

Fitoalexinek mint növényi antimikrobiális vegyületek és a növényi betegség-ellenállóság

Phytoalexins as anti-microbial compounds associated with the disease resistance response of plants

Érsek Tibor

Nyugat-magyarországi Egyetem, Mezőgazdasági és Élelmiszer-tudományi Kar, Növényvédelmi Tanszék, 9200 Mosonmagyaróvár, Vár 2.

Összefoglalás

A fitoalexin-kutatás mintegy hat évtizedes története a másodlagos anyagcsere és a génreguláció területén produkált eredményeivel alapvető és hasznos ismeretekkel gazdagította a növényi biokémiát, valamint a molekuláris biológiát növényi és mikrobiális szinten egyaránt. Növénykórtani szempontból azonban sokkal fontosabb az, hogy új és meglepő összefüggéseket tárt fel a növények és kórokozóik kapcsolatában, egynémely esetben molekuláris biológiai bizonyítékát adva Flor „gén a génnel szemben” elméletének. Azonban az eredeti kérdést, nevezetesen azt, hogy a fitoalexinek valóban a növényi rezisztencia aktív részesei vagy annak velejárói csupán, a széles körű vizsgálatok ellenére sem sikerült egyértelműen tisztázni az elmúlt hatvan év alatt.

A növénykórtan egyik alapvető kérdése: miben rejlik a növényi betegség-ellenállóság (rezisztencia)? Hogyan lehetséges az, hogy egy kórokozó faj vagy annak bizonyos rassza az esetek többségében csak egy, esetleg néhány növényfajt vagy – a fajon belül – néhány fajtát képes betegíteni? Megfordítva: mi lehet az oka annak, hogy egyes növények (faj, fajta) ellenállóak bizonyos – potenciálisan növénypatogén – mikroorganizmusokkal szemben, mások viszont fogékonyak?

Az a tapasztalati tény, hogy a növények környezetében lévő számtalan mikroorganizmus közül csupán néhány képes fertőzni és még kevesebb megbetegíteni az illető növényfajt vagy -fajta, arra az általános következtetésre vezetett, hogy a növények valamilyen módon képesek meggátolni egyes kórokozók elterjedését szöveteikben, végső soron

Érsek, T.

University of West Hungary, Faculty of Agricultural and Food Sciences, Department of Plant Protection, H-9200 Mosonmagyaróvár, Vár 2, Hungary

Summary

Results achieved in secondary metabolism and gene regulation during the nearly six century long history of phytoalexin research have enriched plant biochemistry, as well as plant and microbial molecular biology with fundamental and advantageous information. An even more important consideration from the aspect of plant pathology is that they have unrevealed novel and surprising processes within the plant-pathogen interactions, in given cases providing molecular biological evidence for the Flor's gene-for-gene theory. Nonetheless, the original question, whether phytoalexins are indeed active participants or consequence of plant resistance has not been answered, in spite of the wide range exploration, during the last sixty years.

ellenállni a betegségnek. Biotróf (obligát) paraziták tanulmányozása alapján sokáig úgy vélték, hogy a növényben a fertőzési pont körül gyorsan nekrotizálódott (elhalt) szövet lokalizálja a csak élő közegben fejlődni képes kórokozót, vagyis hogy a fertőzés által kiváltott növényi sejthalál az (egyik, talán legfőbb) oka a rezisztenciának mind nem gazdában (általános rezisztencia), mind a gazdanövény egy rezisztens fajtájában (vertikális vagy rasszspecifikus rezisztencia). Amikor kiderült, hogy az elhalt szövetben is fejlődni képes nekrotróf (fakultatív) paraziták éppúgy gyors nekrotizálódást indukálhatnak, és a rezisztens növény elhalt szöveteiben éppúgy gátlódnak, mint a biotrófok, logikusnak látszott az a feltételezés, hogy a nekrotizálódást kísérő anyagcsere-változások – vagyis tágabb értelemben az ún. hiperszenzitív reakció (HR) – során

olyan kémiai anyagok keletkeznek, amelyek antimikrobiális hatásukkal leállítják a szövetbe hatoló kórokozó további fejlődését, esetleg elpusztítják azt, mielőtt betegséget okozna [1,2]. Ez a feltételezés vezetett az ún. fitoalexin-teória kifejtéséhez, és nyitott teret a rezisztens növény gyors fertőzési válasza során végbemenő biokémia folyamatok intenzív kutatásának.

A fitoalexin-elmélet

Müller és Börger [3] ma már klasszikusnak számító munkájuk során – lényegében a szerzett rezisztencia jelensége kapcsán – azt tapasztalták, hogy ha egy burgonyafajta gumószeletét előfertőzik a *Phytophthora infestans* egy olyan rasszával, amelyre az adott fajta (rasszspecifikusan) rezisztens, akkor a HR-rel reagáló gumószövet feltételezhetően antimikrobiális vegyületek, az ún. fitoalexinek termelése révén gátolja meg egy következő, olyan rasszal való fertőzés kiteljesedését, amelyre a burgonyafajta eredetileg fogékony. Később Müller az 1950-es évek végén arra a megállapításra jutott, hogy az általános (a nem gazda) rezisztencia is a fitoalexineknek tulajdonítható.

A mülleri fitoalexin-teória alapján kimondható, hogy a fitoalexinek (FA-ek) olyan kis (százas nagyságrendbeli) molekulatömegű vegyületek, amelyek a növény és kórokozó kölcsönhatásának eredményeként termelődnek a rezisztens növényi sejtek nekrobiózisa (HR-ja) során, és amelyek antimikrobiális hatásukkal gátat szabnak egy második fertőzés vagy a közvetlenül támadó gomba elterjedésének [4–12]. Néhány korai munka alapján egyértelművé vált, hogy a FA-ek egészséges növényben nem mutathatók ki, felhalmozódásukat pedig nemcsak gombás, hanem baktériumos és vírusos fertőzések is kiváltják a kórokozóra rezisztens növényben (inkompatibilis kapcsolatban). Nemcsak gombagátló (antifungális), hanem antibakteriális hatásuk is van, vírusokkal szemben azonban az eddigi adatok alap-

ján hatástalanok. Így a FA-ek elvileg meghatározó tényezői lehetnek a növényi betegség-ellenállóságnak, