel, géntérképezéssel, molekuláris markerezéssel, tudásbázisok, adatbázisok és egyéb technológiák kifejlesztésével, hagyományos és modern technikák és módszerek alkalmazásával.

A kutatási eredmények, szellemi alkotások védelme és hasznosítása, valamint a hazánkban és külföldön elért biotechnológiai kutatási eredmények magyarországi adaptálása, terjesztése.

A kutatók, oktatók, hallgatók és mezőgazdasági szakemberek biotechnológiai képzése, továbbképzése, oktatása.

A kutatóközpont tevékenységéhez kapcsolódó szakértői feladatok ellátása, véleményadás a szakterületen felmerülő jogvitás ügyekben.

Részvétel a hazai és nemzetközi tudományos szervezetek munkájában, a nemzetközi szervezeti tagsággal járó tevékenység ellátása.

A biotechnológia területén hatósági vizsgálatok és szolgáltatások végzése.

Budapest, 2009. szeptember 28.

Gráf József

földművelésügyi és vidékfejlesztési miniszter

amellyel a legnagyobb esélyem van”). A pályázatnyerési kényszer a kutatókat arra ösztönzi, hogy inkább magas színvonalú tudományos cikkeket „termeljenek”, mintsem az agráriumban hasznosítható eredményt, vagy szellemi tulajdont. A kutatókra ráerőltetett pályázat-beadást nem tartjuk célravezetőnek, ezért ezt az MBK

nem alkalmazza. Szigorúbb irányítást (meghatározott téma elvégzését előírni) sem lehet alkalmazni, mert a kutatásokhoz szükséges anyagi fedezetet a kutatók saját pályázatuk útján szerzik meg, ebből következően a kutatók arra pályáznak, amire tudnak, amiben otthon érzik magukat, amelyben módszertanilag jártasak.

Természetesen egészen más lenne a helyzet, ha a gondosan tervezett és kiválasztott projektek megvalósításához szükséges fedezet az FVM, illetve az MBK birtokában lenne.

Az MBK kutatási területei a növény-biotechnológia területén felöleli a növények és kórokozók közötti molekuláris folyamatok vizsgálatát, az abiotikus (pl. szárazság) és a biotikus (kórokozók) stresszel szembeni rezisztencia tanulmányozását, toleráns és multirezisztens fajták nemesítését. A géntérképezés útján előállított, a nemesítést segítő markertechnológia, valamint a genetikai módosítást célzó géntechnológia segítségével új módszerek kerülnek kidolgozásra, melyek eredményeként új fajtajelöltek születhetnek. A kutatások lefedik a stratégiai jelentőségű élelmiszer-növényeket (burgonya, gabonafélék, hüvelyes és zöldségfajták, mint a bab, a kukorica és a hungarikumnak számító paprika). Az állat-biotechnológiai projektek célja a specifikus génextpressziók vizsgálata, transzformációs és sejt(mag)átültetési technikák alkalmazása transzgenikus és klónozott állatmodelleken.

Az MBK tervezi a stratégiai jelentőségű génbankok (állati és növényi) bevonását a kutatásokba. A génbankok „aranybányák”, hisz a változó klimatikus viszonyokhoz alkalmazkodó tulajdonságok (pl. szárazság, hidegtűrés, meleg tűrés, patogének ellen rezisztenciát nyújtó, stb.) génjeit a génbankok egyes tételeiben lehet megtalálni.

Az MBK törekvése – amely új, a változó környezeti feltételeknek jobban megfelelő fajták előállítására irányul – kudarcot vall, ha az MBK nem tud szoros tudományos együttműködésben tevékenykedni azokkal az intézményekkel, amelyekben az egyes állatok, növények, zöldségek, gyümölcsök nemesítési munkái folynak. Az MBK-nak nem feladata és nincs is meg hozzá az a hosszú évtizedek alatt felhalmozódott tapasztalata, tudása, infrastrukturális háttere, valamint a szakember gárdája ahhoz, hogy klasszikus nemesítési munkákat elvégezzen. Az MBK a molekuláris biotechnológiához ért, abban van tapasztalata, tudása, szellemi és műszerezettségi felkészültsége. A klasszikus és molekuláris nemesítési technikák módszerek jó ötvözetére van

szükség, amely a nemesítő intézetekkel közös pályázatokon keresztül, szervezett formában valósulhatna meg. A pályázati irodák sokat segíthetnek az intézetek „egymásra találása” érdekében, ha pályázati kiírásaikban megjelenne az új fajták előállítására szóló konzorciális projekt támogatás.

Kiemelkedő az MBK oktatási tevékenysége, a felsőoktatási intézményekkel való szoros együttműködése. Az intézeti kutatók több egyetem, doktori iskola (pl. SZIE, ELTE, DE) oktatási programjában is részt vesznek, emellett az MBK-ban működik a Szent István Egyetem Mezőgazdasági Biotechnológiai kihelyezett tanszéke. Kutatóink a doktori iskoláknak tanfolyafelelősei, rendszeres oktatói, ezen kívül szakdolgozói diplomaterves és PhD-s témavezetők. Az MBK kiemelt figyelmet fordít az utánpótlás nevelésre, vagyis fiatal kutatók képzésére és alkalmazására. Gondot jelent viszont, hogy az egyre szűkülő és bizonytalan támogatottság miatt nem tudunk számukra biztos, hosszú távú perspektívát kínálni. A kutatói pálya megítélése és vonzereje az elmúlt években folyamatosan halványult, egyre kevesebb fiatal jelentkezik szakdolgozat írásra, illetve doktorandusznak.

Az MBK kutatói az előbbieken kívül intenzív szakmai, konzultatív kapcsolatot tartanak különböző biotechnológia egyesületekkel, fórumokkal. Részt veszünk a jogszabályi előkészítő munkákban is. Az MBK működteti a Magyar Biosafety Honlapot, ami a génmódosított szervezetek engedélyeztetésére és adatszolgáltatására vonatkozó jogszabályban előírt hivatalos adatbázis.

Ilyen sok területen, sok nehézség ellenére, az elmúlt húsz év alatt azért csak lettél valamit az asztalra, ezért megérdemled, hogy így köszöntselek:

***Boldog Születésnapot MBK,
Isten Éltesse Erőben és Egészségben.
Kívánok Néked Sikerekben Gazdag
Hosszú Életet!***

Kiss György Botond
főigazgató

KUTATÓKÖZPONTUNK RÖVID BEMUTATÁSA

A Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont (MBK) 1989-ban alapította a Földművelésügyi Minisztérium abból a célból, hogy a biotechnológiai kutatások legújabb eredményeinek segítségével javítsa a magyar mezőgazdaság versenyképességét. Felügyeleti szerve jelenleg a Földművelésügyi és Vidékfejlesztési Minisztérium (FVM).

A kutatóközpont a hatékony mezőgazdasági termelés és környezettudatos fejlesztések elősegítésének érdekében növénynemesítési, állattenyésztési és biotechnológiai kutatásokat és kísérleti fejlesztéseket végez genetikai, molekuláris biológiai, biotechnológiai módszerekkel az alkalmazott agrártudományok területén. Részt vesz a hazai graduális és posztgraduális képzésben, valamint jelentős szerepet játszik az FVM által támogatott biotechnológiai kutatások koordinálásában.

A kutatóközpont az FVM kutatóintézeti hálózatának legnagyobb tagja, jelenleg összesen 110 alkalmazottat foglalkoztat, akik közül 54 fő tudományos dolgozó, valamint különböző PhD programok hallgatói, EU és más országokból érkezett vendégkutatók.

A kutatómunkát összesen 4000 m² hasznos laboratóriumi felület, valamint 800 m² alapterületű növényház és zártrendszerű állatházak szolgálják, technikai felszereltségük és műszerezettségük nemzetközi szintű.

A kutatás fő feladata a növénytermesztés, az állattenyésztés és a modern környezetvédelmi technológiák molekuláris biológiai hátterének tanulmányozása és ennek alapján hasznosítható termékek és technológiák létrehozása.

A kutatási projektek megvalósítását az FVM hozzájárulása és a hazai K+F alapok támogatása mellett a kutatók nemzetközi pályázatokban és az EU keretprogramjaiban való sikeres szereplése teszi lehetővé, jelentősek a társintézetekkel és oktatási intézményekkel, külföldi partnerekkel közösen létrehozott projektek.

A kutatóintézet Alapító Okiratának szellemében az MBK folyamatosan támogatja a kutatási eredmények és szellemi értékek hasznosítását, gyakorlati megvalósítását, kezdeményező szerepet vállalva a tudásalapú biotechnológiai „spin-off” cégek útra indításában. Ma már három hasznosító vállalkozás is működik: a szekvenálási és GMO analitikai szolgáltatásokat biztosító Biomi Kft., az élelmiszerbiztonsági eljárásokat, toxin és antibiotikum immundiagnosztikai termékeket fejlesztő Soft Flow Biotechnology Kft., valamint a talajoltóanyagokkal foglalkozó Saniplant Kft.

A Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont hazai és nemzetközi szakmai találkozók, műhelyek helyszíne, otthon ad hazai továbbképzési és szakoktatási programoknak. Az évente megrendezésre kerülő „MBK Napok” tudományos kiskonferencia ad alkalmat az intézet legújabb kutatási eredményeinek bemutatására és teret a széles körű szakmai fórumnak.



Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont

2100 Gödöllő, Szent-Györgyi Albert u. 4.

Telefon: (+36) 28 526 100 • Fax: (+36) 28 526 101 • E-mail: info@abc.hu

Honlap: www.abc.hu

A MEZŐGAZDASÁGI BIOTECHNOLÓGIAI KUTATÓKÖZPONT RÉSZVÉTELÉVEL LÉTREJÖTT HASZNOSÍTÓ VÁLLALKOZÁSOK

 The logo for BIOMI features a stylized blue and green leaf-like shape to the left of the word "BIOMI" in a bold, green, sans-serif font.	<p>Biomi Kft.</p> <p>biotechnológiai analitikai szolgáltatások, DNS és GMO laboratórium</p> <p>http://www.biomi.hu</p>
 The logo for SFB consists of the letters "SFB" in a bold, orange, sans-serif font, followed by a stylized graphic of a blue and white shape resembling a flower or a drop.	<p>Soft Flow Biotechnology Kft.</p> <p>mikotoxinok kimutatása, monoklonális ellenanyagok és enzim immunoassay-en (ELISA) alapuló mérések fejlesztése, validálása</p> <p>http://biotechnologia.softflow.hu</p>
 The logo for SANIPLANT features the word "SANI" in a bold, black, sans-serif font above the word "PLANT" in a bold, red, sans-serif font, all contained within a green rectangular background.	<p>SANIPLANT Biotechnológiai Kutató és Fejlesztő Kft.</p> <p>egyedi talajbaktérium készítmények kutatása-fejlesztése, komposztálási technológia mikrobiológiai fejlesztése, szénhidrogénnel szennyezett talajok mikrobiológiai mentesítési technológia kidolgozása, talajbiológiai fejlesztések</p> <p>http://www.agrobio.hu</p>

AZ MBK TÖRTÉNETE

A magyar kormány 1986-ban határozta el, hogy a hazai mezőgazdasági biotechnológiai kutatások összpontosítására létrehoz egy világszínvonalú kutatóintézetet a Mezőgazdasági és Élelmiszeripari Minisztérium (MÉM) égisze alatt. Az alapot az a felismerés szolgáltatta, hogy a megjelenő új biotechnológiák lehetőségeit az akkoriban nemzetközi szinten sikeresnek számító magyar mezőgazdaság úgy tudja a legjobban hasznosítani, ha azok egyúttal beépülnek az oktatás és kutatás teljes vertikumába. Az alapító okiratot Vánca Jenő MÉM miniszter 1986. március 1-én írta alá. Az intézetalapítás elsőszámú kormányzati koordinátora dr. Papócsy László MÉM miniszterhelyettes volt, a Magyar Tudományos Akadémia (MTA) részéről Straub F. Brunó akadémikus támogatása volt jelentős.

A választás Gödöllőre esett – 1986. május 15-én jelölte ki a helyszínt Papócsy László miniszterhelyettes és ekkor alakította meg a Tanácsadó Testületet –, mivel ott akkoriban a Gödöllői Agrártudományi Egyetem (GATE) mellett számos mezőgazdasági kutatófejlesztő intézmény működött. Az alakuló Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont beruházásának irányítását a kitűnő szervező, a 2006-ban elhunyt dr. Pék János agrárszakember ügyvezető igazgatóként, a tudományos program összeállítását és a kutatógárda toborzását dr. Pongor Sándor tudományos igazgatóhelyettes végezte.

Az indulástól segítette a munkát a Tudományos Tanács, melyet a kapcsolódó területek legkiválóbb hazai képviselőiből hívtak össze. Ennek elnöke dr. Barabás Zoltán akadémikus, titkára dr. Pongor Sándor volt, a tagok pedig Balázs Ervin, Dudits Dénes, Heszky László, Horn Péter, Kondorosi Ádám, Orosz László, Seregi János, Solti László és Venetianer Pál.

Az épület terveit Zalaváry Lajos Ybl- és Kossuth-díjas építész (KÖZTI)

készítette, ehhez a koncepciók terveket a későbbi vezető-kutatók dolgozták ki, melyet a Tudományos Tanács vitáulésén megvédtek, illetve választottak ki a Tanács javaslata alapján. Az ünnepélyes alapkövetétel 1987. szeptember 18-án volt.

A dr. Pék János által vezetett versenytárgyalások során jelentős árcsökkenést sikerült elérni, és a nemzetközi szerződések garantálták a határidők pontos betartását is. A siker nem kisrészt azon múlt, hogy a beruházást nem közvetítő, hanem maga a későbbi tulajdonos koordinálta. A MÉM ugyanis jogilag már 1986-ban megalapította a Kutatóközpontot, így annak stábjába tényleges hatáskörrel tudta irányítani a beruházást és a tudományos program előkészítését is. A kivitelezéssel – akkoriban rendhagyó



Petrasovits Imre, Barabás Zoltán, Straub F. Brunó, Papócsy László és Pongor Sándor



Balázs Ervin, Orosz László és Venetianer Pál a TT ülésén



Straub F. Brunó és Papócsy László megérkeznek az alapköletételre

módon – egy külföldi pályázó, a német Philip Holzmann és az osztrák Universal cégek által alkotott konzorciumot bízták meg. A cég 32 résztvevő előtt nyerte el a megbízást.

Az MBK részéről a műszaki vezető a néhai Frölich Sebő volt.

Frölich Sebő óriási érdeme, hogy az épület rekordidő alatt, kiváló minőségben és pontos határidőre készült el (a tervezett átadás 1989. június volt). Kivételes lehetőséget jelentett, hogy a Kutatóközpont épületével egy időben, annak közelében 49 kutatói lakás és 30, a fiatal kutatók számára készült garzonlakás is épült. Az épületet 1989. novemberében adták át.

Az összesen mintegy 8000 m² alapterületű négyszintes épület két sarkain összekapcsolódó



Az MBK épülete 1988 novemberében

négyszintes alaprajzú. A könnyűszerkezetes belső falak lehetővé tették a változó igényekhez igazodó későbbi átalakításokat. Az akkori időben még szokatlan módon az épület teljes egészében légkondicionált volt és eleve kiépített számítógépes hálózattal rendelkezett. Az MBK számítóközpontja nemcsak a belső igényeket, hanem az Európai Molekuláris Biológiai Hálózat (EMBnet) magyar tagjaként a hazai kutatók széles körének igényeit is szolgálni tudta, majd az EMBNode magyarországi központja lett. A könyvtárat és az épület közös terreinek, tárgyalóhelyiségeinek berendezését Fehér Attila belsőépítész tervezte.

A 240 m²-es könyvtár számítógépekkel felszerelt bokszaik lehetővé tették a helybeni elmélyült olvasást. A folyóirat-gyűjtemény már a megnyitás előtt két évvel megrendelésre került, így az induláskor már jelentős folyóirat- és kézikönyv-állomány várta a kutatókat.

Az első és második szinten elhelyezkedő laboratóriumok – mintegy 4000 m² alapterülettel



Az ünnepélyes szalagátvágás: Pék János és Papócsy László

– épületgépészeti megoldásai kitűnőek. A hűtőszobák és vegyifülkék mellett a bakteriológiai fülkék, lamináris boksok helyét már a tervezéskor kijelölték. A laborberendezést a Norddeutsche Laborbau GmbH szállította. A teljes berendezés és a laborbútorok beállítása 1990-ben fejeződött be.

A nemzetközi összehasonlításban is korszerű műszerpark beszerzését egy a MÉM által koordinált világbanki kölcsön tette lehetővé, a műszerek kiválasztását pedig a kutatókból szervezett szakbizottságok végezték. A kutatások hátterét biztosító általános berendezések – spektrofotométerek, asztali centrifugák, kromatográfiás rendszerek, több FPLC – mellett több nagyműszer, köztük ultracentrifugák, elektronmikroszkóp és egy hazai viszonylatban egyedülálló fehérjeanalitikai laboratórium, automata peptidszekvenátorral és –szintetizátorral került átadásra. A legfelső szinten helyezkedett el a 760 m²-es növényház – ez a szellemes megoldás lehetővé tette a napenergia minél jobb hasznosítását. Itt két termosztálható és fotoperiódust biztosító klimatikus fülke (fitotrón) is rendelkezésre áll, a 360 m² alapterületű állatház mintegy 200 nyúl és 1000 egér/patkány elhelyezését teszi lehetővé.

A Kutatóközpont az eredeti elképzelések szerint autonóm kutatócsoportok létesítését tervezte, ezt menet közben a Tudományos Tanács javaslatára változtatták meg egy hagyományosabb formára. Ennek értelmében négy önálló intézet alakult, melyekből kettő részben alapkutatásokat, kettő pedig az alkalmazott növény- és állatbiotechnológiai kutatásokat kapta feladatul. Az alapkutató két intézet közül a Molekuláris Genetikai Intézet vezetője dr. Orosz László a szegedi József Attila Tudományegyetemről érkezett számos munkatársával és tanítványával. A Biokémia és Fehérjekutató Intézet igazgatója a Központ tudományos alapítója, dr. Pongor Sándor lett, akinek Triesztbe történő kinevezése után a vezetést dr. Asbóth Bence vette át. Ebben a két intézetben a programok 1988-ban kezdődtek. A Növénybiotechnológiai Intézetet vezető, később a központ első főigazgatójának kinevezett dr. Balázs Ervin az MTA Növényvédelmi Kutatóintézetéből, az Állatbiotechnológiai Inté-



Pongor Sándor és Pék János mutatja be a berendezést Papócsy Lászlónak

zetet igazgató dr. Solti László pedig az Állatorvosi Egyetemről érkezett. A további senior kutatók közül kiemelkedett a Puscsinóból meghívott dr. Fodor István, az SzBK-ból érkező, sajnálatosan korán elhunyt dr. Sain Béla, valamint a GyOKI-ból érkezett fehérjeanalitikus, dr. Patthy András. A Kutatóközpont indulásakor félállásban segítettek a munkát dr. Sajgó Mihály és dr. Horváth László a GATE professzorai, valamint dr. Szajáni Béla a REANAL-ból.

A kutatói állomány átlagéletkora igen fiatal volt, a többség frissen diplomázott az Eötvös Lóránd Tudományegyetemen (ELTE), a közeli GATÉ-n és a Budapesti Műszaki Egyetemen (BME). Nagy többségük már a Kutatóközpont megnyitása előtt az MBK-hoz került. A fiatalok továbbképzési programját dr. Zsigmond Attila tudományos titkár szervezte és irányította. A mintegy ötven fiatal munkatárs a tényleges munka megkezdéséig kihelyezett kutatóként egyrészt kiemelkedő hazai laboratóriumokban (elsősorban az MTA SzBK-ban, de például az ELTE gödi Immunológia Tanszékén is), másrészt külföldi kutatóintézetekben, mint a londoni

Imperial College, vagy a Cornell Egyetem, Ithaca, kapcsolódhatott be biotechnológiai kutatásokba. Ezekből a projektekből később több az MBK-ban is folytatódott. A fiatal munkatársak képzéséhez angol (sok esetben angliai) nyelvtanfolyam és számítógépes képzés is hozzátartozott. A kutatógárda a kutatóközpont megnyitásáig is munkaebédeken és beszámolókon találkozott.

Hogy az akkori toborzás milyen eredményes volt, mutatja a különböző okokból az MBK-ból távozott kutatók további tudományos pályafutása. Az akkori fiatalok közül többen ma angol, amerikai, francia, szingapuri, olasz neves kutatóhelyeken vezető kutatók. A szeniorok közül pedig Fodor István a kaliforniai Loma Linda Egyetem professzora, Pongor Sándor a trieszti ICGEB intézet bioinformatikai és fehérjekutató csoportja mellett az MTA SzBK bioinformatikai csoportjának vezetője, Burgyán József a torinói virológiai intézet igazgatója lett, míg Balázs Ervin az MTA martonvásári Mezőgazdasági Kutatóintézetének igazgatóhelyettese, kutatóprofesszora, többen pedig a hazai felsőoktatásban töltenek be jelentős szerepet.

Az alapítók az MBK-nak a felsőoktatásban is jelentős szerepet szántak. A Kutatóközpont indulásakor az említett együttműködők mellett Orosz László a GATE Genetikai Intézetének tényleges professzora, Pongor Sándor és Balázs Ervin a GATE, Solti László az Állatorvosi Egyetem professzora, Asbóth Bence az ELTE c. docense volt. A későbbiekben az MBK-ból távozó kutatók közül Solti László jelenleg a SZIE rektora, Hornok László ugyanitt rektor-helyettes. Orosz László az ELTE Genetikai Tanszékét vezette, Fári Miklós a Debreceni Egyetem Zöldségtermesztési Tanszékét vezeti, Palkovics László pedig a Corvinus Egyetem Növénykórtani Tanszékének vezetője, míg Dinnyés András a SZIE tanszékvezető egyetemi tanára.

A Kutatóközpontban a kísérleti munka érdekében 1990 második félévében kezdődött. A működés már a kezdeti években kiemelt figyelmet kapott az új állami vezetés részéről is.



Göncz Árpád, Orosz László, Fodor István, Asbóth Bence és Balázs Ervin

Az MBK megalapítását követően az első főigazgatónak kinevezett dr. Balázs Ervin irányításával a hazai szinten kiemelkedően jól felszerelt intézmény és a lelkes kutatói gárda hamarosan elismert helyet vívott ki a hazai, a mezőgazdasági, a biológiai kutatóhelyek között.

A Kutatóközpont kutatásainak súlypontja azonban – részben az egyre csökkenő állami támogatások miatt – fokozatosan változott, ami belső átszervezésekhez is vezetett. Előbb, miközben a fent említett rangot nem csak megszilárdította, de az alapkutatások terén tovább növelte az MBK dr. Nagy Ferenc főigazgató irányításával, az önálló Biokémiai és Fehérjekutató Intézet megszüntetése után ennek kutatásai a megfelelő „alkalmazott” intézetekben folytatódtak. Dr. Kiss György Botond főigazgató alatt az átszervezések tovább folytatódtak, a Kutatóközpont belső struktúrája célszerűen egyszerűsödött. Ugyanakkor – szükségszerűen – a kutatási profil is az elnyerhető támogatások miatt a közvetlenebbül gyakorlati hasznosítást lehetővé tevő kutatások felé tolódott.

Asbóth Bence

ROZSDAGOMBÁK (*PUCCINIA* SPP.) ELLENI REZISZTENCIA KIALAKÍTÁSÁNAK LEHETŐSÉGE BÚZÁBAN TRANSZGENIKUS TECHNOLÓGIÁK ALKALMAZÁSÁVAL

Ivanics Milán, Kis András, Tóth Gábor és Jenes Barnabás

Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont, 2100 Gödöllő, Szent-Györgyi A. út 4.

A búza legfontosabb gombás betegségei közé tartoznak a levélrozsdák (kórokozók: *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*, *P. striiformis* var. *striiformis*) és szározsdá (kórokozó: *Puccinia graminis*), a gabonalisztharmat (*Blumeria graminis*) és a fuzáriumos megbetegedés (kórokozók: *Fusarium* spp.). A búza és egyéb gabonafélék gombás betegségekkel szembeni ellenálló képességét a növénynevelők hosszú ideje próbálják megváltoztatni, hogy a betegségek fellépésének következményeként jelentkező termés kiesést minél jobban csökkentsék. A nemesítők elsősorban a természetes rezisztenciagéneket használják, építik be az újabb fajtákba, nincs azonban minden jelentős kórokozóval szemben megfelelő természetes rezisztenciagén, illetve a kórokozók változékonysága következtében folyamatos gondot okoz a hatékony rezisztencia kialakítása. A hagyományos nemesítés által felhasznált természetes rezisztanciagének beépítésével nem sikerült áttűtő eredményt elérni, a kutatók egyre gyakrabban próbálkoznak a biotechnológia eszközeivel, többnyire genetikai transzformációval elérni a kívánatos rezisztenciaszintet.

Kulcsszavak: rozsdagombák (*Puccinia* spp.), biotechnológia, rezisztencia, búza (*Triticum aestivum* L.)

A búza fontosabb betegségei

A búza (*Triticum aestivum* L.), mint azt a termelési adatok bizonyítják, az emberiség egyik legfontosabb gabonaféléje. Nem csak az emberi étkezésben van jelentősége, hanem fontos takarmánynövény is. Bár alkalmazkodóképessége kiváló, de sikerrel főként a kontinentális éghajlaton termeszthető növény. Allohexaploid növény ($2n=6X=42$), genomja három különböző faj kromoszómakészletéből tevődik össze (AABBDD). A búza származása máig aktívan kutatott terület. Legfrissebb kutatási eredmények szerint az A genom donora egy vad diploid faj, a *Triticum urartu* Tum. Ex Gand ($2n=2X=14$). A B genommal kapcsolatban nem egységesek a vélemények. A legnagyobb hasonlóságot a diploid *Aegilops speltoides* Tausch genomjával ($2n=2X=14$) mutatja, de sajnos nem

100%-os a hasonlóság. Ebből arra következtethetünk, hogy a B genom őse évezredek során vagy eltűnt, vagy az *A. speltoides* genomja az evolúció során jelentős változásokon ment át. E két faj kereszteződését követően történt duplikáció, amelynek eredményeképpen létrejött a tetraploid *Triticum turgidum* L. ($2n=4X=28$), ami kereszteződött a D genom őseivel az *Aegilops sguarrosával* ($2n=2X=14$). Ismételt genomduplikáció hozta létre a ma is termesztett hexaploid búzát ($2n=6X=42$) (Lángné 2006). A *Triticum aestivum* L. genommérete mindezekből adódóan igen nagy, több mint 17 milliárd bp (Kiss 1999).

Széles körű elterjedésének köszönhetően rengeteg gombafaj specializálódott rá. A gombákat parazitálási módjuk alapján három csoportba oszthatjuk: *biotróf*, *nekrotróf*, és *szaprotróf* kórokozókra. *Biotróf* kórokozói közé

tartoznak a lisztharmat (*Blumeria graminis*) és a rozsdagombafajok. Az agresszivebben fellépő, a növény sejtjeit is elpusztító *nekrótróf* kártevő gombái pedig a különböző *Fusarium* és *Septoria* fajok lehetnek. Ezek nem csupán a növényt pusztítják el, hanem a *Fusarium* fajok termésén jelentős a toxintermelés, a toxin közvetlenül vagy közvetetten az emberi szervezetben akkumulálódhat. A rozsdagombák által okozott termésveszteség pedig elérheti akár a 70%-ot is. (Barabás és Matuz 1983). Az őszi búza betegségei közül csak a biotróf és a nekrotróf gombáknak van jelentőségük. Az előbb említett típusok táplálkozásmódjukban jelentősen eltérnek egymástól (Babrik és Lajos 2008).

Biotróf kórokozó a búzalisztharmat (kórokozó: *Blumeria graminis*), amely hausztóriumi segítségével a növény tápanyagaival, anyagcseretermékeivel táplálkozik. Kleisztotéciumai segítségével a fertőzött növényi maradványokon telel át. Tavasszal ezekből aszkuszkok fejlődnek, amelyekből kiszabadulnak a gomba ivaros szaporító képletei, az aszkospórák. A primer fertőzést ezek alakítják ki, majd idővel a micéliumon fejlődő konidiumok (ivartalan szaporító képletek) fertőzik tovább az állományt. Világszerte elterjedt kórokozó, nagy termés kiesést és minőségromlást okozhat. A forma speciálisan belül különböző rasszai más-más fajtákra specializálódtak (Bán 2006). A betegség termésben okozott kártételét évjáratról függően 5–30% közé teszik (Babrik és Lajos 2008).

A rozsdagombák (*Puccinia* spp.) biotróf jellegükből adódóan jelentős élettani változásokat hoznak létre a növényben, ennek következményeképpen csökken a fotoszintézis és az anyagcsere, a légzés, a párologtatás pedig fokozódik. Az asszimiláták áramlásának útvonala megváltozik a kórokozó irányába. Mindezek miatt vízvesztés, kényszerérés következik be, a szemek megszorulnak, csökken a fehérje-, köztük a sikértartalom. A rozsdagombák által okozott termésveszteség évjáratról és agrotechnikától függően elérheti az 50–60%-ot (Babrik és Lajos 2008). A levélrozsda (kórokozó: *P. recondita* f. sp. *tritici*) vagy más néven vörösrzsda a búza leggyakoribb rozsdabetegsége hazánkban. Kisebb-nagyobb mértékben min-

den évben előfordul. A tünetek főként a levélen jelentkeznek. A vörös színű uredotelepek felszakítják a levél epidermiszét. A gomba teleutospórákkal telel át, de hazai viszonyok között uredomicélium, illetve uredospórák formájában is fennmaradhat enyhébb hideg esetén. Az elmúlt évtizedben a vörösrzsda 1999-ben, 2001-ben és 2004-ben okozott jelentősebb járványt (Babrik és Lajos 2008). A fekete-rozsda (kórokozó: *Puccinia graminis*) tünetei leggyakrabban a száron és a levélhüvelyen jelentkeznek, ahol rozsda barna színű apró urodeotelepek jelennek meg. Majd a búza érésekor ugyanitt fekete teleutelepek képződnek az áttelelő teleutospórákkal. Több, mint 200 rassa ismert, amelyek a különböző búzafajtákra specializálódtak (Bán 2006).

1999-ben, William Wagoire az Ugandában található kalengyerei kutatóállomáson végzett parcellás búzakísérletein fedezte fel a később dél-afrikai Bloemfonteine Egyetemen Zak Pretorius által azonosított új típusú szárrozsda-rasszot, amit a felfedezés helye és ideje után Ug99-nek neveztek el (*I. ábra*). A kórokozó igen agresszív, az egyik legelterjedtebb Sr31-es rozsdarezisztencia-génnel rendelkező fajtákat is képes megfertőzni (Pretorius és mtsai 2000). Rohamos terjedésének köszönhetően átjutott a Vörös-tengeren, és 2007-ben Iránban azonosították, egyes feltételezések szerint már Ukrajnában is megjelent. A kórokozó órák alatt képes megfertőzni a növényeket, melyek napok alatt megfeketednek és elszáradnak. Kenyében és Ugandában 80%-os termés kiesést okozott. 2008 áprilisában, a Cornell Egyetem (Ithaca, New York állam) vezetésével született meg az új rozsda megfékezésére irányuló kollaboratív törekvés, melyben 17 kutatóintézet vesz részt szerente a világban. A program neve: Durable Rust Resistance in Wheat (www.wheatrust.cornell.edu). A kutatók eddigi eredménye 60 ellenálló búzatörzs, amelyek felhasználásával tervezik fokozni a helyi fajták toleranciáját. Norman Borlaug Nobel-békedíjas mezőgazdász szerint az Ug99 képes elpusztítani a világ összes kenyérgabonáját.

A búza nekrotróf, tehát a növény sejtjeit elpusztító és annak anyagaival táplálkozó gombás



1. ábra. Az Ug99 szárrozsda tünetei búzán
(<http://www.ars.usda.gov/Main/docs.htm?docid=9910>)

A nemesítők elsősorban a természetben előforduló, hagyományos keresztezési eljárásokkal alkalmazható rezisztenciagének használják, keresztezik át az újabb fajtákba, nincs azonban minden jelentős kórokozóval szemben megfelelő természetes rezisztenciagén, illetve a kórokozók változékonysága következtében folyamatos gondot okoz a „gén a génnel szemben” nemesítési elv alapján a hatékony rezisztencia kialakítására.

betegsége többek között a fuzariózis. A fertőzést legtöbbször a *Fusarium graminearum* és/vagy a *F. culmorum* okozza, de rajtuk kívül még legalább 15 faj fordul elő hazánkban. Talajlakó, fakultatív parazita szervezetek, ami azt jelenti, hogy életük egy részében szaprofitaként élnek, és hasznos, lebontó tevékenységet végeznek a talajban. Akkor válhatnak kórokozóvá, ha a növényállomány valamely külső oknál fogva legyengül, illetve gyakran a növényeken található sebzéseken keresztül is fertőznek. Áttelelhetnek peritéciummal, micéliummal, és klamidospórával növényi maradványokon, talajban, de a vetőmagban vagy annak felületén is. Már a csíranövényeket is fertőzheti, így azok akár kelés előtt is elhalhatnak vagy hótakaró nélküli hideg teleken jelentős fagykár alakulhat ki hatásukra. A gyökéren és a száralapon infekció helyén nagy kiterjedésű elmosódott szélű sötét csíkok jelennek meg, majd a fertőzött részek elrothadnak. Kalászfertőzés esetén a kalászkák vagy az egész kalász kifehéredik, steril. A fertőzött részen fehéres-rózsaszínes spóratömeg jelenik meg, majd apró fekete pontok, az ivaros termőtestek, a peritéciumok válnak láthatóvá. Legfontosabb fegyvereik, amik a sejtek elpusztításában, feltárásában részt vesznek a különböző sejtfalbontó enzimek, növekedésszabályozó anyagok és a toxinok. A növény minden részét minden fejlődési szakaszban megtámadhatják, de legveszélyesebb a kalászfertőzés (Babrik és Lajos 2008, Bán 2006).

Hogyan védekeznek a búza?

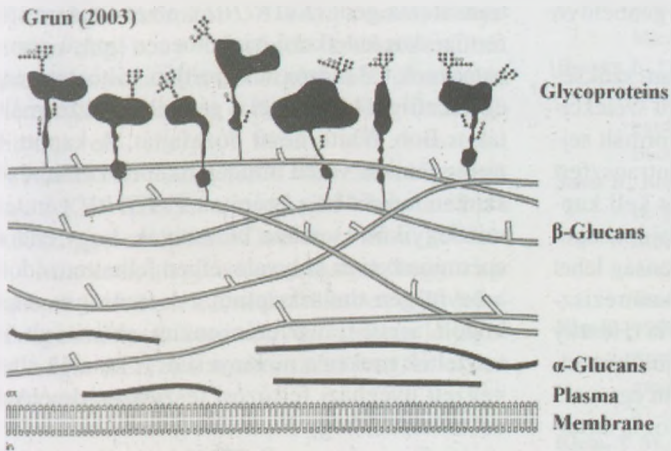
A növényeknek, ezen belül a gabonaféléknek, a búzának is, kórokozó gombák támadásakor van védekező mechanizmusuk. E komplex ellenválasz része az úgynevezett PR (pathogenesis related) enzimek termelése. Meghatározó szerepük van ezen belül a kitinázoknak és az 1,3- β -glükánázoknak gombagátló aktivitásuk miatt (Stintzi és mtsai 1993), a gombák túlnyomó többségében ugyanis a sejtfa két fő építőeleme a kitin és az 1,3-glikozidos kötésekkel felépülő β -glükán (Sahai és Manocha 1993).

A gombák sejtjeit jól definiált sejtfa határolja, mely védi a környezeti hatásoktól, és a sejt alakját is kialakítja. Sejtfaát három réteg építi fel, egy α -glükán, egy β -glükán, melyet egy glükoprotein réteg határol (Grün 2003) (2. ábra).

Mindezekon kívül cellulózt is tartalmazhat az egyes gombák sejtfa. A különböző építőelemek aránya fajtól függően eltérő. Sőt, a fonalas gombákban, az apikálisan növekedő hifacsúcs sejtfaának összetétele folyamatosan változik, a fokozott anyagcsere következtében (Szentirmai 2009).

Hogyan támogathatjuk a rezisztenciára nemesítést a molekuláris nemesítés eszközeivel?

A természetes védő mechanizmusok gyakran nem nyújtanak elégséges védelmet, annak



2. ábra. A gombasejtfal szerkezeti felépítése (Grün 2003)

ellenére, hogy például ha rozsdagombás fertőzés történik akár a levélen, akár a száron, a környezetben lévő sejtekben azonnal beindul a már fent említett enzimek termelése. A búza gombákkal szembeni rezisztenciáját már többen próbálták különféle megközelítéssel növelni. Mivel a hagyományos nemesítés által felhasznált természetes rezisztanciagének beépítésével nem sikerült átütő eredményt elérni, a kutatók egyre gyakrabban próbálkoznak a biotechnológia eszközeivel (Haran és mtsai 1996, Goldman és mtsai 1994, Lorito és mtsai 1993, 1998) ezen belül, genetikai transzformációval elérni a kívánt rezisztenciát. Növényi, illetve baktérium eredetű kitináz-géneket hordozó transzgenikus növények létrehozására, a kórokozó gombák elleni rezisztencia növelése végett már a 90-es években is folytak kísérletek (Schickler és Chet 1997).

A transzgenikus növény előállításakor három fő feltételnek kell teljesülnie. Egyrészt hatékony *in vitro* növényregenerációs rendszerüknek kell lennie, ahol a regeneránsok dedifferenciált sejt kultúrákból (kallusz, sejtszuszpenzió) *de novo* fejlődnek (Birch 1997). A 1990-es évek elejétől kezdve már rendelkezésre álltak a megfelelő szövettenyésztési rendszerek a legfontosabb gabonaféléknél (Vasil és Vasil 1984, Vasil és mtsai 1992). A búza dedifferenciált sejtenyészteteinek indukciója során kiderült, hogy a növényregeneráció hatékonysága szempontjából a kiindulási explantum eredete és

preparálásának módja, a használt genotípus, az indukciós táptalaj só- és növekedési regulátor összetétele, valamint az *in vitro* inkubáció környezeti feltételei a legfontosabb optimalizálандó paraméterek a növény-sejt-növény rendszerben (Mathias 1990).

Másrészt lennie kell egy hatékony módszerünknek, az általunk fontosnak tartott tulajdonságot hordozó DNS szakasz genetikai transzformációjára. A növényi transzformációs rendszereket alapvetően két csoportba sorolhatjuk: közvetett és közvetlen géntranszfer.

A közvetett géntranszfernek minősül az *Agrobacterium tumefaciens* fertőzéssel létrehozott génbevitel, amelynél a baktérium tumor-indukáló (Ti) plazmidja a vektor. A plazmid egy része (T-DNS) átkerül a növényi sejtbe, és annak genomjába integrálódik (Kiss 1999). Rekombináns DNS technikák segítségével az előbb említett T-DNS szakasz általunk fontos tulajdonságot hordozó szekvenciára cserélhető, mely így hasonló módon, mint az eredeti mechanizmusa a baktériumnak, integrálódik a genomba.

A közvetlen géntranszfer módszerek közé soroljuk a génpuskával történő (biolisztikus), a kémiai (PEG) és a fizikai kezeléssel (elektroporáció) létrehozott génátvitelt. A biolisztikus elvre alapozott génpuskával történő géntranszfer esetén volfrám, vagy aranyrészecskékre tapasztva löjük be a növényi sejtekbe a transzgént tartalmazó plazmidot (Heszky 2005).

Egyszikű növények, ezen belül is a gabonafélék genetikai transzformációjának legszélesebb körben elterjedt módszere, a nagy sebességre gyorsított DNS-molekulákkal bevont mikrolövedékek közvetlen sejtekbe történő bejuttatása (belövése) (Sanford és mtsai 1987, Klein és mtsai 1992, Russell és mtsai 1992). Működési elvét tekintve több hasonló koncepció is született, viszont a technikai megoldások tekintetében mindegyik egyedülálló. Az egyik ilyen koncepció a magyar fejlesztésű és gyárt-

mányú GENEBOOSTER™ típusú génbelövő készülék (Jenes és mtsai 1996).

Harmadrészt, de nem utolsósorban, szükségünk van egy megfelelő hatékonyságú szelekciós rendszerre. Ahhoz, hogy a transzformált sejteket könnyen kiválaszthassuk a géntranszfer követően, megfelelő szelekciós gént kell kapcsolnunk a számunkra hasznos tulajdonságot kódoló szekvenciák után. Ez a tulajdonság lehet többek között valamilyen antibiotikumrezisztencia vagy totális herbicidrezisztencia (Heszky 2005). A szelekciós gént kapcsolhatjuk közvetlenül a gazdaságilag hasznos gén után egy vektorba, de külön transzformációs vektor is tartalmazhatja a kazettákat. Az utóbbi módszerrel való transzformációt kotranszformációnak nevezzük. Az így szelektált sejtek kb. 50%-a tartalmazni fogja a kívánatos tulajdonságot is. A kotranszformáció előnye az, hogy a marker gén hagyományos nemesítési módszerekkel könnyen eltávolítható.

Mindezen feltételek birtokában több kutatócsoport is alkalmazta a genetikai transzformáció adta lehetőséget gombafertőzésre rezisztens búza előállítására.

Néhány példa

A Hamburgi Egyetem kutatói az *Aspergillus giganteus* gombafajból izolált Ag-AFP-nek elnevezett gombaölő hatású gént, és az árpa kitináz II génjét építették be búzába, melyeket kukorica ubiquitin promóterrel vezéreltek. A transzgént 17 vonal örökítette tovább, amit a negyedik generációban is sikerült kimutatni. A biotesztek azt mutatták, hogy mind az Ag-AFP, mind az árpa kitináz gént tartalmazó vonalakon talált gabonalisztharmat (*Blumeria graminis*), és levélrozsdá (*Puccinia recondita* f.sp. *tritici*) kolóniák száma szignifikánsan csökkent a kontroll növényekhez képest. A mesterséges fertőzési tesztek kimutatták, hogy a rezisztencia mindkét génnel transzformált növényekben a gombaspóra mennyiségétől függött. 80–100 spóra/cm² inokulumsűrűség esetén 40–50%-kal sikerült gátolni a megbetegedést (Oldach és mtsai 2001).

Kaliforniai kutatók *Fusarium sporotrichioides* gombafajból izoláltak egy acetil-

transzferáz gént (*FsTRI101*), amely fuzárium-fertőzésekor keletkező trichothecén típusú gombatoxinok C3 hidroxilcsoportján változtat meg egy acetilgyököt. Ezzel a génnel transzformálták a Bob White nevű búzafajtát. A kapott 4 transzgenikus vonal mindegyikében különböző szinten működött a beépített *FsTRI101* gén, és mindegyikük esetében kimutatták, hogy endospermiumban és pelyvalevélben felhalmozódott a bevitt gén transzkriptuma. A transzgen által kódolt acetil-transzferáz enzim aktivitását is tesztelték ezeken a növényeken. A kutatók által végzett üvegházi fertőzési tesztek eredményei azt mutatták, hogy *Fusarium graminearum* fertőzéssel szemben az *FsTRI101* gén által kódolt enzim részleges védelmet nyújt (Okabura és mtsai 2002).

A Kansas állambeli egyetem kutatói egy fuzáriumrezisztens búzafajtát (Sumai 3) használtak fel arra, hogy a kórokozóval szemben rezisztenciát nyújtó géneket azonosítsanak. A búza kalászat mesterségesen fertőzték, majd a fertőzött növényekből készült cDNS könyvtárból különböző patogenezissel kapcsolatos géneket izoláltak, melyek felhasználásával transzgenikus búzanövényeket hoztak létre. Az így előállított 24 vonal közül 20-ban a bevitt gén az első vagy a második generációban elcsendesedett. A maradék 4 vonalban a transzgen vagy transzgen-kombinációk stabilan öröklődtek több generáción keresztül. Egy kitináz és béta-1,3-glükánáz gént tartalmazó vonal a biotesztek során késleltetett *Fusarium graminearum*-fertőzést mutatott. Egy másik, thaumatinszerű fehérjét (tlp) expresszáló vonal mérsékelt rezisztenciát mutatott *Fusarium*-fertőzés hatására. A szántóföldi körülmények között végzett teszteken az erős kórokozó-fertőzéssel szemben mindegyik transzgenikus vonal kudarcot vallott. A kutatók azt feltételezik, hogy hiányzik belőlük az I. típusú rezisztencia a kezdeti fertőzés megállítására (Anand és mtsai 2003, Chen és mtsai 1998).

Svájci kutatók egy *Ustilago maydis* üszögombát fertőző vírus gombaölő fehérjéjét (KP4) izolálták. A génről átíródó mRNS-ről cDNS-t készítettek, majd elkészítették a kukorica ubiquitin promóterrel irányított genkonstrukciót.

Köszögre (kórokozó: *Tilletia caries*) kifejezetten fogékony búzafajtát transzformáltak. Az egyes vonalak a transzgént több generáción keresztül is sikeresen örökítették. Hét vonalat állítottak elő, melyből három volt rezisztens. A szántóföldi tesztekben is sikeresnek bizonyultak a KP4 fehérjét expresszáló búzavonalak a köszöggel szemben (Clausen és mtsai 2000).

Mindezek alapján elmondhatjuk, hogy a kutatások felfedezték a szakterületben rejlő lehetőségeket, és az eredményeik alapján létjogosultságot szereztek a nemesítési programokban való részvételre.

IRODALOM

- Anand, A., Zhou, T., Trick, H. N., Gill, B. S., Bockus, W. W. and Muthukrishnan, S. (2003): Greenhouse and field testing of transgenic wheat plants stably expressing genes for thaumatin-like protein, chitinase and glucanase against *Fusarium graminearum*. *Journal of Experimental Botany*, 54: 384.
- Babrik Zs. és Lajos M. (2008): Agrofil-SZMI Kft., <http://www.agrofil.hu/agro/oszi-buza-gomba-betegsege>
- Bán R. (2006.): Növénykórtan, Szent István Egyetem, Gödöllő egyetemi jegyzet, 6–13.
- Barabás Z. és Matuz J. (1983): A levélrozsda- és a lisztharmat-epidémia, illetve különféle rezisztenciátipusok befolyása őszi búza-genotípusok termésére. *Növénytermelés*, 32 (3): 193–198.
- Birch, R. G. (1997): Plant transformation: problems and strategies for practical application. *Annual Reviews in Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 48: 297–326.
- Chen, W. P., Gu, X., Liang, G. H., Muthukrishnan, S., Chen, P. D., Liu, D. J. and Gill, B. S. (1998): Introduction and constitutive expression of a rice chitinase gene in bread wheat using biolistic bombardment and the *bar* gene as a selectable marker. *Theor. Appl. Genet.*, 97: 1296–1306.
- Clausen, M., Kräuter, R., Schachermayr, G., Potrykus, I. and Sautter, C. (2000): Antifungal activity of a virally encoded gene in transgenic wheat. *Nature Biotechnology*, 18: 446–449.
- Goldman, G., Hayes, C. and Harman, G. E. (1994): Molecular and cellular biology of biocontrol by *Trichoderma* spp. *TIBTECH*, 12: 478–482.
- Grün, C. H. (2003): Structure and Biosynthesis of Fungal- α -Glucans. Ph.D. dissertation, Univ. Utrecht.
- Haran, S., Schickler, H. and Chet, I. (1996): Molecular mechanisms of lytic enzymes involved in the biocontrol activity of *Trichoderma harzianum*. *Microbiology*, 42: 2321–2331.
- Heszky L. (2005): A növényi géntechnológia alapjai. In: Heszky L., Fésüs L. és Hornok L. (szerk.) *Mezőgazdasági biotechnológia*. Agroinform Kiadó, Budapest, 158–159.
- Jenes B., Bittencourt, P. A. L., Csányi Á., Pauk J., Nagy I., Toldi O. and Balázs E. (1996): The GENE-BOOSTER – a new microprojectile bombardment device – for genetic transformation of plants. *Plant Tissue Culture and Biotechnology*, 2: 42.
- Kiss E. (1999): Növényi molekuláris genetika I., Gödöllői Agrártudományi Egyetem Genetika és Növénynevelés Tanszék, egyetemi jegyzet, Gödöllő, 6., 67–68.
- Klein, T. M., Arentzen, R., Lewis, P. A. and Fitzpatrick-McElligott, S. (1992): Transformation of microbes, plants and animals by particle bombardment. *Bio/technology*, 10: 286–291.
- Lángné M. M. (2006): Idegen fajú addíciók, szubsztitúciók és transzlokációk létrehozása búzában. In: Dudits, D. (szerk.) *A búza nemesítésének tudománya – A funkcionális genomikától a vetőmagig*. MTA Szegedi Biológiai Központ – Winter Fair Kft. Szeged 33.
- Lorito, M., Harman, G. E., Hayes, C. K., Broadway, R. M., Tronsmo, A., Woo, S. L. and Di Pietro, A. (1993): Chitinolytic enzymes produced by *Trichoderma harzianum*: Antifungal activity of purified endochitinase and chitobiosidase. *Phytopathology*, 83: 302–307.
- Lorito, M., Woo, S. L., Fernandez, I. G., Colucci, G., Harman, G. E., Pintor-Toro, J., Filippone, E., Muccifora, S., Lawrence, C. B., Zoina, A., Tuzun, S. and Scala, F. (1998): Genes from mycoparasitic fungi as a source for improving plant resistance to fungal pathogens. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 95: 7860–7865.
- Mathias, R. J. (1990): Factors affecting the establishment of callus cultures in wheat. In: *Biotechnology in Agriculture and Forestry* Vol. 13, Wheat, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York, 24–46.
- Okubara, P. A., Blechl, A. E., McCormick, S. P., Alexander, N. J., Dill-Macky, R. and Hohn, T. M. (2002): Engineering deoxynivalenol metabolism in wheat through the expression of a fungal trichothecene acetyltransferase gene. *Theor Appl Genet*, 106: 74–83.
- Oldach, K. H., Becker, D. and Lorz, H. (2001): Heterologous expression of genes mediating enhanced fungal resistance in transgenic wheat. *Mol. Plant Microbe Interact.*, 14 (7): 832–838.
- Pretorius, Z. A., Singh, R. P., Wagoire, W. W. and Payne, T. S. (2000): Detection of Virulence to Wheat

- Stem Rust Resistance Gene *Sr31* in *Puccinia graminis* f.sp. *tritici* in Uganda. *Plant Dis.*, 84: 203.
- Russell, J. A., Roy, M. K. and Sanford, J. C.** (1992): Major improvements in biolistic transformation of suspension-cultured tobacco cells. *In Vitro Cell Devel. Biol.*, 28P: 97–105.
- Sahai, A. S. and Manocha, M. S.** (1993): Chitinases of fungi and plants: their involvement in morphogenesis and host-parasite interaction. *FEMS Microbiol. Rev.*, 11: 317–338.
- Sanford, J. C., Klein, T. M., Wolf, E. D. and Allen, N.** (1987): Delivery of substances into cells and tissues using a particle bombardment process. *J. Part. Sci. Technol.*, 5: 27–37.
- Schickler, H. and Chet, I.** (1997): Heterologous gene expression to improve plant defense against phytopathogenic fungi. *J. Industrial Microbiol. & Biotechnol.*, 19: 196–201.
- Szentirmai A.** (2009): A gombák birodalma. (oktatási segédlet), Összeállította: Szentirmai, A. Emeritus prof., Debreceni Egyetem, TTK Genetika és Alkalmazott Mikrobiológia Tanszék, http://delfin.unideb.hu/~szentirm/gombak_birodalma.doc
- Stintzi, A., Heitz, T., Prasad, V., Wiedemann-Merdinoglu, S., Kauffmann, S., Geoffroy, P., Legrand, M. and Fritig, B.** (1993): Plant 'pathogenesis-related' proteins and their role in defense against pathogens. *Biochimie*, 75: 687–706.
- Vasil, I. K. and Vasil, V.** (1984): *in vitro* culture of cereals and grasses. In: **Vasil, I.K. and Thorpe, T.A.** (eds) *Plant Cell and Tissue Culture*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 293–312.
- Vasil, V., Castillo, A. M., Fromm, M. E. and Vasil, I. K.** (1992): Herbicide resistant fertile transgenic wheat plants obtained by microprojectile bombardment of regenerable embryogenic callus. *Bio/Technology*, 10: 667–674.

POSSIBILITIES TO DEVELOP RESISTANCE AGAINST RUST SPECIES (*Puccinia* spp.) IN WHEAT USING TRANSGENIC TECHNOLOGIES.

M. Ivanics, A. Kis, G. Tóth and B. Jenés

Agricultural Biotechnology Center, 2100 Gödöllő, Szent-Györgyi A. str. 4.

Leaf rust (*Puccinia recondita* f. sp. *tritici*), stem rust (*Puccinia graminis*), powdery mildew (*Blumeria graminis*) and the fusarium disease (*Fusarium* spp.) are considered to be the most significant pathogens of wheat and other cereals. The breeders have been trying for long time to improve the resistance of wheat against fungus pathogens to reduce the harvest loss caused by these diseases. First of all they apply the endogenous resistance genes in the new cultivars but there is no effective endogenous resistance gene against each pathogen, on the other hand it is a permanent difficulty to induce effective resistance to follow the variability of pathogens. Since the classical/conventional breeding methods can not produced a breakthrough so far, the researchers turn more often to the tools of biotechnology to reach the expected level of resistance by genetic transformation.

Keywords: rust diseases (*Puccinia* spp.), biotechnology, resistance, wheat (*Triticum aestivum* L.)

Érkezett: 2010. április 23.

REZISZTENCIÁT BIZTOSÍTÓ GÉNEKHEZ KAPCSOLT MOLEKULÁRIS MARKEREK FEJLESZTÉSE PAPRIKÁBAN

Földi Tímea Júlia, Jeney Apor és Kiss György Botond

Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont, 2100 Gödöllő, Szent-Györgyi A. u. 4.

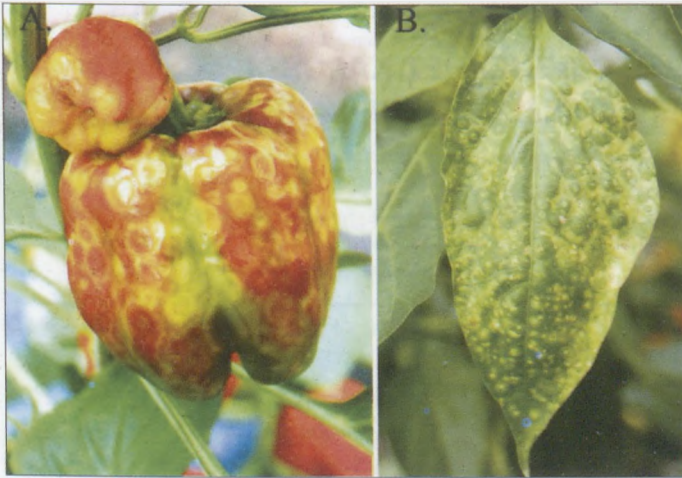
A nemesítési programok során alkalmazott kapcsolt DNS-markerek használata (MAS-Marker Assisted Selection) hatékony eszköz előnyös tulajdonságok öröklődésének követésére, és azok ismeretében nemesítési anyagok kiválasztására. A DNS-markerek segítségével a veszélyes és hosszadalmas biológiai rezisztenciatesztek kiválthatók, illetve eredményeik megerősíthetők. Kísérleteinkben a paprika egyik legfontosabb kórokozója, a paradicsom foltos hervadás vírus és a gyökérgubacsfonálféreg okozta kártétel ellen rezisztenciát adó Tsw és Me1 génekhez azonosítottunk kapcsolt molekuláris markereket BSA/AFLP módszer és térképtranszfer segítségével, valamint irodalomban publikált markerek adaptációjával. Mindkét rezisztenciagén esetében sikerült olyan markereket fejleszteniünk, melyek felhasználásával a fenotípusos rezisztenciateszt elvégzése nélkül is nagy biztonsággal meghatározható a vizsgált paprikaegyedek genotípusa.

Kulcsszavak: paprika, TSWV, *Meloidogyne* spp., MAS, rezisztencia

A paprika a burgonyafélék (*Solanaceae*) családjába tartozik, amely az egyik legnépesebb növény család, több mint 3000 idetartozó fajjal. A *Capsicum* nemzetség öt fajtát (*C. annuum*, *C. chinense*, *C. baccatum*, *C. frutescens*, *C. pubescens*) világszerte termesztik, ezek közül a legelterjedtebbek a *C. annuum* nemesítési alapanyagok F1 hibridjei (Kim és mtsai 2008a). A másik négy fajt fűszernövényként használják, illetve genetikai állományuk betegségek elleni rezisztenciaforrásként szolgál a nemesítők számára (Minamiyama és mtsai 2006). Magyarországot a világ 10 legnagyobb paprikatermesztő országa között tartják számon (Fehér 2007), és a nemzeti paprikafogyasztás is jelentős (kb. 10 kg/fő/év).

A paprikatermesztés során számos kórokozó és kártevő okoz mennyiségi és minőségi termésvesztést. A növényvírusok közül több mint 40 faj képes fertőzni a paprikát, de hazánkban súlyosabb károkat csak a dohány mozaik vírus (*Tobacco mosaic virus*, TMV), a

paradicsom foltos hervadás vírus (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV) és az uborka mozaik vírus (*Cucumber mosaic virus*, CMV) okoz. A Tospovírus nemzetségbe tartozó TSWV az egyik legelterjedtebb, mintegy 900 gazdanövényen előforduló kórokozó. Magyarországon először 1972-ben, a nyírségi dohánytermesztő körzetekben írták le megjelenését (Ligeti és Nagy 1972). A vírus vektoraként szolgáló nyugati virágtripsz (*Frankliniella occidentalis*) behurcolásával rendkívül gyorsan elterjedt hazánkban, ezzel súlyos károkat okozva a paprikatermesztésben. A fertőzés során a leveleken sárga, klorotikus gyűrűk jelenhetnek meg, súlyosabb esetekben ezek a tünetek a paprikabogyón is megfigyelhetők (1. ábra). A vírusok elleni védekezés nehézsége miatt különösen fontos a TSWV-vel szemben ellenálló fajták termesztése. Ezt nagymértékben elősegítheti, hogy a *C. chinense* vad fajban, amely könnyen keresztezhető a *C. annuum* fajjal, ismert egy, a vírus ellen hatékony védelmet adó monogénes domináns



1. ábra. TSWV fertőzés tünetei fogékony paprika bogyóján (A) és levelén (B)

rezisztenciagén (*Tsw*) (Black és mtsai 1991, Boiteux és mtsai 1993, Costa és mtsai 1995).

Ugyancsak súlyos problémát jelent a paprikatermesztésben a gyökérgubacs-fonálféreg (*Meloidogyne* spp.) kártétele, amely elsősorban fóliasátorban és üvegházban gyakori (*M. incognita*, *M. arenaria*, *M. javanica*), de előfordul szabadföldön (*M. hapla*) is. A paprika gyökérzetén keletkező gubacsok (2. ábra) növekedési zavarokhoz vezetnek a csökkent tápanyag- és vízfelvétel miatt. A gyökerek a fejlődésben visszamaradnak, és a növények idő előtti pusztulása is bekövetkezhet, a termésveszteség akár 30–40%-os is lehet. A hatékony talajfertőtlenítéshez korábban használt metilbromidot (CH₃Br) 2005-től betiltották, így megnőtt a rezisztens fajták előállításának jelentősége. A gyökérgubacs-fonálféreg ellen több természetes rezisztenciaforrást azonosítottak vad paprikafajokban. Ezek általában egyes *Meloidogyne* fajok ellen nyújtanak védelmet, és különböző mechanizmusokkal csökkentik vagy gátolják azok fejlődését, illetve szaporodását. Vannak azonban köztük olyanok is, melyek több fonálféreg-

faj ellen is hatásosak, mint például a *Mel* rezisztenciagén, amely három gyökérgubacs-fonálféreg faj (*M. incognita*, *M. arenaria*, *M. javanica*) ellen ad védelmet (Hendy és mtsai 1985).

Új, rezisztens paprikafajták létrehozása hagyományos nemesítéssel rendkívül költséges, időigényes, valamint a biológiai tesztek miatt bizonytalan és veszélyes folyamat. Ezek a hátrányok teszik indokolttá a molekuláris módszerek alkalmazását a nemesítésben. A marker alapú szelekció (MAS-Marker Assisted Selection) során egy gazdasági előnyt jelentő tulajdonságért felelős génhez, ese-

tünkben az adott rezisztenciagénekhez kapcsolt DNS alapú molekuláris markereket azonosítunk, majd azokat a nemesítésben a gének követésére használjuk, ezzel a nemesítés ideje rövidül. Ez annak köszönhető, hogy a rezisztens és szenzitív utódokat, valamint a domináns homozigóta és domináns heterozigóta egyedeket a fejlődés korai szakaszában azonosítani lehet, ebből következően az időigényes, és bonyolult kísérletsorozatot igénylő fenotipizálás (rezisztenciateszt) részben vagy egészen elhagyható.



2. ábra. *M. incognitával* fertőzött homozigótarezisztens (A) és homozigótaszenzitív (B) paprika gyökere; jól látszanak a fonálféreg okozta gubacsok a szenzitív növény gyökerén

A DNS markerekkel szemben támasztott legfontosabb követelmény a „közelség” és a „kétoldaliság”, vagyis a markerek genetikai távolságban mérve legyenek minél közelebb (néhány centimorgan) a rezisztencialokuszhoz, pozíciójukat tekintve pedig a lokusz két oldalán helyezkedjenek el. A kapcsolt DNS alapú molekuláris markerek azonosítása hibridizációs, illetve PCR technikán alapuló módszerekkel lehetséges. Ez utóbbi előnye gyorsaságában és rendkívüli érzékenységében rejlik. PCR alapú markereket létre lehet hozni CAPS, RAPD, SSR, ALFP stb. technikák felhasználásával (Hajósiné 1999). Az irodalomban közölt paprika-, paradicsom- és burgonyatérképeken szereplő genetikai markerek adaptációjával is azonosíthatunk kapcsolt markereket, mert e fajok genomjának bizonyos részei szintenikusak, vagyis génsorrendjük több genomi régióban azonos vagy hasonló (Livingstone és mtsai 1999, Tanksley és mtsai 1992). A térképtranszfer alkalmazásához ismernünk kell az általunk vizsgált tulajdonság térképhelyzetét. Ha ez irodalmi adatokból nem ismert, térképezéssel határozhatjuk azt meg. Az ellenálló és fogékony tulajdonság követésére maga a rezisztenciáért felelős gén a legalkalmasabb. Ehhez azonban először a kapcsolt markereket és egyéb molekuláris biológiai, valamint bioinformatikai módszereket felhasználva a gént izolálni és a mutációt azonosítani kell, vagyis a genetikai térképezésen alapuló klónozást kell elvégezni.

A kórokozók és a kártevők elleni védelem egyik legsikeresebb, környezetbarát módja a rezisztens fajták termesztése. Ilyen új fajták létrehozása azonban nem egyszerű feladat, és gazdaságos, gyors előállításuk a molekuláris markerek alkalmazása nélkül elképzelhetetlen. A következőkben bemutatjuk a domináns *Tsw* és *Mel* génhez kapcsolt DNS alapú molekuláris markerek azonosítását, valamint felhasználási lehetőségüket a nemesítésben.

Anyag és módszer

Vizsgálatainkhoz a „10320” nevű populációt használtuk, amely a JÁP 4/020/2005 számú pályázat keretei között készült hagyományos

nemesítési módszerekkel és két *C. annuum* keresztezéséből származó F1 egyed önbeporzásával létrehozott 950 db F2 egyedet tartalmazott. A hibrid anyavonal egy francia eredetű, sötétzöld, hegyes, csipős bogyójú, HD 322 jelű dihaploid vonal volt, amely a PM217-es tételtől származó fonálféreg elleni *Mel* gént tartalmazta. Az apavonal (CP-555) a TSWV rezisztenciáért felelős *Tsw* gént tartalmazó magyar típusú, fehér, tölteni való bogyójú F1 hibrid volt. A CP-555 *Tsw* génje a *C. chinense* PI 159236 számú tételtől származott. Vizsgálatainkhoz a „10320”-as populáció F2, illetve F3 utódait használtuk fel.

A TSWV fertőzéshez TSWV-vel fertőzött paprikabogyót használtunk, amelyet fóliasátorban termesztett TMV-rezisztens, de TSWV-szenzitív és azzal fertőzött paprikanövényekről gyűjtöttünk be. A TSWV vírus jelenlétét, illetve egyéb paprikát fertőző vírusok hiányát PCR vizsgálatokkal mutattuk ki, majd a TSWV-re pozitív eredményt adó bogyókat -80°C -on tároltuk. Az inokuláláshoz a bogyókat jégturmixban pépesítettük, a levet szűrtük, és hígítás nélkül használtuk. Az inokulálás során a szikleveles növényeket mikrosérüléseket okozó carborundum porral beszórtuk, majd a présnedvet ecsettel a sziklevelekre kentük. Ezt követően $23-26^{\circ}\text{C}$ -on tartottuk a növényeket. A rezisztens egyedeken 5–6 nap múlva szövetelhalásos tünetek jelentek meg (hiperszenzitív reakció), de a vírus nem szisztemizálódott. A fogékony egyedekben fokozatosan szisztemizálódott a vírus, hőmérsékleti és fényviszonyoktól függően enyhébb vagy erősebb sárgás mozaikos tünetek voltak láthatóak a fertőzött szikleveleken és a fiatal leveleken is.

A gyökérgubacsfonálféreg-fertőzésekhez használt fonálféregtörzs (*M. incognita*) a Budapesti Corvinus Egyetem Rovartani Tanszékéről származott (Mándoki 2010). A fertőző anyag fenntartása paprikanövényeken történt. A fertőzéshez a fertőző anyag kinyerését az irodalomban közölt módszertől (Lambert és mtsai 1992) eltérően az alábbiak szerint végeztük. Az előzőleg megfertőzött paprikagyökereken elszaporodott fonálféreg tojászsákokat leválasztottuk a gyökérről, majd mikrocentrifugacsőbe helyeztük, amit a petecsomók térfogatához képest

3×-os mennyiségű steril MilliQ vízzel megtöltöttünk. A petecsomókat dárdával vagy üvegpotter segítségével szétnyomkodtuk, ezután 3 percig Vortexszel kevertük. A kiszabadult petékkal teli keveréket 10×-esre hígítottuk, és sztereomikroszkóp alatt meghatároztuk a petesűrűséget. A fertőzéskor 1 cm³ földre 4 db petével számoltunk. A megfelelően hígított fertőző anyagot a 7 hetes (5 leveles) magoncok földjébe 2 cm mély lyukakba 4 helyen, közvetlen a gyökér közelében juttattuk ki. A növényeket normál üvegházi körülmények között neveltük, a fonálféregteszet 6–8 héttel a fertőzést követően értékeltük. A fertőzött gyökereket megtisztítottuk a földtől, majd 1–2 percig szikkasztottuk. Ezután a szárat eltávolítottuk, és a teljes gyökértömeget meghatároztuk. A mellékgyökerekből az összegyökértömeg 10%-át kétszer véletlenszerűen kimeltük, és ezen határoztuk meg a fertőzöttség mértékét, megszámlolva a kifejlődött tojászsákokat. Az értékeléskor azokat a növényeket fogadtuk el gyökérgubacs-fonálféreggel szemben rezisztensnek, amelyek gyökerén ötnél kevesebb tojászsákot találtunk. A szenzitív növényeken a petecsomók száma ötvennél több volt.

Genomi DNS-t fiatal levelekből izoláltunk a ZenoGene nukleinsav-tisztító készlettel (Zenon Bio Kft., Szeged), az abban szereplő protokollnak megfelelően. A munka során a PCR reakciók (25 µl végtérfogat) a következőket tartalmazták: 1× PCR puffer, 1,5 µM MgCl₂, 0,2 mM dNTPs, 0,5 µM az egyes primerekből, 1,5 U Taq polimeráz (ZenonBio), 100–200 ng templát DNS. A PCR kondíciókat mindig az adott primerekhez optimalizáltuk, az új primerpárok optimális tapadási hőmérsékletét gradiens PCR-rel állapítottuk meg. Az amplifikált termékeket elektroforézissel etidium-bromidot tartalmazó, 1–3% (w/v)-os agarózgélben választottuk szét.

A markerazonosítás során az AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) módszert kombináltuk BSA (Bulked Segregant Analysis) módszerrel. Az AFLP vizsgálatok során (Vos és mtsai 1995) a ritkán vágó *EcoRI* és *PstI*, valamint a gyakran vágó *MseI* enzimeket használtuk. Az *EcoRI* és *PstI* hasítóhelyeket tartalmazó primereket fluoreszkáló festékekkel jelöltük a későbbi detektálhatóság végett. A kapott

DNS-fragmentumokat ABI 3100 kapilláris szekvenáló és ALF Express II. fragmentanalizáló készülékekkel, valamint 5%-os poliakrilamid (PAA) gélen választottuk el. A BSA módszer (Michelmore és mtsai 1991) alapján 7–7, ismert genotípusú növény azonos mennyiségű preamplifikált DNS-éből létrehoztunk egy szenzitív és egy rezisztens csoportot, amelyeken elvégeztük a szelektív amplifikációt. Ha polimorfizmust találtunk, a csoportokat szétbontottuk és az egyedi mintákon is elvégeztük az AFLP vizsgálatot.

A polimorfizmust mutató AFLP primerkombinációkkal kapott amplifikációs termékeket izoláltuk és klónoztuk. A klónokat szekvenáltattuk (Biomi Kft.), majd a kapott szekvenciákra specifikus primereket terveztünk. Ha ezek a SCAR (Sequence-Characterized Amplified Regions, Michelmore és mtsai 1991) markerek nem bizonyultak alkalmasnak polimorfizmus kimutatására, azaz genotipizálásra, akkor az AFLP-vizsgálatok során kapott polimorf fragmentumokat átalakítottuk CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence; Konieczny és Ausubel 1993) vagy SSCP (Single-Strand Conformation Polymorphism, Orita és mtsai 1989) markerekké, hogy a szegregáló populációban a rezisztenciagén közelében lévő rekombinációs eseményeket megállapíthassuk.

Az elmúlt évtizedben több kutatóműhely között különböző paprikagenetikai térképeket (Livingstone és mtsai 1999, Paran és mtsai 2004). Megjelentek olyan publikációk is, amelyek a paprika bizonyos kapcsoltsági csoportjának térképeit közölték (Djian-Caporalino és mtsai 2007, Jahn és mtsai 2000, Moury és mtsai 2000). Ezek alapján sikerült a *Tsw* és a *Mel1* rezisztenciagénekhez is markereket adaptálnunk. Továbbá a paprika és a paradicsom genomjának irodalmi adatokkal alátámasztott homológiáját felhasználva (Livingstone és mtsai 1999), úgynevezett térképtranszfer alkalmazásával is azonosítottunk kapcsolt markereket az irodalomban közölt paradicsomtérképek alapján (<http://solgenomics.net/>).

Az általunk fejlesztett PCR alapú markerek kodomináns, illetve domináns-recesszív értékelésűek voltak. Kodomináns értékeléskor a

Genetikai marker	Genotípuskategóriák																		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
AFLP3	5	5	5	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
AFLP4	1	1	1	1	1	1	1	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
AFLP6	1	1	1	1	1	1	1	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Scac	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	3	3	3	3	3	2	2	3	2
T3	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	3	3	3	3	2	2	2	3	2
T2	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	3	3	3	3	2	2	2	2	3
Tsw genotípus	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	3	3	3	3	2	2	2	2	3
AFLP1	1	1	1	1	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	1
AFLP5	1	1	1	1	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	1
AFLP2	1	1	1	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	1	1
T1	1	1	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	2	2	2	2	2	1	1
Q6	1	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	2	2	2	2	2	1	1
Vizsgált növények száma	98	19	9	2	1	4	1	21	9	12	106	11	8	13	14	193	38	12	10

1 anyai homozigóta
 2 heterozigóta
 3 apai homozigóta
 4 nem anyai homozigóta
 5 nem apai homozigóta

3a ábra. A paprika 10. kapcsoltsági csoportja, a Tsw régió összevont szintértéke

heterozigóta egyedek megkülönböztethetők mindkét homozigóta fenotípustól, a másik esetben a domináns homozigóta az adott tulajdon-ságban nem különböztethető meg a heterozigóta egyedtől. A fejlesztett PCR alapú markerek kimutatását négyféle módszerrel végeztük. Ha egy adott primerpár a két szülőből különböző méretű fragmentumot amplifikált vagy agaróz gélelektroforézist vagy – a fragmentumok kisebb mértékű hosszkülönbsége esetén – denaturáló akrilamid gélt használtunk a polimorfizmus kimutatására. Azonos fragmentumméret esetén az SSCP módszert vagy a heteroduplex analízisen alapuló elválasztás technikáját alkalmaztuk. Az SSCP eljárás azon alapul, hogy az egyforma méretű, de szekvenciájukban különböző egyszá-lú DNS-molekulák eltérő konformációt vehetnek fel, ami eltérő mobilitást eredményezhet (Orita és mtsai 1989). A *CeII* emésztésen alapuló heteroduplex analízis segítségével olyan SNP-k (Single Nucleotide Polymorphisms) is kimutathatók, amiket SSCP eljárással nem sikerült felfedni, a *CeII* enzim ugyanis a mismatch-eknél (a két szál különbségéből adódó kihurkolódásoknál: heteroduplex) az egyik szálát hasítja (Oleykowski és mtsai 1998).

Irodalmi adatok alapján mindkét vizsgált rezisztenciagén esetében ismert, hogy a paprika mely kapcsoltsági csoportján helyezkedik el. Így a finomtésképezést csak azokon a kromoszómákon végeztük, amelyeken a keresett gének

találhatók. A térképezési munkákat szintérték segítségével végeztük. A szintérték mátrixában a populáció egyedeinek különböző markerekre adott összevont genotípus-adatait rögzítettük. Az oszlopokban egy-egy adott növény, a sorokban egy-egy markernek az oszlopban szereplő növényre vonatkozó genotípus-adatai találhatók. A különböző genotípusokat színekkel és számokkal jelöltük (3a. ábra). Minden függőleges színátmenet – bár a 4-es és 2-es, valamint az 5-ös és 2-es számmal jelölt színátmenetek nem minden esetben – egy-egy rekombinációs eseményt jelöl. A markerek sorait úgy rendeztük egymás alá, hogy azok a lehető legkevesebb rekombinációt, azaz színátmenetet mutassák. Mivel a szintérték segítségével a vizsgált régióban rekombináns növények – amelyek a térképezés szempontjából a leginformatívabbak – egyszerűen kiválaszthatóak, nem szükséges minden markerre minden növény genotípusának meghatározása. A módszer további előnye, hogy egy rosszul értékelt genotípus vagy bármilyen adatbeviteli hiba az elütő színek miatt gyorsan észrevehető és korrigálható (Kiss és mtsai 1998).

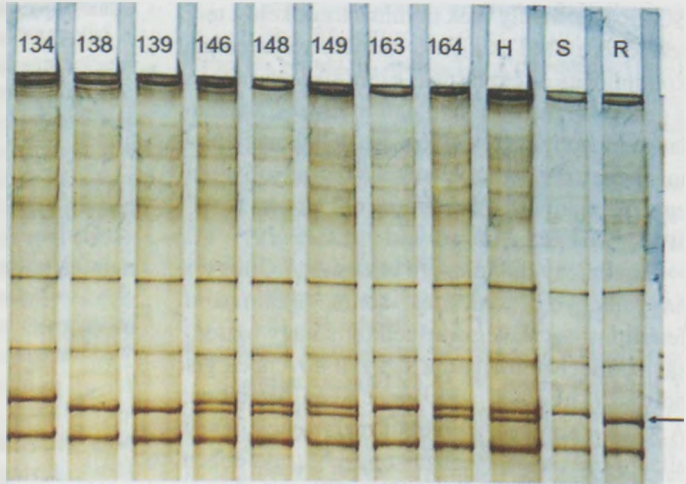
Eredmények

A „10320”-as jelű populáció – mely tartalmazza a *Tsw* és a *Me1* rezisztenciagéneket – TSWV-vel, illetve a *M. incognitával* történő független fertőzési eredményei alapján a növé-

tottunk, melyek a rezisztenciagén azonos oldalán helyezkednek el.

Irodalmi adatok adaptálásával a *Tsw* gént két oldalról közrefogó, kapcsolt kodomináns markereket fejlesztettünk. Jahn és munkatársai (2000) egy OPQ06 RAPD markerről számoltak be, amely szorosan kapcsolódik a *Tsw* génhez paprikában. Ezt a RAPD markert alakítottuk át egy heteroduplex analízisen alapuló technológiával értékelhető Q6 nevű markerré. Moury és munkatársai (2000) szintén RAPD technikával azonosították a *Tsw* génhez kapcsolt OPAC10 markert, amelyből specifikus primerpár segítségével hoztuk létre a SCAC nevű markert, amely SSCP technika alkalmazásával mutat polimorfizmust. Djian-Caporalino és munkatársai (2007) publikáltak egy átalakított AFLP markert (SCAR_CD), amely kapcsolódik a *Mel* rezisztencialokuszhoz. A SCAR_CD az általunk vizsgált paprikapopuláción is használható és agarózgélen dominánsan értékelhető marker. Kim és munkatársai (2008b) egy SSR markerről számoltak be, amely kapcsolódik a paprika 9-es kromoszómáján elhelyezkedő CT211-es jelű markerrel. Ez a marker abban a régióban található, ahol a *Mel*-es gén is feltételezhető, ezért az SSR9 markert megvizsgáltuk a populációnk egyedein, és azt tapasztaltuk, hogy kapcsolódik, bár viszonylag messze helyezkedik el a rezisztenciagéntől.

A *Tsw* gén a paprika 10. kromoszómáján található, így a paprika és a paradicsom irodalmi adatokkal alátámasztott homológiáját felhasználva (Livingstone és mtsai 1999) a paradicsomtérképeken ebben a régióban elhelyezkedő markereket alakítottuk át. Ezzel a térképtranszfer módszerrel 15 marker átalakítása után három olyan SSCP technikával kodominánsan (4. ábra) értékelhető markert fejlesztettünk, amelyek a *Tsw* génhez kapcsolódtak. Ezek közül a T1 nevű a gén Q6 marker felőli oldalán, a T3-as a SCAC marker felőli oldalán helyezkedik el. A harma-



4. ábra. A *Tsw* rezisztenciagénhez kapcsolt T2 marker kodomináns értékelése (nyíllal jelölve) SSCP technikával.
Kontroll minták: H – heterozigótarezisztens, S – homozigótaszenzitív, R – homozigótarezisztens

dik, térképtranszferrel létrehozott T2 nevű kodomináns marker és a *Tsw* gén között nem találtunk rekombinációt, így eddig ez a legközelebbi kapcsolt marker, amelynek segítségével nagy biztonsággal meg lehet állapítani egy adott paprikaegyed genotípusát a *Tsw* rezisztenciagénre nézve.

A paprika 9-es kromoszómáján helyezkedik el a fonálféreg ellen rezisztenciát adó *Mel* gén. Ez a paprikakromoszóma részben a paradicsom 9-es, részben a paradicsom 12-es kromoszómájával homológ (Livingstone és mtsai 1999). Az általunk vizsgált régió a paradicsom 12-es kromoszómájával homológ (Djian-Caporalino és mtsai 2007), ezért az itt található markereket alakítottuk át, és teszteltük a populációnkon. Húsz primer kombinációval 14 markert alakítottunk át, ezek közül hat markert (TM1-TM6) sikerült térképezni, amelyek mind kodomináns értékelést tesznek lehetővé SSCP technika alkalmazásával (1. táblázat). A *Mel* rezisztenciagénhez kapcsolt markerek közül négy marker helyezkedik el a gén egyik oldalán, a többi a másik oldalon található. A négy marker közül a legközelebbi egy átalakított AFLP marker (741A), mely kodomináns értékelésű, a másik oldalon a rezisztenciagénhez legközelebb három marker helyezkedik el azonos távolságra. Az egyik a

SCAR-CD, amely csak domináns értékelést tesz lehetővé, a TM3 és a TM6-os markerek azonban kodomináns értékelésűek, ezért alkalmasabbak a genotipizálásra. A kétoldali markerek használatával fenotípusvizsgálat elvégzése nélkül nagy biztonsággal meghatározható a vizsgált növényegyed genotípusa a fonálféreg ellen rezisztenciát adó *Mel* génre nézve.

Eredményeink alapján elmondható, hogy a hagyományos nemesítés során alkalmazott fenotípusvizsgálat elvégzése nélkül is nagy biztonsággal meghatározható a vizsgált növények genotípusa mindkét rezisztenciagén esetében. A MAS-t azonban az izolált rezisztenciagének alkalmazása teszi a leghatékonyabbá, hisz ebben az esetben a génre tervezett specifikus szekvenciapárral végzett amplifikátum maga a követendő molekuláris marker. A gének genetikai markerezésével biztonságosabbá, olcsóbbá, egyszerűbbé, kevésbé veszélyessé (a biológiai tesztek száma drasztikusan csökkenthető) válik a szelekció, és jelentősen lerövidül a fajta-előállításához szükséges idő.

Köszönetnyilvánítás

Munkánkat a 4/020/2005 számú JÁP pályázat támogatta. Köszönettel tartozunk *Csilléry Gábornak* és *Szarka Jánosnak*, akik a pályázat keretében a populáció előállítását és a fenotípusos rezisztenciatestek egy részét elvégezték, valamint a Növénygenetika és Nemesítés Csoport valamennyi tagjának.

IRODALOM

- Black, L. L., Hobbs, H. A. and Gatti, J. M.** (1991): Tomato spotted wilt virus resistance in *Capsicum chinense* PI152225 and PI159236. *Plant Disease*, 75: 863.
- Boiteux, L. S., Nagata, T., Dutra, P. W. and Fonseca, M. E. N.** (1993): Sources of resistance to tomato spotted wilt virus (TSWV) in cultivated and wild species of *Capsicum*. *Euphytica*, 67: 89–94.
- Costa, J., Catalá, M. S., Lacasa, A., Diez, M. J. and Neuz, F.** (1995): Introduction of plant genetic resistance to TSWV from *C. chinense* 'PI159236' in different pepper genetic backgrounds. In first international symposium on Solanacea for fresh market. March 28–31 1995. Malaga, Spain. *Acta Hort.*, 412: 523–532.
- Djian-Caporlino, C., Fazari, A., Arguel, M. J., Vernie, T., VandeCastele, C., Faure, I., Brunoud, G., Pijarowski, L., Palloix, A., Lefebvre, V. and Abad, P.** (2007): Root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) Me resistance genes in pepper (*Capsicum annuum* L.) are clustered on the P9 chromosome. *Theor. Appl. Genet.*, 114 (3): 473–86.
- Fehér B.** (2007): A csemegepaprika termesztése és jelentősége. *MezőHír IX. évfolyam 2007/1: 72–75.*
- Hajósné Novák M.** (1999): Genetikai variabilitás a növény-nemesítésben, Mezőgazda Kiadó. Budapest
- Hendy, H., Dalmasso, A. and Cardin, C.** (1985): Difference in resistant *Capsicum annuum* attacked by different *Meloidogyne* species. *Nemathol.*, 31: 72–78.
- Jahn, M., Paran, I., Hoffmann, K., Radwanski, E. R., Livingstone, K. D., Grube, R. C., Aftergoot, E., Lapidot, M. and Moyer, J.** (2000): Genetic mapping of the Tsw locus for resistance to the *Tospovirus* Tomato spotted wilt virus in *Capsicum* spp. and its relationship to the Sw-5 gene for resistance to the same pathogen in tomato. *Mol. Plant Microbe Interact.*, 13 (6): 673–82.
- Kim, H. J., Baek, K. H., Lee, S. W., Kim, J. E., Lee, B. W., Cho, H. S., Kim, W. T., Choi, D. and Hur, C. G.** (2008a): Pepper EST database: comprehensive in silico tool for analyzing the chili pepper (*Capsicum annuum*) transcriptome. *BMC Plant Biology*, 2008, 8: 101.
- Kim, H. J., Nahm, S. H., Lee, H. R., Yoon, G. B., Kim, K. T., Kang, B. C., Choi, D., Kweon, O. Y., Cho, M. C., Kwon, J. K., Han, J. H., Kim, J. H., Park, M., Ahn, J. H., Choi, S. H., Her, N. H., Sung, J. H. and Kim, B. D.** (2008b): BAC-derived markers converted from RFLP linked to *Phytophthora capsici* resistance in pepper (*Capsicum annuum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 118: 15–27.
- Kiss G. B., Kereszt A., Kiss P. and Endre G.** (1998): Colormapping: a non-mathematical procedure for genetic mapping. *Acta Biologica Hungarica*, 49 (1): 125–142.
- Konieczny, A. and Ausubel, F. M.** (1993): A procedure for mapping *Arabidopsis* mutations using co-dominant ecotype-specific PCR based markers. *Plant J*, 4: 403–410.
- Lambert, K. N., Tedford, E. C., Caswell, E. P., Williamson, V. M.** (1992): A system for continuous production of root-knot nematode juveniles in hydroponic culture. *Phytopathol.* 82: 512–515.
- Ligeti L. és Nagy Gy.** (1972): A *Lycopersicum virus 3* dohányültetvényeink új, veszedelmes kórokozója. *Dohányipar*, 1: 41–43.

- Livingstone, K. D., Lackney, V.K., Blauth, J., Wijk, V.R. and Jahn, M.M.** (1999): Genome mapping in Capsicum and the evolution of genome structure in the Solanaceae. *Genetics*, 152: 1183–1202.
- Mandoki, Z.** (2010): Controlling the southern root-knot nematode (*Meloidogyne incognita* Chitwood) with grafted and resistant pepper varieties. *International Journal of Horticultural Science*, 16 (2): 33–37.
- Michelmore, R. W., Paran, I. and Kesseli, R.V.** (1991): Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: a rapid method to detect markers in specific regions by using segregating populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88: 9828–9832
- Minamiyama, Y., Tsuru, M. and Hirai, M.** (2006): An SSR-based linkage map of *Capsicum annuum*. *Mol. Breeding*, 18: 157–169.
- Moury, B., Pflieger, S., Blattes, A., Lefebvre, V. and Palloix, A.** (2000): A CAPS marker to assist selection of tomato spotted wilt virus (TSWV) resistance in pepper. *Genome*, 43 (1): 137–42.
- Oleykowski, C. A., Mullins, C. R. B., Godwin, A. K. and Xeung, A. T.** (1998): Mutation detection using a novel plant endonuclease. *Nucleic Acids Research*, 20: 4597–4602.
- Orita, M., Suzuki, Y., Sekiva, T. and Hayashi, K.** (1989): Rapid and sensitive detection of point mutations and DNA polymorphisms using the polymerase chain. *Genomics*, 5 (4): 874–879.
- Paran, I., Rouppe van der Voort, J., Lefebvre, V., Jahn, M., Landry, L., van Schriek, M., Tanyolac, B., Caranta, C., Ben Chaim, A., Livingstone, K., Palloix, A. and Peleman, J.** (2004): An integrated genetic linkage map of pepper (*Capsicum* spp.). *Molecular Breeding*, 13: 251–261.
- Tanksley, S. D., Ganai, M. W., Prince, J. P., de Vicente, M. C., Bonierbale, M. W., Broun, P., Fulton, T. M., Giovannoni, J. J., Grandillo, S., Martin, G. B., et al.** (1992): High density molecular linkage maps of the tomato and potato genomes. *Genetics*, 132 (4): 1141–60.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., VanDelee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M. and Zabeau, M.** (1995): AFLP: a new concept for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res.*, 23 (21): 4407–4414.

IDENTIFICATION OF MOLECULAR MARKERS LINKED TO DISEASE RESISTANCE GENES IN PEPPER (*CAPSICUM ANNUUM* L.)

Tímea Júlia Földi, A. Jeney and Gy. B. Kiss

Agricultural Biotechnology Center, 2100 Gödöllő, Szent-Györgyi A. str. 4.

Application of DNA markers in breeding programs (MAS – marker assisted selection) makes it easy to follow the inheritance of beneficial features and help the selection of breeding materials. The time consuming and complex biological resistance tests can be omitted or considerably reduced. The aim of this study was to identify molecular markers in pepper linked to two dominant resistance genes (*Tsw*, *Me1*), which confer resistance against *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) and different root-knot nematode species (*Meloidogyne* spp.), respectively. The present paper describes experiments which have been carried out using the BSA/AFLP method, published markers and map transfer technology. Using these newly constructed markers the genotypes of the analysed plants could be identified with high reliability for both resistance genes without the need of biological resistance tests.

Keywords: pepper, TSWV, *Meloidogyne* spp., MAS, resistance

Érkezett: 2010. április 23.

TERMESZTETT ÉS VADON ÉLŐ BURGONYAFÉLÉK VÍRUSOS BETEGSÉGEI ÉS VÍRUSAI MAGYARORSZÁGON. 7. AZ UBORKA MOZAIK VÍRUS (*CUCUMBER MOSAIC VIRUS*, CMV) FEHÉR TÖRZSÉNEK ELŐFORDULÁSA DOHÁNYON (*NICOTIANA TABACUM* L.) ÉS A CMV-NTW IZOLÁTUM TULAJDONSÁGAI

Salamon Pál, Várallyay Éva, Nemes Katalin és Salánki Katalin

Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont, 2100 Gödöllő, Szent-Györgyi A. u. 4.

2008 nyarán vírusos fertőzésre jellemző fehér mozaik betegség tüneteit figyeltük meg dohány-növényen (*Nicotiana tabacum* L.). A beteg növényről származó Ntw jelzésű vírusizolátumot patológiai és molekuláris vizsgálatok alapján az uborka mozaik vírussal (*Cucumber mosaic virus*, CMV) azonosítottuk.

A CMV-Ntw izolátum a gazdanövénykörben nem különbözött a CMV C patotípusának közönséges variánsaitól. Különleges tulajdonságának bizonyult azonban, hogy a burgonyafélék sok faján (*Capsicum annuum*, *Nicotiana benthamiana*, *N. clevelandii*, *N. sylvestris*, *N. glutinosa*, *N. debney*, *N. rustica*, *N. tabacum*) a C patotípusú izolátumokra általában jellemző zöld mozaik helyett feltűnő sárga-fehér mozaiktüneteket okozott. Az Ntw-izolátum a *N. megalosiphon* és *Solanum tuberosum* cv. Kisvárdai rózsá egyedein szisztemikus elhalást, a paradicsomon (*Solanum lycopersicum* cv. Rutgers) levéllelkeskenyedés tüneteket idézett elő. A CMV-vel szemben toleráns uborka- és paprikagenotípusok az Ntw-izolátummal szemben is ellenállónak bizonyultak. Keresztvédelességi tesztben teljes védelességet tapasztaltunk a CMV-Ntw és a dohányon lokális léziókat előidéző CMV-Ns izolátumok között. A CMV-Ntw *Myzus persicae* Sulz. levéltetvekkel nem perzisztens módon átvihetőnek bizonyult.

A CMV-Ntw köpenyfehérje (CP) génjét klónoztuk, és meghatároztuk a CP gén bázissorrendjét. A bázisszekvencia-adatok alapján megállapítottuk, hogy a vírusizolátum a CMV I-es hibridizálási csoportjához (C patotípus, D szerotípus) tartozik. Northern blot hibridizálási tesztben a CMV-Y izolátum ismert szatellit RNS-éről készült cDNS próba nem adott hibridizálási reakciót a CMV-Ntw-vel fertőzött dohány teljes nukleinsav-kivonatával. A szatellit RNS hiánya azt mutatta, hogy a burgonyaféléken okozott fehér mozaik tünetek előidézése a CMV-Ntw izolátum saját genomi tulajdonsága. Vizsgálataink Magyarországon először igazolták a Solanaceae család fajain fehér mozaik betegséget okozó CMV variáns természetes előfordulását.

Kulcsszavak: Uborka mozaik vírus, fehér törzs, dohány, Magyarország

Az uborka mozaik vírus (*Cucumber mosaic virus*, CMV; *Cucumovirus* nemzetség, *Bromoviridae* család) világszerte a legelterjedtebb és a mezőgazdaságban a legnagyobb károkat okozó növényvírusok közé tartozik. Globális elterjedése és gazdasági jelentősége a növényvírusok között egyedülállóan széles gazdanövénykörére,

hatékony terjedési tulajdonságaira valamint a biotikus és az abiotikus környezethez gyors adaptációt biztosító genetikai variabilitására vezethető vissza (Palukaitis és mtsai 1992; Edwardson és Christie 1991; Gallitelli 2000).

Marrou és mtsai (1975) a *N. tabacum* cv. Xanthi-nc dohányfajtán okozott lokális és

szisztemikus tünetek eltérő típusa alapján a CMV-t két törzscsoportra, a B és C patotípusokra osztották. A B és C patotípusok szerinti differenciálást megerősítette, hogy ez a csoportosítás szoros korrelációt mutatott az izolátumok szerológiai csoportosításával (B patotípus = ToRS (To) szerotípus; C patotípus = DTL (D) szerotípus, Devergne és Cardin, 1975). A vírusgenom és a vírus által kódolt fehérjék vizsgálata alátámasztotta a két fő patotípus létezését, melyek megfeleltethetők az I-es (C-patotípus) és a II-es (B-patotípus) nukleinsav hibridizálási csoportoknak (Piazzola és mtsai, 1979; Owen és Palukaitis, 1988). A genomi vizsgálatok az I-es hibridizálási csoportot számos távol-keleti izolátum tanulmányozása után az IA és IB alcsoportokra osztották (Roossinck és mtsai 1999).

Marrou és mtsai (1975), Haack és Richter (1987), Wahyuni és mtsai (1992) valamint mások rámutattak arra, hogy a B és C patotípusú izolátumok a különböző növényfajokon megfigyelhető tünetek alapján sok variánst képeznek. Korábbi vizsgálataink szerint a B patotípusú hazai izolátumok többségére a Xanthi-nc dohányfajtán a kigyógyulás (recovery, Re) jellemző, egyes izolátumok azonban nem; gyógyuló levél-elkeskenyedést (leaf narrowing, Ln) okoznak. Ennek alapján javasoltuk a B(Re) és B(Ln) alcsoportok megkülönböztetését (Salamon, 1989). A C patotípusú izolátumok között előfordulnak pl. a babot (*Phaseolus vulgaris*) vagy a retket (*Raphanus sativus*) nem fertőző vagy szisztemikusan fertőző és a dohányon lokális léziókat okozó illetve a dohányt nem fertőző különleges variánsok. A CMV C patotípusának extrém változatait képviselik azok az izolátumok, melyek a dohányon nem a C patotípusra általában jellemző zöld mozaik tünetet, hanem élénksárga vagy fehér mozaikot idéznek elő (Tomaru és Hikada 1960, Shintaku és mtsai 1992).

A CMV patológiai változékonyságának elemzését nehezíti a 70-es években felfedezett „vírusparazita” szatellit RNS-ek jelenléte egyes izolátumokban (Kaper és Waterworth 1977, Waterworth és mtsai 1979). Mivel a szatRNS-ek jelentősen módosíthatják a betegsőtüneteket (Sato és mtsai 2000 Xu és Roossinck 2000;

Crescenzi és mtsai 1993), jelenlétük vagy hiányuk ismerete a CMV-izolátumok fenotípusos jellemzésének elengedhetetlen feltétele.

A CMV Magyarországon a dohány egy legfontosabb, gyakran járványokat is előidéző kórokozója. A 70-es évektől végzett megfigyeléseink szerint a dohányállományokon domináns a zöldmozaik-foltosságot, levéldeformációt és tölgyfalevél-mintázottságot előidéző C patotípus előfordulása. Az elmúlt években figyeltünk fel olyan beteg dohánynövényre, melynek levelein vírus(ok) fertőzésére utaló feltűnő fehér mozaikos levélfoltosság alakult ki. Ebben a dolgozatban azokat az eredményeket ismertetjük, melyek igazolták, hogy a betegséget a CMV-C patotípusának hazai viszonyok között eddig nem ismert „fehér” változata idézte elő.

Anyag és módszer

Virusizolálás és differenciálás

Vírus(ok) izolálásához fehér mozaik tünetet mutató spontán fertőződött dohány beteg levélnek kis darabját steril foszfát pufferben homogenáltuk, és az így nyert szövetnedvvel a következő tesztnövények leveleit dörzsöltük be abrazívum (cellit)-spatula módszerrel: *Chenopodium amaranticolor*, *Ch. quinoa*, *Cucumis sativus* cv. Delicatess, *Nicotiana benthamiana* és *N. tabacum* cv. Xanthi-nc. A tesztnövényeken kialakuló tüneteket 3–4 hétig tanulmányoztuk. Az esetleges komplex vírusos fertőzés megállapítására az akceptor tesztnövényekről visszafertőzéseket végeztünk differenciáló tesztnövényekre. Tiszta vírusizolátum előállításához egyléziós passzálást végeztünk *Ch. quinoa* inokulált leveléről egészséges fiatal Xanthi-nc dohányra. Ezt az izolátumot Ntw jelzéssel tanulmányoztuk.

Az Ntw-izolátum tulajdonságainak vizsgálata

Gazdanövénykór és szimptomatológia

A gazdanövénykór tanulmányozásához és a szimptomatológiai jellemzéshez az Ntw-izolátum Xanthi-nc dohányon szaporított egyléziós

kultúrájával különböző növénycsaládok fajainak 3–5 egyedét inokuláltuk. A lokális és szisztemikus tüneteket 3–6 hétig tanulmányoztuk. A vírus jelenlétét az inokulált és csúcsi levelekben Xanthi-nc dohánynövényekre végzett vizsai izolálási tesztekkel ellenőriztük.

Keresztvédetség tanulmányozása

A keresztvédetség teszthez az Ntw izolátummal három fiatal (4 leveles korú) Xanthi-nc dohányokat fertőztünk. Két héttel az inokuláció után a 6–8 leveles növények szisztemikusan fertőzött levelei közül olyan leveleket választottunk ki, melyek felületének 100%-a kifehéredett. E levelek egyik, a főértől jobbra vagy balra eső felét a Xanthi-nc dohányon nekrotikus lokális léziókat előidéző, *N. benthamiana* növényeken szaporított CMV-Ns izolátummal (Salamon és mtsai 1999), másik felét egészséges dohány szövetnedvével inokuláltuk. Kontrollként a CMV-Ns izolátummal azonos korú egészséges dohányokat inokuláltunk, azonos levélemeleten. A keresztvédetségére a lokális léziók megjelenése (elmaradása) és száma alapján következtettünk.

Átvitel levéltettekkel

A levéltető-átviteleket *Myzus persicae* Sulz levéltetőfajjal végeztük 5 akceptor Xanthi-nc dohányra ismert módszerrel (Salamon 1989). Az átvitek eredményességét tüneti vizsgálatokkal értékeltük.

Az Ntw izolátum köpenyfehérje (CP) génjének klónozása és szekvenálása

Az Ntw izolátummal fertőzött dohánynövényből teljes nukleinsav-kivonatot készítettünk White és Kaper (1989) módszere szerint. A CMV RNS3 CP gént tartalmazó szakaszának klónozását és a klón nukleotidsorrendjének meghatározását a következők szerint végeztük: a cDNS szintézishez, illetve a PCR reakcióhoz a CMV I-es alcsoportra jellemző 5' véggel meg- egyező 5'-ggctgcagtaatucgactactatagtaactta-

ccac-3', valamint a 3' véggel komplementer 5'-gcggatcctgtctcctt-3' oligonukleotid primereket terveztünk. Az 5' vég primer egy *Pst*I restrikciós hasítóhelyet (aláhúzva), a 3' vég primer *Bam*HI hasítóhelyet (aláhúzva) tartalmazott. A vírus RNS-ről a 3' vég primer jelenlétében reverz transzkriptáz enzimmel komplementer DNS-t szintetizáltunk, amit PCR reakcióval sokszoroztunk. Az amplifikált kb. 900nt nagyságú PCR terméket pGEM-T Easy Vector System vektorba klónoztuk, majd a klón nukleotidsorrendjét automatizált fluoreszcens stopnukleotid módszerrel határoztuk meg (Applied Biosystems Gene Analyzer 3100). A PCR vizsgálatokhoz pozitív kontrollként ismert CMV-izolátumokkal (CMV-Rs és CMV-CaG08) fertőzött, negatív kontrollként egészséges dohánynövényt használtunk.

Szatellit RNS jelenlétének vizsgálata

A szatellit RNS-ek kimutatását Northern blot hibridizálással végeztük. Az Ntw izolátummal fertőzött dohánynövényből teljes nukleinsav-kivonatot készítettünk, és a különböző molekulatömegű RNS-eket agaróz gélelektroforézissel szeparáltuk. A szeparált RNS-eket membránra vittük át, melyhez az Y-CMV izolátum ismert szatellit RNS-éről készített, radioaktivan jelölt random DNS próbát hibridizáltuk. A próbakészítéshez az Y-szatRNS-t tartalmazó CMV-izolátummal fertőzött *N. benthamiana* leveleiből vontunk ki RNS-t a fertőzés utáni 14. napon. Az RNS-t templátként használva első szálát irtunk az Ysat rev (5'-ggctcctgtagaggaatgta-3') oligó segítségével (RevertAid First StrandcDNA Synthesis Kit, Fermentas). Az első szárlól az Ysatforw (5'-gagttttgtttgatggagaat-3') és az Ysatrev oligonukleotidok segítségével az Ysat-ra jellemző DNS-t amplifikáltunk, melyet pGEM-T Esasy vektorba klónoztunk. A radioaktivan jelölt próbát erről a klónról készítettük a Fermentas HexaLabel Kit-jének segítségével. Kontrollként a szatRNS-t tartalmazó CMV-CaG08 izolátumot és a CMV-Fny izolátum YsatRNS-t tartalmazó és nem tartalmazó preparátumát használtuk.

Eredmények

Fehér mozaik betegség előfordulása dohányon

2008 augusztusában Székely község (Szabolcs-Szatmár-Bereg megye) közelében kb. 5 ha területű dohányültetvényen (*Nicotiana tabacum* L., nem azonosított Virgíniai típusú fajta) végeztünk virológiai szemlét. Megállapítottuk, hogy az állomány növényeinek 20–30%-án a CMV-C patotípusára jellemző zöldmozaik-foltosság és levéldeformáció tünetek alakultak ki. Ritkábban (3–5%) fordult elő a burgonya Y-vírus (*Potato virus Y*, PVY) nekrotikus törzsére jellemző érnekrozis-betegség. Az ültetvényben levéltetvek tömeges elszaporodását tapasztaltuk. A zöldmozaik-tünetet mutató tövek között egy különleges fehérmozaik-tünetet mutató növényt fedeztünk fel. A virágzó növény alsó, erősen napsütötte levelein a fehérmozaik-foltok elhalását, középső levelein érkező sárgásfehér mozaikfoltosságot vagy teljes kifehéredést figyeltünk meg, a csúcsi levelek csak enyhébb fehér foltosságot mutattak, vagy tünetmentesek voltak (1. A ábra).

Vírusizolálás és differenciálás

A beteg dohány szövetnedvével inokulált teszt növényeken vírus(ok) fertőzésére jellemző, lokális és szisztemikus tünetek jelentek meg. A *Chenopodium* fajok gyorsan (2–4 nap) kialakuló nekrotikus léziókkal, az uborka és a dohány teszt növények lokális klorotikus foltokkal és szisztemikus mozaiktünetekkel reagáltak. A *N. tabacum* cv. Xanthi-nc teszt növényen a vírusforrás dohányon megfigyelt tüneteknél is feltűnőbb élénksárga-fehér mozaikfoltosság alakult ki. A dohány és uborka teszt növényekről *Chenopodium quinoa*-ra passzált vírusok csak lokális léziókat okoztak. A *Ch. quinoa* egyetlen léziójáról passzált vírus a Xanthi-nc dohányon fehér mozaikot okozott (1. B ábra). A teszt nö-



1. ábra. A fehérmozaik-betegség tünetei spontán fertőzött dohányon (A) és az Ntw izolátummal inokulált Xanthi-nc dohány teszt növényen (B). (Fig 1. Symptoms of white mosaic disease in spontaneously infected tobacco (A) and in Xanthi-nc tobacco test plant (B) inoculated with the isolate Ntw)

vények fenti reakciói kizárták a dohányt hazai viszonyok között fertőző vírusok közül a PVY, a TSWV (*Tomato spotted wilt virus*), a TMV (*Tobacco mosaic virus*) az AMV (*Alfalfa mosaic virus*) és a TRV (*Tobacco rattle virus*) jelenlétét és arra utaltak, hogy a betegséget előidéző vírus a CMV különleges törzse. Ennek igazolásához az egyléziós passzálás után felszaporított Ntw jelzésű vírusizolátum biológiai és molekuláris tulajdonságait tanulmányoztuk.

Az Ntw vírusizolátum tulajdonságai

Gazdanövénykör és szimptomatológia

Az Ntw-izolátummal inokulált négy növény család 21 faja közül 5 faj (*Chenopodium* spp., *Ph. vulgaris* és *V. sinensis*) csak lokálisan, 16 faj (*Cucurbitaceae* és *Solanaceae* spp.) lokálisan és szisztemikusan fertőződött (1. táblázat). A *Ch. murale* és a *Ch. quinoa* az inokulált leveleket a lokális léziók kialakulása után lehullatta. A bab inokulált sziklevein tűszúrászerű, a tén-hén-borsón 2–3 mm átmérőjű, jól látható barnáslila lokális léziók alakultak ki. A tökfélék családjába tartozó növények többségén súlyos szisztemikus mozaiktünetet figyeltük meg, a

1. táblázat

A CMV-Ntw izolátummal inokulált növények fogékonysága és reakciói¹

NÖVÉNYCSALÁD ÉS -FAJ ²	L ³	S
CHENOPODIACEAE		
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	pnl (.)	tm (.)
<i>Ch. murale</i>	nl (.)	tm (.)
<i>Ch. quinoa</i>	nl (+)	tm (-)
CUCURBITACEAE		
<i>Cucumis melo</i> cv. Topáz	kf (.)	smo, d (+)
<i>Cucumis sativus</i> cv. Delicatess	kf (.)	mo (+)
<i>C. sativus</i> cv. Perez F1	tm (.)	emo, gy (+)
<i>Cucurbita pepo</i> convar <i>patissonina</i> cv. Óvári fehér	kf (.)	smo, d (+)
<i>Cucurbita maxima</i> cv. Óvári hengeres	kf (.)	ék, mo, gy (+)
LEGUMINOSAE		
<i>Phaseolus vulgaris</i> cv. Red Kidney	pnl (.)	tm (-)
<i>Vigna sinensis</i> cv. Black Eye	nl (+)	tm (-)
SOLANACEAE		
<i>Capsicum annuum</i> cv. Albaregia	kf (.)	fmo, lk
<i>C. annuum</i> „VT”	tm (+)	tm (+/-)
<i>C. annuum</i> „ARxVTF356”	tm (+)	vm, gy (+/-)
<i>Nicotiana benthamiana</i>	kf (.)	fmo, gy-rm (+)
<i>N. clevelandii</i>	kf (.)	fmo, gy-rm (+)
<i>N. debney</i>	kf (.)	fmo, gy-rm (+)
<i>N. glutinosa</i>	kf (.)	fmo, gy-rm (+)
<i>N. megalosiphon</i>	nf (.)	csn, te (+)
<i>N. rustica</i>	kf (.)	fmo, gy-rm (+)
<i>N. sylvestris</i>	kf (.)	fmo, gy-rm (+)
<i>N. tabacum</i> cv. Xanthi-nc	kf (.)	fmo, gy-rm (+)
<i>Solanum lycopersicum</i> cv. Rutgers	tm (.)	lk, emo (+)
<i>S. tuberosum</i> cv. Kisvárdai rózsza	nf (.)	csn, te (+)

¹Table 1. Susceptibility and reactions of test plants inoculated with CMV-Ntw; ²Plant family and species; ³Rövidítések (Abbreviations): L = lokális tünetek (local symptoms); S = szisztemikus tünetek (systemic symptoms); (.) = visszaizolálás nem volt (re-isolations tests were not carried out); (+) = positive re-isolation; (-) = negative re-isolation; csn = csúcselhalás (top necrosis); emo (enyhe mozaik (mild mosaic); fmo = fehér mozaik (white mosaic); gy = gyógyulás (recovery); kf = klorotikus foltok (chlorotic spots); lk = levélelkeskenyedés (leaf narrowing); nf = nekrotikus foltok (necrotic spots); rm = remisszió (remission); te = teljes elhalás (total necrosis); tm = tünetmentes (symptomless); vm = vonalas mintázottság (line pattern)

levélemeletenként változott. Jellemző volt, hogy a súlyos fehér mozaikot mutató levelek után csak enyhébb tüneteket mutató, olykor csaknem tünetmentes levelek fejlődtek, majd az újabb levelek ismét erősebb kifehéredést mutattak. A levélemeletenként tapasztalható tüneti kigyógyulás (recovery) és a tünetek visszatérése (remisszió) különösen jellemző volt a Xanthi-nc dohányon. Két növény, a *N. megalosiphon* és a Kisvárdai rózsza burgonyafajta az Ntw izolátum fertőzésére extrém súlyos tünetekkel, száme krózzissal és csúcsi elhalással reagált. A CMV-vel szemben ellenálló „VT” paprikavonalon és ennek egyik hibridvonalán az Ntw-izolátum nem okozott szisztemikus tüneteket, vagy a kezdeti enyhe tünetek után a növények kigyógyultak. A Rutgers paradicsomfajtán az Ntw-izolátum levélelkeskenyedést és mozaiktüneteket okozott.

Keresztvédettség

Az Ntw-izolátummal inokulált *N. tabacum* cv. Xanthi-nc növények szisztemikusan fertőzött, teljesen kifehéredő levelein a CMV-Ns-izolátum nem okozott tüneteket, az egészséges (kontroll) dohányok azonos korú levelein viszont nagyszámú nekrotikus lokális léziót idézett elő.

Átvihetőség levéltetvekkel

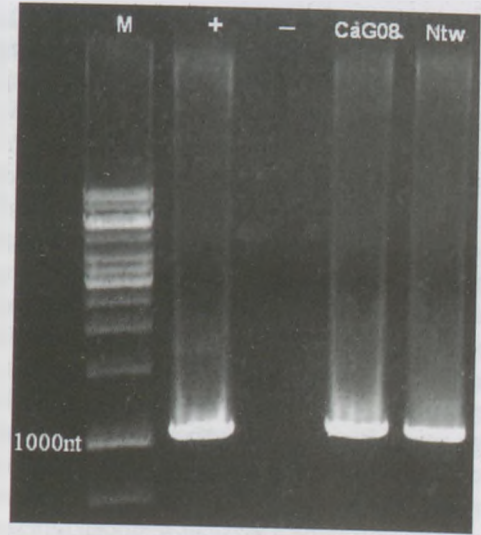
Az Ntw-izolátum *Myzus persicae* Sulz levéltetű fajjal nem perzisztens módon átvihetőnek bizonyult. A vírusleadási táplálkozás után 5 dohány közül 2 egyeden alakult ki az izolátumra jellemző fehérmozaik-betegség.

CMV-vel szemben toleráns PerezF1 uborkafajtán azonban a kezdeti enyhe mozaiktünetek után kigyógyulást tapasztaltunk. Az Ntw izolátum a *Solanaceae* családba tartozó növények közül az Albaregia paprikafajtán és a dohányfajok többségén szisztemikus élénksárga-fehér mozaikot okozott. A levelek kifehéredése a dohányfajokon

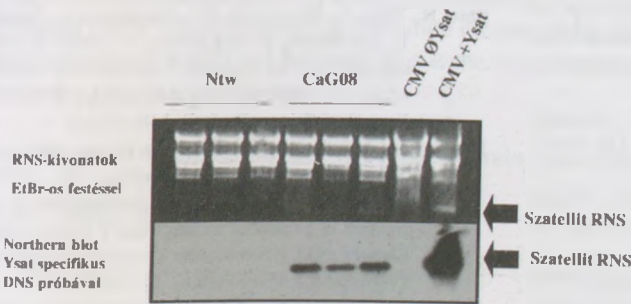
Molekuláris tulajdonságok

Az Ntw-izolátummal fertőzött Xanthi-nc tesztnövényből RT-PCR módszerrel a kontroll CMV-izolátumokkal (CMV-Rs, CMV-CaG08) azonos méretű, kb. 900 bp hosszúságú DNS-t amplifikáltunk (2. ábra). Az amplifikált régió bázissorrendje 99%-os azonosságot mutatott a CMV I-es alcsoportjához tartozó izolátumok CP génjének bázissorrendjével.

Az Ntw izolátummal, valamint a CMV-Fny izolátummal fertőzött dohány teljes nukleinsav-kivonatában agaróz gélelektroforézissel szatRNS jelenlétére utaló kis molekulatömegű RNS-t nem tudtunk kimutatni, ilyen RNS a CMV-CaG08 és a Y szatRNS-t is tartalmazó CMV-Fny izolátumok esetében etidiumbromidos festés után jól látható volt (3. ábra, felső panel). A szatRNS hiányát az Ntw izolátumban a Northern blot hibridizás meggyőzően bizonyította (3. ábra, alsó panel).



2. ábra. CMV specifikus RT-PCR termékek CMV izolátumokkal fertőzött (+, CaG08, Ntw) és egészséges (-) dohánynövényekről (Fig 2 RT-PCR products amplified from tobacco plants infected with CMV isolates (+, CaG08, Ntw). - = healthy control tobacco)



3. ábra. Szatellit RNS kimutatása CMV-izolátumokkal fertőzött dohánynövényekből agaróz gélelektroforézissel (felső panel) és Northern blot hibridizálással (alsó panel). (Fig. 3. Detection of satRNAs in tobacco plants infected with CMV isolates. Top panel: total RNAs separated by agarose gel electrophoresis; bottom panel: Northern hybridization using radioactive labeled Y-satRNA probe)

Következtetések és megvitatás

A vírusizolálási kísérletek és az izolált vírus patológiai tulajdonságainak előzetes vizsgálata igazolta, hogy a fehérmozaik-betegség tüneteit mutató dohányt mechanikailag könnyen átvihető, egyetlen növényvírus fertőzte. Az Ntw vírus-

izolátummal a Xanthi-nc dohányfajára végzett visszafertőzés bizonyította az izolált vírus és a megfigyelt betegség ok-okozati kapcsolatát is. A gazdanövénykör tanulmányozása, a keresztvédettség és levéltető-átviteli kísérletek valamint a molekuláris vizsgálatok eredményei alapján az Ntw-izolátum a CMV-vel azonosítható.

A CMV-Ntw-izolátum figyelemre méltó tulajdonsága, hogy a *Solanaceae* család vizsgált fajai közül a dohányfajok többségén és a paprikán feltűnő fehérmozaik-betegséget okoz, ami általában nem jellemző sem a B, sem a C patotípusú CMV-izolátumokra. Mivel hasonló tulajdonságú CMV-törzs természetes előfordulása Magyarországon eddig nem volt ismert¹, fontosnak tartottuk, hogy a vírusizolátumot molekuláris jellemzés alapján összehasonlítsuk a szakirodalomból ismert sárga vagy fehér CMV-

¹A dohányon élénksárga mozaiktüneteket okozó CMV-izolátumot mint laboratóriumi mutáns vírust Magyarországon korábban dr. Burgyán József tanulmányozott a 80-as években.

törzsek (M-CMV, Y-CMV), és megállapítsuk, hogy tartalmaz-e a különleges tünetekért esetleg felelőssé tehető szatellit RNS-t. A CP-gén bázissorrend-adatok azt igazolták, hogy a CMV-Ntw-izolátum, hasonlóan az M-CMV- és Y-CMV-izolátumokhoz, az I-es hibridizálási csoporthoz sorolható, és mert szatellit RNS-t nem tartalmaz, különleges patológiai viselkedése kizárólag a vírusgenomhoz köthető. Korábbi vizsgálatok mind az M-CMV, mind az Y-CMV esetében kimutatták, hogy a sárga-fehér mozaiktünetek előidézése a CP génen lokalizálható fenotípusos tulajdonság, és a köpenyfehérjén egy vagy két aminosav megváltozásának tulajdonítható (Shintaku és mtsai 1992; Sugiyama és mtsai 2000). A CMV-Ntw-izolátum CP génjének bázissorrendje a vizsgált régióban teljesen megegyezett az M-CMV izolátum CP génjével.

IRODALOM

- Crescenzi, A., Barbarossa, L., Cillo, F., DiFranco, A., Vovlas, N. and Gallitelli, D. (1993): Role of cucumber mosaic virus and its satellite RNA in the etiology of tomato fruit necrosis in Italy. *Archives of Virology*, 131: 321–333.
- Devergne, J. C. and Cardin L. (1975): Relations serologiques entre cucumovirus (CMV, TAV, PSV). *Ann. Phytopathol.*, 7: 255–276.
- Edwardson, J.R. and Christie, R.G. (1997): Viruses infecting peppers and other *Solanaceous* crops. Vol 1–II. Univ. Florida. Monograph, 18–I.
- Gallitelli, D. (2000): The ecology of cucumber mosaic virus and sustainable agriculture. *Virus Research*, 71: 9–21.
- Haack, I. und Richter, J. (1987): Differenzierung von Isolaten des Gurkenmosaik-Virus (cucumber mosaic virus) mit Hilfe von Testpflanzen. *Arch. Phytopathol. u. Pflanzenschutz*, 23: 435–441.
- Kaper, J.M. and Waterwoth, H.E. (1977): Cucumber mosaic virus-associated RNA 5: Causal agent for tomato necrosis. *Science*, 196: 429–431.
- Marrou, J., Quiot, J.B., Marchoux, G. and Duteil, M. (1975): Caracterisation par la symptomatologie de quatorze souches du virus de la mosaïque du concombre et deux autres cucumovirus. Tentative de classification. *Meded. Fac. Landbouw. Rijksuniv. Gent*, 40: 149–157.
- Owen, J. and Palukaitis, P. (1988): Characterization of cucumber mosaic virus. I. Molecular heterogeneity mapping of RNA 3 in eight strains. *Virology*, 166: 495–502.
- Palukaitis, P., Rossinck, M.J., Dietzgen, R.G. and Francki, R.I.B. (1992): Cucumber mosaic virus. *Adv. Virus Res.*, 41: 281–345.
- Piazzola, P., Diaz-Ruiz, J.R. and Kaper, J.M. (1979): Nucleic acid homologies of eighteen cucumber mosaic virus isolates determined by competition hybridization. *Journal of General Virology*, 45: 361–369.
- Roossinck, M. J., Zhang, L. and Hellwald, K.-H. (1999): Rearrangements in the 5' nontranslated region and phylogenetic analyses of cucumber mosaic virus RNA 3 indicate radial evolution of three subgroup. *Journal of Virology*, 73: 6752–6758.
- Salamon P. (1989): Termesztett és vadon élő burgonyafélék vírusbetegségei és vírusai Magyarországon. 2. Az uborka mozaik vírus természetes gazdái a *Solanaceae* fajok körében. *Növényvédelem*, 25: 97–109.
- Salamon P., Salánki K., Szilassy D. és Balázs E. (1999): Az uborka mozaik vírus nekrotikus izolátumának (CMV-N) patológiai jellemzése. *Növényvédelem*, 34: 583–591.
- Shintaku, M. H., Zhang, L. and Palukaitis, P. (1992): A single amino acid substitution in the coat protein of cucumber mosaic virus induces chlorosis in tobacco. *Plant Cell*, 4: 751–757.
- Sato, H., Hase, S., Suguyama, M., Karasawa, A., Suzuki, T., Takahashi, H. and Ehara, Y. (2000): A novel satellite RNA of cucumber mosaic virus induces unique line pattern mosaic symptoms in tobacco. *Journal of Phytopathology*, 148: 47–51.
- Sugiyama, M., Sato, H., Katasawa, A., Hase, S., Takahashi, H. and Ehara, Y. (2000): Characterization of symptom determinants in two mutants of cucumber mosaic virus Y strain, causing distinct mild green mosaic symptoms in tobacco. *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, 56: 85–90.
- Tomaru, K. and Hidaka, Z. (1960): Strains of cucumber mosaic virus isolated from tobacco plants. III. A yellow strain. *Bulletin of Hatano Tobacco Experimental Station*, 46: 143–149.
- Wahyuni, W.S., Dietzgen, R.G., Hanada, K. and Francki, R.I.B. (1992): Serological and biological variation between and within subgroup I and II strains of cucumber mosaic virus. *Plant Pathology*, 41: 282–297.
- Waterworth, H.E., Kaper, J.M. and Tousignant, M.E. (1979): CARNA 5, the small cucumber mosaic virus-dependent replicating RNA, regulates disease expression. *Science*, 204: 845–847.
- White, J.L. and Kaper, J.M. (1989): A simple method for detection of viral satellite RNAs in small tissue samples. *Journal of Virological Methods*, 23: 83–94.
- Xu, P. and Roossinck, M.J. (2000): Cucumber Mosaic Virus D Satellite RNA-induced programmed cell death in tomato. *Plant Cell*, 12: 1079–1092.

VIRUS DISEASES AND VIRUSES OF CULTIVATED AND WILD-GROWING SOLANACEOUS PLANTS IN HUNGARY. 7. NATURAL INFECTION OF TOBACCO (*NICOTIANA TABACUM* L.) WITH A WHITE STRAIN OF CUCUMBER MOSAIC VIRUS (CMV) AND SOME PROPERTIES OF CMV-NTW

P. Salamon, Éva Várallyay, Katalin Nemes and Katalin Salánki

Agricultural Biotechnology Center, 2100 Gödöllő, Szent-Györgyi A. str. 4, Hungary

In Summer of 2008 white mosaic disease characteristic of viral infections have been observed in field tobacco plant (*Nicotiana tabacum* L.) in Hungary. An unusual strain of *Cucumber mosaic virus* (CMV) marked Ntw has been identified as causal agent.

Pathological investigations revealed that in respect of host range CMV-Ntw did not differ from common isolates of CMV-C pathotype. However, it caused specific white mosaic symptoms in a range of solanaceous plants including *Capsicum annuum*, *Nicotiana benthamiana*, *N. clevelandii*, *N. sylvestris*, *N. glutinosa*, *N. debney*, *N. rustica*, and *N. tabacum*, but induced total necrosis in *N. megalosiphon* and *Solanum tuberosum* cv. Kisvárdai rózsza. Tomato (*Solanum lycopersicum* cv. Rutgers) reacted with leaf narrowing symptoms. CMV resistant cucumber (*Cucumis sativus*) and pepper (*Capsicum annuum*) genotypes proved resistant to CMV-Ntw. Tobacco plants inoculated with CMV-Ntw were protected against infection of the local lesion-inducing strain CMV-Ns. CMV-Ntw could be transmitted by the aphid *Myzus persicae* Sulz. in non persistent manner.

The coat protein gene of CMV-Ntw were cloned and sequenced. Based on the sequence data CMV-Ntw could be classified into the CMV-I hybridisation group (C pathotype, D serotype). Northern blot hybridization tests using cDNA probe to Y-CMVsatRNA excluded the presence of satRNAs in CMV-Ntw showing that the white mosaic phenotype of symptoms in solanaceous plants should be mapped to the viral genome. This is the first account on spontaneous occurrence of unusual white strain of CMV in Hungary.

Keywords: Cucumber mosaic virus, white strain, tobacco, Hungary

Érkezett: 2010. április 22.

A NÖVÉNYVÉDELMI KLUB

2010. június 1-én, pénteken találkozás a Botanikus Kert bejáratánál 15,00 óraker (utazás vonattal, vagy személygépkocsikkal, előzetes egyeztetés alapján!)

KIRÁNDULÁS

A VÁCRÁTÓTI BOTANIKUS KERTBEN

Szakmai vezető: **DR. HORVÁTH KÁROLY**

Minden érdeklődőt szeretettel várunk.

Dr. Tarjányi József és
a Klub elnöke

Zsigó György
a Klub titkára

A BURGONYA Y VÍRUS HC-Pro ÉS A BURGONYA StubGAL83 FEHÉRJÉJÉNEK KAPCSOLATA

Beczner Farkas, Antal Ferenc és Bánfalvi Zsófia

Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont, 2100 Gödöllő, Szent-Györgyi A. u. 4.

A burgonya Y vírus (PVY) világviszonylatban is a burgonya az egyik legveszélyesebb kórokozója. A PVY-fertőzés esetenként teljes termés kiesést is okoz. A fertőzött növényekben szembe tűnő változások játszódnak le. Ezek egy része a vírusok saját anyagainak szintéziséhez, más része a növények védekezéséhez szükséges. Az eukariótákban a stresszválaszok és a cukoranyagcsere központi szabályozója az SNF1 (sucrose non-fermenting 1) protein-kináz család. A család tagjai fontos szerepet játszanak egy ősi és nagymértékben konzerválódott protein-kináz szabályozási útvonal kialakításában. Élesztő két-hibrid rendszerben kimutattuk, hogy a PVY vírusátvitelben is szerepet játszó fehérjéje, a HC-Pro, kölcsönhatásba tud lépni a burgonya StubSNF1 kináz komplexének összekötő alegységével, az StubGAL83-mal.

Kulcsszavak: burgonya, fehérje-fehérje kölcsönhatás, SNF1 protein-kináz komplex, vírus

A burgonya egyik legveszedelmesebb kórokozója a *Potyvirus* nemzetség típusfaja, a burgonya Y vírus (*Potato virus Y*, PVY). Legfontosabb gazdanövényei a *Solanaceae* családba tartozó burgonya, paradicsom, paprika és dohány. A burgonyáról izolált PVY törzsek a gazdanövényeken okozott tünetek, szerológiai tulajdonságaik és levéltetűvel történő átvihetőségük alapján három fő csoportba sorolhatók, melyeket O, N és C betűkkel jelölünk (Beczner és mtsai 1984, Singh és mtsai 2008).

A PVY virionjai kb. 700 nm hosszúságúak, fonál alakúak, hajlékonyak. Egyetlen pozitív egyszálú RNS-láncot tartalmaznak, amelynek hossza kb. 9700 bázispár. Erről egy poliprotein íródik át, amit három vírus által kódolt proteináz vág fel tíz funkcionális fehérjére. Ezek között van a vírusátvitelben is szerepet játszó segítő fehérje, angolul a „helper component protein”, rövidítve a HC-Pro (Atreya és Pirone 1993). A vírusátvitel segítésén kívül a HC-Pro fehérjének még számos más funkciója is van. Részt vesz pl. az autoproteolízisben (Carrington és mtsai

1990), a poszttranszkripcionális géncsendesítés (post-transcriptional gene silencing, PTGS) szuppressziójában (Kasschau és Carrington 1998), a genomamplifikációban és a növényen belüli vírusterjedésben is (Kasschau és Carrington 2001).

A fertőzött növényekben jelentős változások mennek végbe, amelyek egy része, mint a betegség tünete, láthatóvá válik, más része a kórokozók elleni láthatatlan védekezést szolgálja. Növekszik a légzés intenzitása, bekapcsolnak az olyan alternatív légzési anyagcsereutak, mint pl., a pentózfoszfát-út, megjelennek a sejtekben a különleges oxidázok, megváltozik a nukleinsav- és fehérje-anyagcsere, és működni kezd a PTGS, aminek jellegzetes velejárója a vírus RNS feldarabolása, a vírus eredetű kisRNS-ek megjelenése, majd lebontása (Tenllado és mtsai 2004). A HC-Pro fehérje direkt és indirekt módon is gátolhatja a növények védekezőképességét. Közvetlenül kötődhet a kisRNS-ekhez, és ezzel megátolja az RNS hasítást végző RNS-indukálta RNS-hasító komplex létrejöttét

(Lakatos és mtsai 2006, Mérai és mtsai 2006) vagy, közvetett módon, szuppresszálhatja a komplex egy vagy több komponensének előállításához szükséges valamelyik faktort (Chapman és mtsai 2004).

Sunter és mtsai (2001) két geminivírus, a paradicsom arany mozaik vírus (*Tomato golden mosaic virus*, TGMV) AL2 génjét és a répa csúcs-göndörödés vírus (*Beet curly top virus*, BCTV) L2 génjét vizsgálva megállapították, hogy mindkettő kapcsolatban van a virulenciával. Az AL2 gén egy transzkripciósi aktivátor proteint (TrAP) kódol, ami a vírus köpenyfehérjéjének hatékony termelődéséhez és a növényen belüli terjedésért felelős úgynevezett „movement protein”-t kódoló BRL1 gén aktiválásához szükséges. A L2 gén az AL2 pozicionális homológja, de az általa kódolt fehérje alig mutat hasonlóságot a TrAP proteinnel. Hiányzik róla a transzkripciósi aktivátor domén, nem szükséges a köpenyfehérje termelődéséhez, és hiányában is képes a vírus a növényt szisztémikusan fertőzni. Tehát, a genomon elfoglalt hasonló pozíció nem párosul hasonló szereppel a transzkripció szabályozásában. Az L2 mutáns vírusokkal fertőzött növények nagyobb gyakorisággal képesek kigyógyulni a betegségből, de ez a képesség függ a fertőzési és a növekedési körülményektől is. A L2-transzgenikus, és az olyan AL2-vel transzformált dohány-növények, amelyekben hiányzik a TrAP aktiv doménje, fogékonyabbak a vírusos fertőzésekre, és nem csak a TGMV és a BCTV, hanem a dohány mozaik vírussal (*Tobacco mosaic virus*, TMV) történő fertőzésre is. Ez azért különös, mert a TMV, a másik kettővel ellentétben, amelyek egyszálú DNS-vírusok, RNS-vírus. Valószínű, hogy mind az AL2, mind pedig az L2 fehérje a gazdanövény általános stresszvédekező képességét csökkenti, ezáltal teszi fogékonyabbá a gazdanövényt a különböző vírusos fertőzésekre.

Élesztő két-hibrid rendszer segítségével (lásd Anyag és módszer fejezet) két olyan fehérjét is találtak az *Arabidopsis* cDNS klóntárban, amelyek kölcsönhatásba lépnek az AL2 és L2 fehérjékkel. Az egyik egy adenzin-dikináz (ADK), a másik egy SNF1-rokon kináz 1 (SnRK1) családba tartozó fehérje, az AKIN11 (Hao és mtsai 2003).

Az SNF1 protein-kinázok az élővilágban általánosan előforduló enzimkomplexek. A különböző metabolikus útvonalak szabályozása révén szerepük van a környezeti hatásokra adott sejtszintű válaszok kialakításában. Az SNF1 protein-kináz család legismertebb tagja az élesztő SNF1 kináza, amelynek a növényekben megtalálható ortológjai az SnRK-k. Az SNF1 protein-kináz komplexet három fehérje alkotja: [1] a katalitikus α -alegység (SNF1), [2] az összekötő β -alegység (SIP1, SIP2, vagy GAL83), [3] az aktivátor γ -alegység (SNF4) (Hedbacker és Carlson 2008). A növényi SnRK1-ek, hasonlóan az élesztőben és emlősökben található rokonaikhoz, a metabolikus enzimek poszt-transzlációs szabályozásán kívül, részt vesznek a transzkripció szabályozásában is azáltal, hogy transzkripciósi faktorokat foszforilálnak (Purcell és mtsai 1998).

Hao és mtsai (2003) az AL2 és L2 fehérjék SnRK1 komplexszel való kölcsönhatásának részletes vizsgálata során a kapcsolódás helyét mindkét vírusfehérjén egy 13 aminosavból álló szakaszra lokalizálták, és megállapították, hogy a kapcsolódásért az SnRK1 komplex SNF1 alegysége felelős. Mivel sem az AL2 sem pedig az L2 fehérjén nincs SnRK1 foszforilációs motívum, a kináz-szubsztrát kapcsolat ebben az esetben kizárható. Hao és mtsai (2003) azt is megállapították, hogy az SNF1 antiszenz gátlása dohány-növényekben ugyanolyan megnövekedett fogékonytságot eredményez a vírusos fertőzésekre, mint az AL2 vagy L2 termeltetése. Ezzel összhangban az SNF1 konstitutív túltermeltetése a dohányban megnövekedett rezisztenciához vezet. Kimutatták továbbá azt is, hogy *in vitro* mindkét fehérje, sőt az L2 élesztőben *in vivo* is, gátolja az SNF1-aktivitást.

Abból a felismerésből, hogy az SNF1 expressziójának megváltoztatása módosítja a vírusos fertőzésre való fogékonytságot, Hao és mtsai (2003) arra a következtetésre jutottak, hogy a gazdának „veleszületett” tulajdonsága, hogy a vírusfertőzésre anyagcsere-változással reagál. Az a megfigyelésük, hogy a geminivírusok AL2 és L2 fehérjei kölcsönhatásba lépnek és inaktíválják az SNF1-et és az ADK-t, alátámasztják ezt a teóriát, és rámutatnak arra is,

hogy a geminivírusok képesek a gazdaszervezetet saját javukra manipulálni. Tekintve az SNF1-ek konzervatív jellegét, feltehető, hogy ezek a kinázok nem csak a növényekben, hanem más eukariótákban is szerepet játszanak a vírusok elleni védekezésben. Az AL2 és L2 SNF1 kinázgátló hatásával kapcsolatos eredmények azt támasztják alá, hogy az SNF1 által irányított anyagcsere-változások a „veleszületett” antivirális védekezési mechanizmus fontos részei.

A potyvírusok HC-Pro fehérjéjének a szerepe hasonló, mint a geminivírusok AL2, illetve L2 fehérjéinek: vírustranszkripció, terjedés, PTGS szuppresszió (Qu and Morris 2005). Noha a funkcionális hasonlóság nem párosul semmiféle szekvenciahomológiával, úgy gondoltuk, ha működik a geminivírusokéhoz hasonló rendszer a PVY esetében, akkor ebben a HC-Pro-nak szerepének kell lennie. Kutatócsoportunk már korábban a burgonyából izolálta és jellemezte két SnRK1 komplex, a PKIN1 és StubSNF1, kináz alegységeinek génjét, valamint egy, az StubSNF1 kináz alegységéhez kapcsolódó fehérjét kódoló gént, az *StubGAL83*-at (Lakatos és Bánfalvi 1997, Lakatos és mtsai 1999, Lovas és mtsai 2003a,b, Sós-Hegedűs és mtsai 2005). Most megvizsgáltuk van-e kapcsolat a HcPro fehérje és a fent említett három SnRK1 alegység között.

Anyag és módszer

Élesztő két-hibrid rendszer

Az élesztő két-hibrid rendszer fehérjék kölcsönhatásának kimutatására szolgáló, olcsó és gyors módszer. Lényege, hogy az élesztőben kifejeztetjük a kérdéses fehérjéket egy csali (pAD) és egy préda (pBD) vektorban. Ezekről két fúziós fehérje íródik át oly módon, hogy az egyik fehérje DNS-kötő doménnal, a másik fehérje aktivátor doménnal van fúzióban. Ha a két fehérje képes egymással kapcsolatba lépni, akkor ezek a fúziós fehérjék komplexként együttműködnek, a DNS-kötő domén kapcsolódik a genom megfelelő szakaszához, az aktivátor domén pedig beindítja az átíródást és a riporter gén (*β-galaktoszidáz*) megnyilvánul, ami az élesztő-

sejtek kék színreakcióját okozza X-Gal (5-bromo-4-kloro-3-indolil- β -D-galaktopiranozid) jelenlétében (1. ábra).

A PVY^O törzséből származó HC-Pro gént (Almási és mtsai 2008) dr. Palkovics László (Budapesti Corvinus Egyetem, Növénykórtani Tanszék) bocsátotta rendelkezésünkre a pAD és pBD vektorokban. A pAD-HCPro és pBD-HCPro konstrukciók helyességét DNS szekvenciaanalízissel ellenőriztük, amit megrendelésünkre a Biomi Kft. végzett. A PKIN1, StubSNF1 és StubGAL83 cDNS-eket Lakatos és mtsai (1999) és Lovas és mtsai (2003b) klónozták az élesztő vektorokba. Kísérleteinkben ezeket használtuk partnerként a HC-Pro-t tartalmazó konstrukciókhoz. A plazmidokat a *Saccharomyces cerevisiae* Y190 törzsébe Gietz és Woods (1994) szerint, transzformációval juttattuk be. Az élesztőkolóniák β -galaktoszidáz-aktivitását Jiang és Carlson (1996) által használt úgynevezett „filter-lift” esszével vizsgáltuk a Yeast Protocols Handbook CLONTECH Laboratories leírása szerint (<http://www.clontech.com/techinfo/manuals/PDF/PT3024-1.pdf>).

Northern hibridizáció

A bakteriális plazmid DNS-t az úgynevezett alkalikus lízis módszerrel tisztítottuk (Sambrook és mtsai 1989). A plazmid DNS-eket 10–50 μ l reakció-térfogatban, a gyártó által javasolt pufferben és hőmérsékleten 60–90 percig emésztettük. A restriktions emésztés során keletkező DNS-fragmentumokat 1%-os agarózgélben választottuk el 1 mg/l etidiumbromidot tartalmazó 1xTBE (90 mM Tris-HCl; 90 mM bórsav; 20 mM EDTA; pH 8,1–8,3) pufferben és UV fényben tettük láthatóvá. A kívánt DNS-fragmentumokat az agarózgélből szikével és a gyártó utasításait követve, QIAEX II Gel Extraction Kittel (QIAGEN) izoláltuk. Az így izolált fragmentumokat a northern hibridizációkhoz [α -³²P]-dCTP-vel jelöltük. A jelölést „random priming” módszerrel végeztük. A DNS-fragmentumokat a be nem épült izotóptól Sephadex G-25 oszlopon választottuk el (Sambrook és mtsai 1989).

Az élesztőből az össz-RNS-t Stiekema és mtsai (1988) módszerével vontuk ki. Az RNS-mintákból Logemann és mtsai (1987) módszerével 20–20 µg-ot denaturáltunk, és formaldehid tartalmú 1%-os agarózgélben elválasztottunk. A gélt 20 percig 20×SSC-ben (3 M NaCl, 3.3 mM trinátrium-citrát, pH 7,0) mostuk, majd 10×SSC-vel blottoltuk Hybond N membránra. Az RNS-eket UV cross-linker készülékkel és 1 órás 80 °C-on való inkubálással fixáltuk a membránra.

A jelölt próbát a Church és Gilbert (1984) által leírt pufferben (0,5 M Na₂HPO₄; 7% SDS; 1 mM EDTA; 1% BSA; pH 7,2), forgó hibridizációs tégelyben, 65 °C-on, 20 órán át inkubáltuk a membránnal. Utána a nem specifikusan megtapadt próbát 0,1% SDS, 2×SSC oldatban, 65 °C-on, kétszer 20 percig, 0,1% SDS, 0,2×SSC oldattal 15 percig tartó mosással távolítottuk el. Röntgenfilmet tettünk a filterre és –70 °C-on exponáltuk. Végül az exponálódott képet előhívtuk, szkennelre digitalizáltuk, és az Adobe System Adobe Photoshop programjával formáztuk és feliratoltuk.

Eredmények és megvitatásuk

Kísérleteink célja annak eldöntése volt, hogy van-e kapcsolat a burgonya SnRK1 komplexekinek egyes alegységei és a PVY vírus HC-Pro fehérjeje között. Ehhez a pAD és pBD plazmidokba épített HC-Pro gént az ugyancsak pAD és pBD plazmidokba épített StubSNF1-gyel, a PKIN1-gyel, és az StubGAL83-mal a megfelelő párosításban (lásd Anyag és módszer) élesztőbe transzformáltuk. Kontrollként a pAD-StubSNF1 és pBD Stub GAL83 plazmidokat tartalmazó törzset használtuk. Az Stub SNF1 az StubGAL83-mal komplexet képez, és ez a kapcsolat élesztő két-hibrid rendszerben jól detektálható (Lakatos és mtsai 1999). A kísérletekben negatív kontrollként az üres vektorral (pl., pADHCPro-pBD) történt párosítások szolgál-

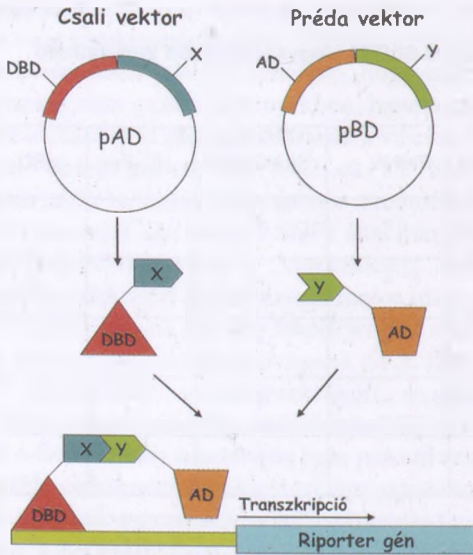
1. táblázat

A HC-Pro és a burgonya SnRK1 alegységei között kimutatható interakció

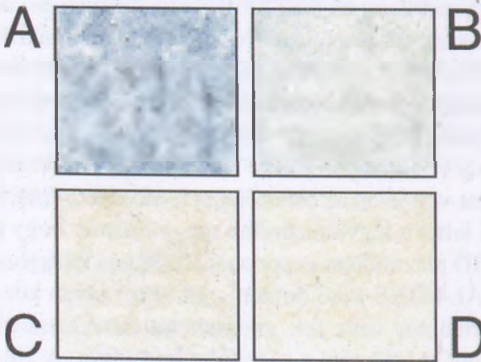
Préda Csali	StubSNF1	PKIN1	StubGAL83	HC-Pro	pBD
StubSNF1	-	-	+	-	-
PKIN1	-	-	-	-	-
StubGAL83	+	-	-	-	-
HC-Pro	-	-	+	-	-
pAD	-	-	-	-	-

tak. A transzformáns élesztővonalakkal elvégeztük a „filter-lift” esszét. Azt a meglepő eredményt kaptuk, hogy a HC-Pro egyik kináz alegységgel, azaz sem az StubSNF1-gyel, sem a PKIN1-gyel nem tud kapcsolatot teremteni. Ezzel szemben, ha a HC-Pro csaliként szerepel az élesztőben és az StubSNF1 komplex összekötő alegysége, az StubGAL83 a préda, akkor jól detektálható kölcsönhatás alakul ki a két fehérje között. Negatív volt viszont a teszt eredménye, ha a HC-Pro prédaként és a StubGAL83 csaliként volt jelen az élesztőben (1. táblázat). Ennek az lehet a legvalószínűbb magyarázata, hogy a pBD plazmidban expresszálandó fúziós fehérje (a GAL4 DNS-kötő domén – HC-Pro) olyan konformációt vesz fel, ami lehetetlenné teszi az StubGAL83-mal a kapcsolat létrejöttét. A „filter-lift” esszében a kék szín intenzitása a kapcsolat erősségével arányos. A pAD-StubSNF1 és pBD-StubGAL83 plazmidokat tartalmazó törzs sötétkéék (2A ábra), a pAD-HCPro és pBD-StubGAL83 plazmidokat tartalmazó törzs világoskék színű az X-Gal jelenlétében (2B ábra). Ez arra utal, hogy a HC-Pro az StubGAL83-mal nem képez komplexet, az StubGAL83 kapcsolata a HC-Pro-val gyengébb, mint az StubSNF1-gyel. A negatív kontroll X-Gal jelenlétében nem színeződtek (2 B,C ábra).

Az eredmények meglepő volta miatt – azaz, hogy az AL2 és L2 fehérjék az SnRK1 komplex kináz alegységével vannak kölcsönhatásban

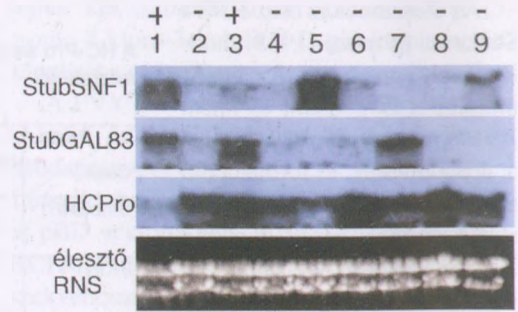


1. ábra. Az élesztő két-hibrid rendszer működési elve. DBD, DNS-kötő domén; AD, aktivátor domén; X és Y, a vizsgált két fehérje és kódoló géneik



2. ábra. Fehérje-fehérje kölcsönhatások kimutatása élesztő két-hibrid rendszerben „filter-lift” esszével X-Gal jelenlétében az élesztőtörzsek β -galaktozidáz-aktivitását a kék szín jelzi. A, Y190(pADStubSNF1-pBDStubGAL83); B, Y190(pADHCPro-pBDStubGAL83); C, Y190(pADHCPro-pBD); D, Y190(pAD-pBDStubGAL83)

(Hao és mtsai 2003), a HC-Pro viszont a burgonya egyik SnRK1 komplexének összekötő alegységével lép interakcióba – kontroll kísérletet végeztünk. RNS-t tisztítottunk a vizsgált élesztővonalakból és northern hibridizációs kísérletekben ellenőriztük az *StubSNF1*, a *PKIN1*, az



3. ábra. Northern hibridizációk élesztő törzsek ellenőrzésére

A kép bal oldalán a próbák neve szerepel. A + és – jelek a „filter-lift” esszé eredményét mutatják. A számok a különböző élesztő törzseket jelölik, amiből az RNS-kivonatok készültek: 1, pBDStubSNF1-pADStubGAL83; 2, pADHCPro-pBD; 3, pADHCPro-pBDStubGAL83; 4, pADHCPro-pBDPKIN1; 5, pADHCPro-pBDStubSNF1; 6, pBDHCPro-pAD; 7, pBDHCPro-pADStubGAL83; 8, pBDHCPro-pADPKIN1; 9, pBDHCPro-pADStubSNF1. A kép alján a gélen megfuttatott RNS-ek mint mennyiségi kontrollok láthatók

StubGAL83 és a *HC-Pro* transzkriptumok jelenlétét a különböző törzsekben. A northern hibridizációk eredményei igazolták, hogy az interakciót jelző törzsekben valóban az *StubGAL83* és a *HC-Pro* iródik át (3. ábra).

Élesztő két-hibrid rendszerben tehát kimutattuk, hogy a HC-Pro képes kapcsolatba lépni a burgonya egyik SnRK1 komplexével, de a várttal ellentétben, annak nem a katalitikus, hanem az összekötő alegységével. Ezzel szemben az AL2 és L2 fehérjék a dohány SnRK1 komplexének katalitikus alegységét ismerik fel (Hao és mtsai 2003). Az AL2 és L2 két geminivírus, a HC-Pro pedig egy potyvirus fehérjeje, és a vizsgált gazdanövények is eltérőek. Az a tény azonban, hogy különböző nemzetségbe tartozó vírusok egy-egy fehérjeje kölcsönhatásba lép az SnRK1 komplex valamelyik alegységével különböző növényfajokban, arra utal, hogy ez az interakció valamilyen szempontból fontos a vírus és a gazdanövény viszonyában. A HC-Pro *StubGAL83*-hoz való kötődése megakadályozhatja vagy csökkentheti a *StubSNF1*-*StubGAL83* komplex képződését, és így csökkentheti annak aktivitását. Élesztőben kimutatták, hogy a *GAL83* felelős az *SNF1* komplex

szubsztrát-specifitásaért és sejten belüli lokalizációjáért (Schmidt és McCartney 2000, Hedbacker és Carlson 2006). Ha ez a burgonyában is így van, akkor lehetséges, hogy a HC-Pro StubGAL83-hoz való kötődése megváltoztatja a komplex sejten belüli lokalizációját vagy szubsztrát-specifitását, ezáltal módosítja az SnRK1 által irányított anyagcseréutakat. Az AL2- és L2 transzgenikus dohánynövények fogékonyabbak a vírusfertőzésekre, mint a nem-transzformált kontroll (Sunter és mtsai 2001). A HC-Pro és az StubGAL83 kapcsolatának biológiai jelentőségét még nem tudjuk. Ezt a közeljövőben az antiszensz-StubGAL83 burgonyavonalak (Lovas és mtsai 2003a) vírusfogékonyágának vizsgálatával szeretnénk megismerni.

Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozunk *dr. Palkovics Lászlónak* (Budapesti Corvinus Egyetem, Növénykórtani Tanszék) a HC-Pro konstrukciókért, *dr. Salánki Katalinnak*, *dr. Salamon Pálnak* és *Kiss Mónikának* (Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont) a munkánkhoz nyújtott segítségükért.

IRODALOM

- Almási A., Tóbiás I., Basky Zs. és Palkovics L. (2008): Eltérő levéltetű-átviteli képességű burgonya Y virusizolátumok molekuláris vizsgálata. *Növényvédelem*, 44: 559–565.
- Atreya, C.D. and Pirone, T.P. (1993): Mutational analysis of the helper-component proteinase gene of a potyvirus: effect of amino acid substitutions, deletions and gene replacement on virulence and aphid transmissibility. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90: 11 919–11 223.
- Beczner, L., Horváth, J., Romhányi, I. and Förster, H. (1984): Studies on the etiology of tuber necrotic ringspot disease in potato. *Potato Res.*, 27: 339–352.
- Carrington, J.C., Freed, D.D. and Oh, C.-S. (1990): Expression of potyviral polyproteins in transgenic plants reveals three proteolytic activities required for complete processing. *EMBO J.*, 9: 1347–1353.
- Chapman, E.J., Prokhnovsky, A.I., Gopinath, K., Dolja, V.V. and Carrington, J.C. (2004): Viral RNA silencing suppressors inhibit the microRNA pathway at an intermediate step. *Genes Develop.*, 18: 1179–1186.
- Church, G.M. and Gilbert, W. (1984): Genomic sequencing. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81: 1991–1995.
- Gietz, R.D. and Woods, R.A. (1994): High efficiency transformation in yeasts. In: Johnston, J.A. (ed.): *Molecular Genetics of Yeast: Practical Approaches*. Oxford University Press, 121–134.
- Hao, L., Wang, H., Sunter, G. and Bisaro, D.M. (2003): Geminivirus AL2 and L2 proteins interact with and inactivate SNF1 kinase. *Plant Cell*, 15: 1034–1048.
- Hedbacker, K. and Carlson, M. (2006): Regulation of the nucleocytoplasmic distribution of Snf1-Gal83 protein kinase. *Eukaryot. Cell*, 5: 1950–1956.
- Hedbacker, K. and Carlson, M. (2008): SNF1/AMPK pathways in yeast. *Front Biosci.*, 13: 2408–2420.
- Jiang, R. and Carlson, M. (1996): Glucose regulates protein interactions within the yeast SNF1 protein kinase complex. *Genes Dev.*, 10: 3105–3115.
- Kasschau, K.D. and Carrington, J.C. (1998): A counter-defensive strategy of plant viruses: suppression of posttranscriptional gene silencing. *Cell*, 95: 461–470.
- Kasschau, K.D. and Carrington, J.C. (2001): Long-distance movement and replication maintenance functions correlate with silencing suppression activity of potyviral HC-Pro. *Virology*, 285: 71–81.
- Lakatos, L. and Bánfalvi, Z. (1997): Nucleotide sequence of a cDNA clone encoding an SNF1 protein kinase homologue (Accession No. U83797) from *Solanum tuberosum* (PGR97-043). *Plant Physiol.*, 113: 1004.
- Lakatos, L., Csorba, T., Pantaleo, V., Chapman, E.J., Carrington, J.C., Liu, Y.-P., Dolja, V.V., Calvino, L.F., López-Moya, J.J. and Burgyn, J. (2006): Small RNA binding is a common strategy to suppress RNA silencing by several viral suppressors. *EMBO J.*, 25: 2768–2780.
- Lakatos, L., Klein, M., Höfgen, R. and Bánfalvi, Z. (1999): Potato StubSNF1 interacts with StubGAL83: a plant protein kinase complex with yeast and mammalian counterparts. *Plant J.*, 5: 569–574.
- Logemann, J., Schell, J. and Willmitzer, L. (1987): Improved method for the isolation of RNA from plant tissues. *Anal. Biochem.*, 163: 1620.
- Lovas, A., Bimbó, A., Szabó, L. and Bánfalvi, Z. (2003a): Antisense repression of StubGAL83 affects root

- and tuber development in potato. *Plant J.*, 33: 139–147.
- Lovas, A., Sós-Hegedűs, A., Bimbó, A. and Bánfalvi, Z.** (2003b): Functional diversity of potato SNF1-related kinases tested in *Saccharomyces cerevisiae*. *Gene*, 321: 123–129.
- Mérai, Z., Kerényi, Z., Kertész, S., Magna, M., Lakatos, L. and Silhavy, D.** (2006): Double-stranded RNA binding may be a general plant RNA viral strategy to suppress RNA silencing. *J. Virol.*, 80: 5747–5756.
- Purcell, P.C., Smith, A.M. and Halford, N.G.** (1998): Antisense expression of a sucrose non-fermenting-1-related protein kinase sequence in potato results in decreased expression of sucrose synthase in tubers and loss of sucrose-inducibility of sucrose synthase transcripts in leaves. *Plant J.*, 14: 195–202.
- Qu, F. and Morris, T.J.** (2005): Suppressors of RNA silencing encoded by plant viruses and their role in viral infections. *FEBS Lett.*, 579: 5958–5964.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F. and Maniatis, T.** (1989): *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Ed 2. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Schmidt, M.C. and McCartney, R.R.** (2000): β -subunits of Snf1 kinase are required for kinase function and substrate definition. *EMBO J.* 19: 4936–4943.
- Singh, R.P., Valkonen, J.P., Gray, S.M., Boonham, N., Jones, R.A., Kerlan, C. and Schubert, J.** (2008): Discussion paper: The naming of Potato virus Y strains infecting potato. *Arch. Virol.*, 153: 113.
- Sós-Hegedűs, A., Lovas, A., Kondrák, M., Kovács, G. and Bánfalvi Z.** (2005): Active RNA silencing at low temperature indicates distinct pathways for antisense-mediated gene-silencing in potato. *Plant Mol. Biol.*, 59: 595–602.
- Stiekema, W.J., Heidekamp, F., Dirkse, W.G., Van Beckum, J., De Haan, P., Ten Bosh, C. and Louwerse, J.D.** (1988): Molecular cloning and analysis of four potato tuber mRNAs. *Plant Mol. Biol.*, 11: 255–269.
- Sunter, G., Sunter, J. and Bisaro, D.M.** (2001): Plants expressing tomato golden mosaic virus AL2 or beet curly top virus L2 transgenes show enhanced susceptibility to infection by DNA and RNA viruses. *Virology*, 285: 59–70.
- Tenllado, F., Llave, C. and Diaz-Ruiz, J.R.** (2004): RNA interference as a new biotechnological tool for the control of virus diseases in plants. *Virus Res.*, 102: 85–96.

INTERACTION BETWEEN THE HC-PRO PROTEIN OF POTATO VIRUS Y AND THE STUBGAL83 PROTEIN OF POTATO

F. Beczner, F. Antal and Zsófia Bánfalvi

Agricultural Biotechnology Center, H-2100 Gödöllő, Szent-Görgyi A. str. 4.

Potato virus Y (PVY) is considered to be economically the most harmful virus in cultivated potatoes world-wide. Occasionally, PVY infection results in complete loss of yield. In infected plants, significant molecular changes occur. A part of these changes serves the synthesis of virus particles, while the other part of changes is necessary for plant protection. In eukaryotes, the sucrose non-fermenting 1 (SNF1) protein kinase family is involved in stress responses and sugar metabolism. Members of SNF1 family have an important role in triggering an ancient and highly conserved regulatory pathway. In a yeast two-hybrid system, we have shown interaction between the HcPro protein of PVY involved, among others, in virus transmission and the StubGAL83 subunit of the StubSNF1 kinase complex of potato.

Keywords: potato, protein-protein interaction, SNF1 protein kinase complex, virus

Érkezett: 2010. április 22.

EGYSZERŰ FESTÉSI ELJÁRÁS EGYSZIKŰEK LISZTHARMAT-FERTŐZÉSÉNEK MEGÁLLAPÍTÁSÁRA ÉS ALKALMAZÁSA BÚZAFAJTÁK JELLEMZÉSÉRE

Várallyay Éva¹, Vida Gyula², Giczey Gábor¹, Veisz Ottó², Burgyán József¹ és Havelda Zoltán¹

¹Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont, 2100 Gödöllő Szent-Györgyi A.u. 4.,

²Magyar Tudományos Akadémia Mezőgazdasági Kutatóintézet, 2462 Martonvásár, Brunszvik u. 2.

varallya@abc.hu, vidagy@mail.mgki.hu, veisz@mail.mgki.hu, burgyan@abc.hu, havelda@abc.hu

A búzalisztharmat a világ búzatermesztő övezeteiben évről évre megjelenő, akár 40%-os termés kiesést is okozó betegség. Okozója egy obligát parazita gomba (*Blumeria graminis f.sp. tritici*). A köztermesztésben álló búzafajták többsége lisztharmatfogékony, ami indokolja a vegyszeres védekezést, és így terheli a környezetet. A probléma egyik megoldását jelentheti lisztharmattal szemben ellenálló fajták nemesítése ismert rezisztenciaforrások keresztezési programokba vonásával, illetve új, molekuláris biotechnológiai módszerekkel.

Munkánk során lisztharmatfertőzési és -festési eljárást optimalizáltunk búzára, mellyel laboratóriumi, illetve üvegházi körülmények között gyorsan és egyszerűen vizsgálható az adott fajta vagy fajtajelölt lisztharmat-fogékonyága. Az optimalizált teszttel martonvásári fajtákat jellemeztünk, megmutatva a módszer előnyeit.

Kulcsszavak: lisztharmat, búza, festés, rezisztencia

A búzalisztharmat a világ összes búzatermesztő övezetében évről évre megjelenő, nagy károkat okozó betegség. Magyarországon először 1961-ben írták le járványszerű megjelenését (Podhradzky és Csuti 1962). Azóta minden évben van természetes fertőződés. Átlagos években 5–8%, erős fertőzéskor akár 40%-os termés kiesést is okozhat. A betegség az alsó levélemelektől halad fölfelé, és erős epidémia esetén, fogékony fajtákon elérheti akár a kalászt is. A fertőzött zöld növényi részeken megjelennek a gomba szaporító képletei és a gombafonal tömege. A micélium alatt az élősködés következtében elhálnak a levél és a szár szövetei. A levelek részben vagy egészben elszáradhatnak, a kalászban a szemek nem telnek ki, értéktelenek, ránkocsak lesznek, így a termésmennyiség csökkenése mellett a malomipari minőség is rosszabb lesz.

A búzalisztharmat kórokozója a *Blumeria graminis f.sp. tritici* (Bgt) gomba, amely obligát biotróf szervezet, azaz életciklusának kiteljesítéséhez feltétlenül szüksége van az élő gazda-

szervezetre. A búzalevélre kerülő spórák elsődleges csíratömlőt fejlesztenek, amely segíti megtapadásukat a levél felületén (Kunoh és mtsai 1978). Ezt követi a másodlagos csíratömlő fejlesztése, amelyből az appresszorium képződik. Az appresszorium áttöri a levél-epidermiszejt falát, majd hausztóriummá differenciálódik a sejten belül oly módon, hogy a növényi sejtmembrán intakt marad (Eichmann és Huckelhoven 2008, Belanger és mtsai 2002).

A kórokozóval szemben többféle módon védekezhetünk. Agrotechnikai módszerekkel, kémiai növényvédelemmel vagy rezisztens fajták termesztésével. A jelenleg államilag elismert és a köztermesztésben használt búzafajták jelentős része lisztharmatfogékony.

A molekuláris biológia, különösen a transzgenikus technológiák terjedésével szükségessé vált olyan tesztrendszerek kidolgozása is, melyeket fitotronban, illetve üvegházakban lehet elvégezni, és nem igényelnek szántóföldi körülményeket.

Az irodalomban gombaképletek festésére több eljárás ismert. Ezek a módszerek alapvetően hasonlóak, feltisztítási, festési és háttér-szintelenítési lépésekből állnak. Eltérés abban van, hogy ezeket a lépéseket milyen anyagok felhasználásával végzik. A festékek is különbözőek lehetnek pl: toluidinkék (Ghemawat 1977), chlorazolfekete (Keane 1988), trypánkék (Phillips és Hayman 1970), anilinkék (Bhadauria és mtsai 2009).

A fertőzés módjában is nagy eltérésekkel találkozhatunk: spontán fertőzések megfigyelése, propagált fertőzés ecsettel, befúvásos technikával (Belanger és mtsai 2002).

Az általunk alkalmazott módszer gyors, egyszerűen, kevés növényanyag felhasználásával elvégezhető, így a nemesítőknek olyan eszközt ad a kezébe, mellyel az adott tulajdonság a nemesítési folyamat során végig nyomon követhető.

Anyag és módszer

Növények nevelése, fenntartása

A vizsgálandó növények magjait palántaföldet tartalmazó cserepekbe vetettük (10–15 mag/12 cm átmérőjű cserép), majd 22 fokon, növénynevelő kamrában csíráztattuk, illetve neveltük a korai lisztharmat-rezisztencia megállapításához 14 napig, a kalászosítás előtti rezisztencia megállapításához 3 hónapig.

Lisztharmat fenntartása

Különböző lisztharmat-patotípusok keverékéből álló kórokozó populációt Carsten V búzán tartottuk fenn, 15 °C-on, kéthetente friss növényanyagot fertőzve.

Lisztharmatfertőzés csészén

A vizsgálni kívánt búzalevelek, 2–3 cm-es darabjait 1mM benzimidazol tartalmú 0,5% (w/v) desztillált vizagaros csészére helyeztük (színükkel fölfelé, a csücsi részt és az erősen görbülő alapi részeket kihagytuk). Az így elkészített csészét, befúvásos technikával, lisztharmat-konidiumokkal inokuláltuk (Belanger és

mtsai 2002). A csészéket 15 °C-on inkubáltuk 2–3–4–5-napig.

Feltisztítás csészén és festés trypánkékekkel

A feltisztítást és festést egy már leírt módszer módosításával (Hein és mtsai 2005) végeztük.

Az inkubálási idő végén a levéldarabokat feltisztítottuk. Ez a levél szintelenítését jelentette, hogy később a hifafestés háttere minél halványabb legyen. A feltisztítás etanol:ecetsav=1:1 elegyével történt. Petri-csészébe 2 réteg savas etanollal nedvesített szűrőpapírra helyeztük a leveleket színükkel fölfelé. A feltisztítás optimális időtartama 2 nap volt, ha gyakrabban cseréltük a savas etanolt, ez az időszak lerövidült, a levelek hamarabb szintelenedtek.

A feltisztított levelekről a savas etanolt leszívottuk, és helyette 1% HCl-at pipettáztunk rá. 30 percig szobahőmérsékleten inkubáltuk. Ezután 2 ml 0,05% trypánkék oldatot tartalmazó csövekbe helyeztük a leveleket, majd 60 fokon 30 percig inkubáltuk. A festés végén a csöveget ismét szobahőmérsékletre helyeztük, ahol a trypánkék festéket 25% glicerin/0,5% ecetsav (sósavas glicerin) elegyére cseréltük. A levelek ebben az oldatban festéktelenednek, a kék festék csak a gombastruktúrákhoz kötve marad meg.

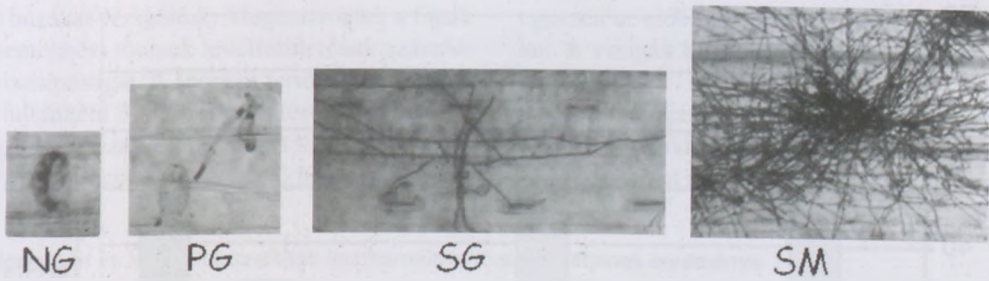
Mikroszkópos vizsgálat

A megfestett leveleket színükkel fölfelé tárgylemezre helyeztük, és sósavas glicerint használva fedtük le. A megfestett leveleken található gombatelepeket a fejlettségi szintjüket jellemző 4 kategória egyikébe soroltuk. Levelelként min. 100 telep besorolását végeztük el. A fajták jellemzésekor fajtánként 3 levelet fertőztünk és festettünk, és ezeken számoltuk a különböző gombatelepeket.

Eredmények

Trypánkék festési eljárás optimalizálása búzára

Az irodalomban árpára leírt módszerek (Hein és mtsai 2005) alapján festési eljárást optimalizáltunk a lisztharmatfertőzött búza gomba-



1. ábra. A *Blumeira graminis* f.sp. tritici fertőzésére jellemző gombastruktúrák, az általunk optimalizált festési eljárással festve

NG – nem csirázó (non germinating) PG – elsődleges csíratömlőt hajtó (primary germinating), SG – másodlagos csíratömlőt hajtó (secondary germinating), M-micéliumok (secondary mycelia)

képleteinek láthatóvá tételére. A fertőzött búza-leveleket 5 nappal a fertőzés után az anyagok és módszerek fejezetben leírt módon festettük. A festés, a leírt módon nagyon egyszerű és hatékony, segítségével a gombaképletek a búza levelein jól vizsgálhatóak. Mikroszkóppal vizsgálva a gombaképletek az ismert fejlődési stádiumokba egyértelműen besorolhatóak voltak. Az 1. ábra az általunk későbbiekben használt 4 reprezentáns fejlődési állapotot mutatja.

A lisztharmat-fogékonyság vizsgálatához optimalizáltuk a mintavétel időpontját is. Az optimalizálás célja annak megállapítása volt, hogy a levél lisztharmatfertőzését követően mikor kell a gombahifák festését elvégezni, továbbá hogy a konídiumokból kifejlődő micéliumok besorolása után a legnagyobb különbséget lássuk fogékony és rezisztens kapcsolatokban.

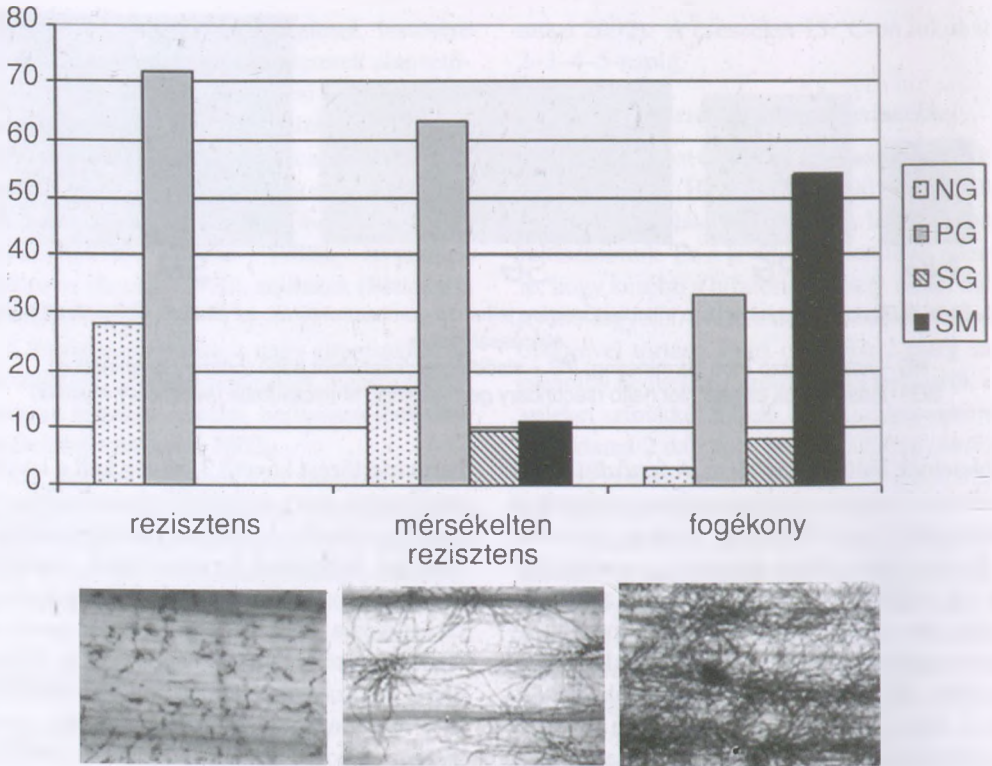
Széles spektrumú lisztharmatrezisztens búza nem állt rendelkezésünkre, ezért a kísérleteket homológ rendszeren, árpán állítottuk be, ezután adaptáltuk búzára. Az optimalizáláshoz fogékony és mlo alapú rezisztenciát hordozó lisztharmatrezisztens árpatokat csíráztattunk. Táptalajra helyezett egyhetes levelek darabjait, befűvásos technikával, árpalisztharmattal fertőztük. A leveleket 1,2,3,4,5 nap után megfestettük és mikroszkóppal megállapítottuk a levélre került konídiumokból kialakuló telepek fejlettségi állapotát. A rezisztens leveleken a konídiumok csak az elsődleges csírázásig jutottak, a fogékony leveleken 3–4 nap után már kifejlődtek a másodlagos hifák és a konídiumtartók (2. ábra). Kísérletünk eredménye alapján a lisz-

tharmatfertőzést követő 3. napon kell a leveleket megfesteni, mert a várt különbségek ekkor már megfigyelhetők. A fertőzés hatékonysága a különböző fejlettségű gombatelepek százalékos megoszlásával jellemezhető. A rezisztens kapcsolatra az a jellemző, hogy a konídiumok csak a nem csirázó (non germinating = NG), illetve az éppen csírázásnak indult (primary germinating = PG) stádiumig jutnak el. Ha a növény nem rezisztens, a konídium másodlagos csíratömlőt képez (secondary germinating = SG), megjelennek a micéliumok (secondary mycelia = SM), végül a konídiumtartók is. Az eredmények százalékos eloszlása, illetve oszlopdiagramon való ábrázolása egyértelműen jellemzi a növény lisztharmattal szembeni fogékonyságát. A 2. ábrán jól látható, hogy a rezisztens leveleken a konídiumok csak az elsődleges csíratömlő képzéséig jutottak, a fogékony leveleken 3 nap után már kifejlődtek a másodlagos hifák és a konídiumtartók. Eredményeink alapján a lisztharmatfertőzést követő 3. napon kell a leveleket megfesteni, mert a búzafajták fogékonyságának mértéke ekkor már egyértelműen megállapítható.

Martonvásári búzafajták lisztharmatrezisztenciájának jellemzése

A búzanesésítésben fontos jellemző a fajta vagy fajtajelölt lisztharmat-rezisztenciája.

Az általunk laboratóriumi körülményekre optimalizált fertőzéssel és festéssel 56 martonvásári búzafajtát, illetve fajtajelöltet jellemeztünk.



2. ábra. Egy rezisztens, egy mérsékelten rezisztens és egy fogékony búza lisztharmatfertőzésének összehasonlítása oszlopdiagram segítségével

Az oszlopdiagramok magassága az adott fejlődési stádiumban lévő telepek arányát mutatja százalékos megoszlásban. Az oszlopdiagramok alatt az adott levélről készült fényképen jól látszódnak az eltérő fejlettségű gombastruktúrák

NG – nem csírázó (non germinating) PG – elsődleges csíratömlőt hajtó (primary germinating), SG – másodlagos csíratömlőt hajtó (secondary germinating), M-micéliumok (secondary mycelia)

A fajták lisztharmat-ellenállóságát két időpontban vizsgáltuk. A korai lisztharmat-ellenállóságot 14 naposan, a felnőttkori rezisztenciát 3 hónapos korban, kalászosítás előtt állapítottuk meg. A lisztharmat-ellenállóság meghatározása kétféle módon történt. A korai időpontban levéltesztet végeztünk, mely során levélszegmenseket benzimidazolos agarra helyezve befűvamos technikával lisztharmat patotípus keverékkel fertőztünk. A fertőzés után 3 nappal fajtánként 3 levélszegmenseket vizsgáltunk, mikroszkóp alatt megszámláltuk a különböző fejlődési stádiumig eljutott spórák mennyiségét.

A fajták ellenálló képességét a fertőzés során megjelenő telepek különböző stádiumainak arányából állapítottuk meg. Minden esetben leg-

alább 100 levélre jutott spórából kifejlődő telepet besoroltunk a fenti kategóriák egyikébe, és százalékosan megállapítottuk ezek arányát. Ahhoz, hogy könnyen értékelhető százalékos értéket kapjunk, az NG+PG:SG+SM arányszámot adtuk meg. Ezután már csak az SG+SM telepek százalékos értékeit vizsgáltuk. Ha ez az érték a 25–100% közötti tartományba esett a növény F=fogékony besorolást kapott, 2–25% között MR=mérsékelten rezisztensnek, 0–2% között R=rezisztensnek minősítettük a növényeket.

A tesztek kontrolljaként két fogékony fajtát használtunk: a Carsten V és a Bezosztaja 1 fajtákat.

A felnőttkori rezisztencia megállapításához az üvegházban spontán lisztharmattal fertőző-

dött búzákat vizsgáltuk. Meghatároztuk a fajták és nemesítési törzsek levélfelületének százalékos borítottóságát. A spontán fertőződött levelekből fajtánként 3–3 db-ot megfestettünk az általunk optimalizált eljárással. A százalékos értékek rezisztenciának megfelelő besorolása meg-

egyezett az előbbieken megadott határértékekkel. A vizsgált fajták besorolását az 1. táblázat tartalmazza.

Ezek alapján az 56 martonvásári fajtából 5 mindkét fejlődési stádiumban rezisztensnek és 12 mérsékelten rezisztensnek bizonyult.

1. táblázat

Martonvásári és kontroll búzafajták lisztharmat-fertőzési tesztjének eredménye

	Fajta	Korai %	Korai R	Késői spontán %	Késői spontán %	Késői spontán R
1	Mv Emese	53:37	F	100:5	5	MR
2	Mv Palotás	69:31	F	0:0	0	R
3	Mv Mambó	80:20	MR	100:100	100	F
4	Mv Marsall	80:20	MR	78:100	78	F
5	Mv Toborzó	87:13	MR	95:90	86	F
6	Mv Regiment	96:4	MR	0:0	0	R
7	Mv Hombár	82:18	MR	0:0	0	R
8	Mv Laura	65:35	F	100:80	80	F
9	Mv Menüett	72:28	F	100:30	30	F
10	Mv Bodri	76:24	MR	95:10	9	MR
11	Mv Toldi	61:39	F	100:100	100	F
12	Mv 05-06	80:20	MR	100:30	30	F
13	Mv 08-07	100:0	R	0:0	0	R
14	Mv Magvas	55:45	F	100:100	100	F
15	Mv Csárdás	94:6	MR	100:100	100	F
16	Mv Verbunkos	73:27	F	61:30	18	MR
17	Mv Süveges	72:28	F	78:40	32	F
18	Mv Suba	83:17	MR	80:60	48	F
19	Mv Ködmön	52:48	F	100:100	100	F
20	Mv Béres	79:21	MR	72:70	50	F
21	Mv Kolo	75:25	MR	78:30	23	MR
22	Mv Lucia	74:26	F	66:20	13	MR
23	Mv08-06	72:28	F	0:0	0	R
24	Mv10-06	39:61	F	85:30	25	MR
25	Mv Magdaléna	84:16	MR	100:100	100	F
26	Mv Mazurka	81:19	MR	73:60	43	F
27	Mv Walzer	94:6	MR	100:30	30	F
28	Mv Vekni	88:12	MR	100:100	100	F
29	Mv 05-07	92:8	MR	0:0	0	R
30	Mv 07-07	94:6	MR	29:20	6	MR
31	Mv 09-07	90:10	MR	26:20	5	MR
32	Mv 10-07	98:2	MR	0:0	0	R
33	Mv 15-07	72:28	F	95:80	76	F
34	Mv 17-07	89:11	MR	80:60	48	F

Az 1. táblázat folytatni

Martonvásári és kontroll búzafajták lisztharmat-fertőzési tesztjének eredménye

	Fajta	Korai %	Korai R	Késői spontán %	Késői spontán %	Késői spontán R
35	Mv21-07	64:36	F	100:90	90	F
36	Mv Zelma	99:1	R	0:0	0	R
37	Mv04-08	73:27	F	0:0	0	R
38	Mv05-08	67:23	MR	100:10	10	MR
39	Mv06-08	59:41	F	100:100	100	F
40	Mv07-08	87:13	MR	100:40	40	F
41	Mv08-08	85:15	MR	50:10	5	MR
42	Mv09-08	65:35	F	100:100	100	F
43	Mv10-08	84:16	MR	0:0	0	R
44	Mv11-08	78:22	MR	0:0	0	R
45	Mv12-08	68:32	F	75:30	22,5	MR
46	Mv13-08	81:19	MR	88:60	53	F
47	Mv14-08	69:31	F	100:50	50	F
48	Mv15-08	100:0	R	0:0	0	R
49	Mv16-08	100:0	R	0:0	0	R
50	Mv17-08	100:0	R	0:0	0	R
51	Mv18-08	50:50	F	100:100	100	F
52	Mv19-08	59:41	F	100:100	100	F
53	Mv20-08	71:29	F	83:70	58	F
54	Mv21-08	51:49	F	22:10	2,2	R
55	Mv22-08	76:24	F	0:0	0	R
56	Mv23-08	57:43	F	0:0	0	R
57	Carsten V.	31:69	F	100:100	100	F
58	Bezostaja 1	61:39	F	100:100	100	F

A fajták összegző minősítésekor mindig a kisebb ellenállásnak vagy rezisztenciának megfelelő értéket tüntettük fel. A besoroláshoz az adott fajta levelén a gombaspóra által elért fejlődési stádiumokat 4 csoportba soroltuk. A táblázatban a korai százaléknál NG+PG:SG+SM arányszámot adtuk meg. Ha az SG+SM telepek százalékos értéke 25–100% közötti tartományba esett a növény F=fogékony besorolást kapott, 2–25% között MR=mérsékelt rezisztensnek, 0–2% között R=rezisztensnek minősítettük a növényeket. A késői százalékok azt mutatják, hogy a levél hány százaléka volt fertőzött (második késői százalékoszlop), illetve, hogy ezen belül milyen volt az NG+PG:SG+SM stádiumok aránya (első késői százalékoszlop).

Következtetések

Munkánk során sikeresen optimalizáltuk búzára egy lisztharmatfertőzésből és a gombafonalak festéséből álló eljárást, mellyel egyszerűen, reprodukálhatóan vizsgálható a búza lisztharmat-fogékonyasága laboratóriumi, üvegházi körülmények között. A módszer előnye, hogy a kísérleti célra transzgenikus technológiával előállított búzagenotípusok így megbízhatóan tesztelhetők, szabadföldi kísérletek elvégzése nélkül.

A módszer további előnye, hogy egy adott levelén az összes levélre jutott konidium élet- és fertőzőképességét jellemzi, a szemrevételezéssel megállapított boritottságnál pedig kizárólag a sikeres fertőzést követően másodlagos hifát fejlesztő konidiumok sorsa ismert. A mikroszkópos megfigyelés a fogékony fajtákon belül további elkülönítést tett lehetővé: néhány esetben a micéliumképzés elindult – tehát a fajta ebből a szempontból fogékonynak tekinthető – de a micélium gyengébben (vékonyabb szálak) és lassabban

(kisebb fertőzött felület) fejlődött, így a mikroszkóp alatt látható gombahifa-szövedék mennyisége a különböző fajtákon eltérő volt. A teszt ilyen irányú finomítása a jövőben hozzájárulhat a rejtett rezisztenciaformák feltárásához. A martonvásári fajták tesztelése azt is megmutatta, hogy egyes fajták már fiatal (14 napos, 2–3 leveles stádium) korban is rezisztensek a lisztharmattal szemben. Más fajták fiatal korban még fogékonyak, de felnőtt korban, kalászás előtt már rezisztensek. A tesztnek tehát abban is jelentős szerepe lehet, hogy az adott fajtát letesztelve ajánlásokat adjon a termesztőknek, hogy melyik fajta esetében mikor hasznos, illetve mikor szükséges kémiai növényvédelmet alkalmazni.

Köszönetnyilvánítás

A munka a GAK TRIPATOL pályázat keretében valósult meg. *Várallyay Éva* munkáját a Bolyai János Kutatási Ösztöndíj támogatta.

IRODALOM

- Belanger, R.R., Dik, A.J. and Carver, T.L.W.** (2002): The Powdery Mildews: A Comprehensive Treatise, PUBD American Phytopathological Society (APS) Press, St Paul
- Bhadauria, V., Miraz, P., Kennedy, R., Banniza, S. and Wei, Y.** (2009): Dual trypan-aniline blue fluorescence staining methods for studying fungus-plant interactions *Biotechnic and Histochemistry*, 1473–7760.
- Eichmann, R. and Huckelhoven, R.** (2008): Accommodation of powdery mildew fungi in intact plant cells. *J Plant Physiol*, 165 (1): 518.
- Ghemawat, M.S.** (1977): Polychromatic staining with toluidine blue O for studying the host-parasite relationships in wheat leaves of *Erysiphe graminis* f.sp. *tritici*. *Physiological Plant Pathology*, 11 (3): 251–252.
- Hein, I., Barciszewska-Pacak, M., Hrubikova, K., Williamson, S., Dinesen, M., Soenderby, I. E., Sundar, S., Jarmolowski, A., Shirasu, K., Lacomme, C.** (2005): Virus-induced gene silencing-based functional characterization of genes associated with powdery mildew resistance in barley. *Plant Physiol*, 138 (4): 2155–2164.
- Keane, P.J., Limongiello, N., Warren, M.A.** (1988): A Modified Method for Clearing and Staining Leaf-Infecting Fungi in Whole Leaves. *Australasian Plant Pathology*, 17 (2): 37–38.
- Kunoh, H., Tsuzuki, T. and Ishizaki, H.** (1978): Cytological studies of early stages of powdery mildew in barley and wheat. IV. Direct ingress from superficial primary germ tubes and appressoria of *Erysiphe graminis* hordei on barley leaves. *Physiological Plant Pathology*, 13 (3): 327–330.
- Phillips, J.M. and Hayman, D.S.** (1970): Improved procedure for clearing and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 55: 158–161.
- Podhradský J. és Csuti I.-né** (1962): Búza- és árpa-lisztharmatjárvány 1961. évben Magyarországon. *Növénytermelés*, 11: 249–254.

SIMPLE AND RAPID ASSAY FOR DETERMINATION OF SENSITIVITY OF MONOCOTILEDONOUS PLANTS TO POWDERY MILDEW INFECTION AND USAGE OF THE METHOD FOR CHARACTERIZATION OF MARTONVASAR TRAITS

Éva Várallyay¹, Gy. Vida², G. Giczey¹, O. Veisz², J. Burgyán¹ and Z. Havelda¹

¹Agricultural Biotechnology Center, 2100 Gödöllő Szent-Györgyi A. str. 4.

²Agricultural Research Institute of the Hungarian Academy of Sciences, 2462 Martonvásár, Brunsvik str. 2. varallya@abc.hu, vidagy@mail.mgki.hu, veisz@mail.mgki.hu, burgyan@abc.hu, havelda@abc.hu

Powdery mildew, caused by the obligate biotrophic fungus *Blumeria graminis*, is one of the most important diseases of cereals worldwide. Wheat varieties vary in their resistance to powdery mildew. Commonly used traits are susceptible for this pathogen and fungicides are used to control its infections. Growing resistant varieties is the most economical way to control powdery mildew. Breeding programs for resistant plants use new types of resistance and genetic modifications as well.

We have optimised a simple and rapid assay for determination of powdery mildew resistance of monocot plants what can be used on small scale in fitotrons and greenhouses to help the breeders to check this feature of their potential traits.

Using the described assay we have characterized Martonvásár traits to show the advantage of the method.

Keywords: powdery mildew, wheat, staining, resistance

Érkezett: 2010. április 23.

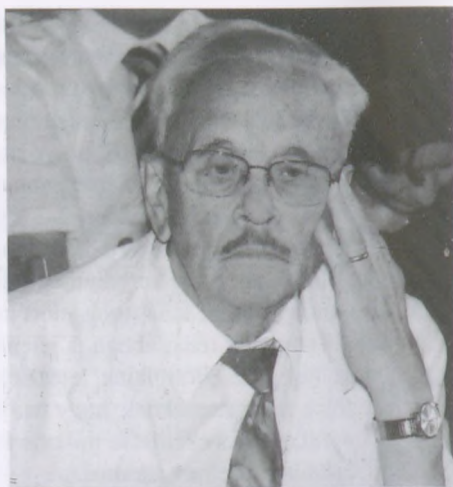
KRÓNIKA

JUBILEUMI ÖTVENEDIK AKADÉMIAI ARANYÉREM 2010 TULAJDONOSA:

KIRÁLY ZOLTÁN

Az Akadémiai Aranyérem kitüntetést az MTA elnöke hozta létre 10/1960. MTA (A.K. 12. sz.) utasításával. A díjat, melynek a Magyar Tudományos Akadémia Elnöksége az adományozója az Akadémia elnöke adja át az MTA közgyűlésén keretében. Évente egy ilyen kitüntetés adományozható, kizárólag az Akadémia tagja kaphatja, kiemelkedő tudományos, tudományos közéleti, tudáspolitikai és tudományos szervezői tevékenység elismeréseként. Az Akadémiai Aranyérmet ebben az évben Király Zoltán kapta. Különleges jelentősége van ennek a jubileumi, 50. aranyéremnek, hiszen az agrártudományok, azon belül a növényvédelem, szűkebb értelemben pedig a növénykórtan/kórélettan nemzetközi híré tudósát ismerte el ezzel a kitüntetéssel az Akadémia. Király Zoltán kutatóprofesszor a növénykórtan és a növényélet területén ért el kiemelkedő alap kutatási eredményeket, olyanokat, amelyeket sikeresen alkalmaznak a gyakorlati mezőgazdaságban, közelebről a rezisztencianemesítésben.

Király professzor nevéhez fűződik a növényi kórélettan tudományának világszintű megálmodása. Farkas Gáborral és Solymosi Ferencsel együtt a világon elsőként igazolta, hogy a fertőzött növény légzése, fenol-anyagcseréje és hormonháztartása összefügg a betegség-ellenállósággal. Kiemelkedő felismerései közé tartozik az arányos nitrogénellátás-betegségek kialakulásában játszott szerepének tisztázása: bizonyította, hogy a növények juvenilitásszintjének növelése fokozza a fiatal szövetek ellenálló képességét a kórokozókkal szemben. Később kimutatta, hogy a növényi rezisztenciával kapcsolatos hiperszenzitív reakció nem oka, hanem következménye az ellenálló képességnek. Legutóbbi kutatómunkájának legszebb eredménye-



ként bizonyította, hogy az ellenálló növényekben a képződő káros oxigén szabadgyökök és egyéb reaktív oxigénfajták képesek elpusztítani a kórokozókat. Erre a felismerésre alapozva új rezisztencianemesítési eljárást dolgozott ki.

Király Zoltán tudományos tevékenységét az amerikai Mezőgazdasági Minisztérium 1997-ben a „Szuperoxid-rezisztens növények nemesítése területén végzett munkásságát” oklevélben ismerte el. Amerikában kiadott, társzerzőkkel írt tankönyveit a világ számos neves egyetemén a doktori iskolák kötelező tankönyveként tartják számon. Pályafutását nagy hatású tudományos közlemények dicsérik, több tudományos dolgozatot közölt a legjelentősebb természettudományos folyóiratnak számító *Nature*-ben, de a növénykórtan és a növényi kórélettan vezető folyóirataiban is rendszeresen publikál. A hazai agráregyetemek diszdzektora, tanítványainak tekinthetők a növénykórtani, növényvédelmi tanzsékek professzorai, neveltjei ma is vezető tudományos és oktatói pozícióban dolgoznak, itthon és a nagyvilágban. Kiváló kapcsolatot alakított ki az egyiptomi kutatókkal, akik közül sokan az ő laboratóriumában szereztek tudományos fokozatot.

Barátai, kollégái és tanítványai nevében ezúton szívből gratulálok Király professzornak az Akadémiai Aranyéremmel történt kitüntetése alkalmából. Jó egészséget, munkájában örömet és további sikereket kívánva,

Balázs Ervin
az MTA r. tagja

AKADÉMIAI DÍJ 2010 KITÜNTETETTJE:

PALKOVICS LÁSZLÓ

Palkovics László 25 éve végez kutató- és oktatómunkát, melyet a Kertészeti Egyetemen kezdett, majd 14 évig a gödöllői Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont kutatója volt. Az utóbbi 6 évben a Corvinus Egyetem Növénykórtani Tanszékét vezeti. A Köztársasági elnök 2007-ben nevezte ki egyetemi tanárrá.

Kutatási területe és eredményei elsősorban a növényi virológiához, így a csonthéjas kultúrákban súlyos kárt okozó szilva himlő vírushoz, ill. a családhoz tartozó más vírusfajokhoz kapcsolódnak. Ezek az elméleti és gyakorlati eredmények a kórokozók jellemzésével, működésével, rekombinációs képességével, evolúciós változásaival, a kórokozók diagnosztikájával, a kórokozókkal szembeni rezisztencia kialakításával kapcsolatosak. Ezen a területen érte el nemzetközi elismertséget, melynek alapvető és jelentős visszhangot kapott eredménye a fertőzőképes szilva himlő vírus klón előállítására volt. A hazai flórából izolált SK68 jelű szilva himlő vírus elsődleges szerkezetének meghatározása további hozzájárulása volt a vírus molekuláris jellemzéséhez. E munka kötötte szoros együttműködésbe Európát vezető növényvirológusaival, a spanyol Juan Garcia, a német Edgar Maiss és a görög Mina Tsagrisszal. Palkovics László a potyvírusok nemzetközileg jegyzett kutatói között méltán képviseli a magyar növényvirológusokat.

A Növénykórtani Tanszék vezetési megbízásához kiválóan alkalmazkodva kutatási területét kiterjesztette a mikológia tudományterületére is. Mikológiai kutatásai során elsőként azonosította munkatársaival az Európában karantén kórokozó, *Monilinia fructicola* fajt import gyümölcsszállítmányokból, rámutatott a kórokozó elterjedésének veszélyére Magyarországon. Elsőként azonosított Európában egy másik fajt is, a *Monilia polystromát*, mely korábban a világon csak Japánban fordult elő. Az új fajok molekuláris biológiai jellemzése során fontos megállapításokat tett változékonyságukkal kapcsolatban. Bakteriológiához kapcsolódóan szintén olyan faj súlyos kártételét írta le, mely faj eddig csak a Közel-Keleten és Ázsiában fordult elő. Kutatási területéhez tartoznak a kórokozók elleni biológiai védekezés lehetőségeinek feltárása, valamint környezetkímélő növényvédelmi eljárások kidolgozása.



Az elmúlt hat évben tíz hallgatója szerepelt az Országos Tudományos Diákköri Konferencián, ahol több első, második, harmadik és különdíjakat szereztek. Egy hallgatója diplomamunkájával elnyerte a növényvédelem szakterületén a Német-Magyar DUG agrárkutatói díjat. Vezetése alatt a Tanszék infrastruktúráját, nemzetközi szintre emelte, ahol már nemzetközileg elismert publikációk és PhD dolgozatok születtek. Kutatómunkája elismeréseként a Magyar Tudományos Akadémia kétszer részesítette Bolyai János kutatási ösztöndíjban, eredményei alapján elnyerte a Kuratórium elismerő oklevelét, majd a Kuratórium Emlékplakettjét. 2006-ban habilitált és ugyanabban az évben elnyerte az MTA Doktora címet.

Palkovics László kiválóan ismerte fel, hogy a felsőoktatás egy szélesebb tudományterület művelését követeli meg, mely inspirálta, hogy kutatási érdeklődése ne csak szűken a növényvirológia területére koncentrálódjék, hanem kiterjessze azt más fontos növénykórokozókra. Ezt a törekvését is siker koronázta, amikor az előzőekben említett új *Monilia* fajok leírását és jellemzését végezte el. Szemléletére jellemző, hogy olyan egyetemi tanári habitust képvisel a tanszék szakmai, oktatói, kutatói munkájában, melynek következtében műhelyét a csonthéjasokat károsító kórokozók ma már nemzetközileg is elismert tanszékeként tartanak számon. Palkovics László eredményeinek egyik meghatározó eredője széles botanikai ismerete, s igen kiváló gyakorlati képessége a hagyományos kertészeti technikákban.

Palkovics László magas rangú akadémiai elismerése az Akadémiai Díj adományozásával méltó módon emlékezik meg 50. születésnapjáról, melyhez barátai, kollégái és tanítványai szívből gratulálnak, és kívánnak további szakmai sikereket és jó egészséget.

Balázs Ervin
az MTA r. tagja

**A NÖVÉNYI EREDET ÉLELMISZEREKBE ÉS TAKARMÁNYOKBAN ÉS A FELÜLETÜKÖN
MEGEGEDHETŐ NÖVÉNYVÉDŐSZER-MARADÉK MÉRTEKÉRŐL SZÓLÓ 396/2005/EK RENDELET
ELŐÍRÁSAINAK NEM MEGFELELŐ NÖVÉNYI TERMÉKEK
2010. január 19.**

Az 5/2002. (II. 22.) EüM-FVM együttes rendelet 2/A §-a alapján a megengedett határértéket meghaladó növényvédőszer-maradék, illetve termésnövelő anyagból származó toxikus anyagtartalom esetén a termelő, illetve az ellenőrzött személy nevének és székhelyének, valamint a mintavétel időpontjának, a növényi termék nevének és határérték feletti szermaradék-tartalmának megjelölésével a vizsgálati eredmények közzétételre kerülnek.

Termelő/származás	Forgalmazó	Mintavétel időpontja	Növény, növényi termék	Növényvédőszer-hatóanyag megnevezése	Határérték (mg/kg)	Mért szermaradék (mg/kg)
Univer – Product Termelő és Kereskedelmi Zrt. Kecskemét	Palóc Nagykereskedelmi Kft. Eger	2009.11.04.	bébiétel	kaptán	0,01	0,029 0,032 0,034
Univer – Product Termelő és Kereskedelmi Zrt. Kecskemét	Palóc Nagykereskedelmi Kft. Eger	2009.11.04.	bébiétel	kaptán	0,01	0,037 0,038 0,046
Egyiptom	Daltex Golden Pyramids Kft. Alsónémedi	2009.11.18. 2009.11.25.	paradicsom	oxamil	0,02	0,09 0,06
Egyiptom	Daltex Golden Pyramids Kft. Alsónémedi	2009.11.18. 2009.11.25.	szamóca	tiofanát-metil	0,10	0,32 0,22
Vadas Sándor Pocsaj		2009.10.20.	olajtökmag	aldrin és dieldrin (aldrin és dieldrin kombinálva, dieldrinben kifejezve)	0,02	0,076
Pusztavár Mezőgazdasági Termékelőállító, Feldolgozó és Szolgáltató Kft. Rimóc		2009.09.25.	olajtökmag	aldrin és dieldrin (aldrin és dieldrin kombinálva, dieldrinben kifejezve)	0,02	0,10
Dél-Afrika	AUCHAN Magyarország Kft. Budapest	2009.09.23.	grapefruit	tiabendazol	5,00	15,20
Dél-Afrika	Magyar Hipermarket Kft. Budakalász	2009.09.22.	narancs	protiofosz	0,01	0,04
Olaszország	AUCHAN Magyarország Kft. Budapest	2009.09.22.	csemege-szőlő	klórpírifosz	0,50	1,15

RÖVID ÖSSZEFOGLALÓ

az EU Élelmiszerlánc és Állategészségügyi Állandó Bizottság, Növényvédőszer-engedélyezés Jogszályalkotó Szekció 2010. január 21–22-i ülésén hozott döntésekről

A 91/414/EEC irányelv I. mellékletére felkerülő hatóanyagok:

Proquinazid • Spirodiklofen • Penoxsulam • Malation

Egyéb:

- Döntés született a fenpyrazamine, a tagetes oil és a thyme oil hatóanyagok engedélyezéséhez benyújtott dosszié teljességének az elfogadásáról.
- Döntés született a flonikamid, a silver thiosulphate és a tembotrion hatóanyagokat tartalmazó növényvédő szerek ideiglenes engedélyeinek meghosszabbításáról. Ennek értelmében a tagállamok további 24 hónappal meghosszabbíthatják az ilyen hatóanyagokat tartalmazó növényvédő szerek nemzeti ideiglenes engedélyeit.
- Módosításra került a 91/414/EGK irányelv a klotianidin, a tiametoxam, a fipronil és az imidakloprid hatóanyag vonatkozásában. A döntés az elfogadott módosító irányelvben foglalt határidőkkel az ezen hatóanyagokra vonatkozó engedélyezési és felhasználási feltételeket érintik, különös tekintettel a méhekkal kapcsolatos kockázatok csökkentését illetően.
- Módosításra került a 91/414/EGK irányelv a tolifluanid hatóanyag vonatkozásában. A döntés értelmében az elfogadott módosító irányelvben foglalt határidőkkel a tolifluanid hatóanyag törlésre kerül a pozitív listáról. Az ilyen hatóanyagot tartalmazó növényvédő szerek engedélyeit a tagállamok az előírt határidőig visszavonják.

Forrás: FVM honlapja

TÁJÉKOZTATÓ

az EU Élelmiszerlánc és Állategészségügyi Állandó Bizottság, Növényvédőszer-engedélyezés Jogszályalkotó Szekció 2010. március 11–12-i ülésén hozott döntésekről

A 91/414/EEC irányelv I. mellékletére felkerülő hatóanyagok:

flonikamid • triflumizol • metalaxil

Egyéb:

- Döntés született az 1–4 dimethylaphtalene és a cyflumetofen hatóanyagok engedélyezéséhez benyújtott dosszié teljességének az elfogadásáról.

Forrás: FVM – Élelmiszerlánc-felügyeleti Főosztály

Megjelent

a **30/2010. (III. 30.) FVM rendelet** a növény-egészségügyi feladatok végrehajtásának részletes szabályairól szóló **7/2001. (I. 17.) FVM rendelet módosításáról**, amely az alábbi **weboldalon** található:

<http://fvm.hu/main.php?folderID=957&articleID=15667&ctag=articlelist&iid=1>

TARTALOM

<i>Kiss György Botond: Köszöntő</i>	193
<i>Asbóth Bence: A Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont története</i>	198
<i>Ivanics Milán, Kis András, Tóth Gábor és Jenés Barnabás: Rozsdagombák (Puccinia spp.) elleni rezisztencia kialakításának lehetősége búzában transzgenikus technológiák alkalmazásával</i>	202
<i>Földi Tímea Júlia, Jeney Apor és Kiss György Botond: Rezsztenciát biztosító génekhez kapcsolódó molekuláris markerek fejlesztése paprikában</i>	209
<i>Salamon Pál, Várallyay Éva, Nemes Katalin és Salánki Katalin: Termesztett és vadon élő burgonyafélék vírusos betegségei és vírusai Magyarországon. 7. Az uborka mozaik vírus (Cucumber mosaic virus, CMV) fehér törzsének előfordulása dohányon (Nicotiana tabacum L.) és a CMV-Ntw izolátum tulajdonságai</i>	218
<i>Beczner Farkas, Antal Ferenc és Bánfalvi Zsófia: A burgonya Y vírus HC-Pro és a burgonya StubGAL83 fehérjéjének kapcsolata</i>	226
<i>Várallyay Éva, Vida Gyula, Giczey Gábor, Veisz Ottó, Burgyán József és Havelda Zoltán: Egyszerű festési eljárás egyszikűek lisztharmatfertőzésének megállapítására és alkalmazása búzafajták jellemzésére</i>	233
Krónika	
<i>Balázs Ervin: Jubileumi Ötvenedik Akadémiai Aranyérem 2010 tulajdonosa: Király Zoltán</i> ..	240
<i>Balázs Ervin: Akadémiai Díj 2010 kitüntettje: Palkovics László</i>	241

TABLE OF CONTENTS

<i>Kiss, Gy. B.: Congratulations!</i>	193
<i>Asbóth, B.: The history of the Agricultural Biotechnology Center</i>	198
<i>Ivanics, M., A. Kis, G. Tóth and B. Jenés: Possibilities to develop resistance against rust species (Puccinia spp.) in wheat using transgenic technologies</i>	202
<i>Földi, Tímea Júlia, A. Jeney and Gy. B. Kiss: Identification of molecular markers linked to disease resistance genes in pepper (Capsicum annuum L.)</i>	209
<i>Salamon, P., Éva Várallyay, Katalin Nemes and Katalin Salánki: Virus diseases and viruses of cultivated and wild-growing solanaceous plants in Hungary. 7. Natural infection of tobacco (Nicotiana tabacum L.) with a white strain of Cucumber mosaic virus (CMV) and some properties of CMV-Ntw</i>	218
<i>Beczner, F., F. Antal and Zsófia Bánfalvi: Interaction between the HC-Pro protein of potato virus Y and the StubGAL83 protein of potato</i>	226
<i>Várallyay, Éva, Gy. Vida, G. Giczey, O. Veisz, J. Burgyán and Z. Havelda: Simple and rapid assay for determination of sensitivity of monocotyledonous plants to powdery mildew infection and usage of the method for characterization of Martonvásár traits</i>	233
Chronicle	
<i>Balázs, E.: Winning the 50th Jubilee Gold medal of the Hungarian Academy of Sciences in 2010: Zoltán Király</i>	240
<i>Balázs, E.: Winner of Academic award in 2010: László Palkovics</i>	241

Rancona®

15 ME



Új mikroemulziós gombaölő csávázószer




További információért szíveskedjen a Chemtura Europe Ltd.
Magyarországi Fióktelepének helyi munkatársaihoz fordulni:

dr. Dienes Judit	Északkelet-Magyarország	(30) 9423 - 496
Weszp Mihály	Kelet-Magyarország	(30) 9325 - 444
Varga Sándor	Délkelet-Magyarország	(30) 9325 - 555
Véglesi János	Északnyugat-Magyarország	(30) 9345 - 196
Szilvágyi Erzsébet	Nyugat-Magyarország	(30) 4747 - 457
Somogyvári László	Délnyugat-Magyarország	(30) 9367 - 763

 **Chemtura**
AGROSOLUTIONS™

Web: www.chemtura.hu
E-mail: info@chemtura.hu



Többet
szeretnék

...mert a többlet eredmények vonzzák az újabb lehetőségeket.

A PICTOR hozzásegít a sikerhez, mert nemcsak kiemelkedően védi repcémét, napraforgómat a gombabetegségektől, hanem extra élet-tani és termésnövelő hatásának köszönhetően többre is képes, így használatával akár saját elvárásaimon felül is teljesíthetek.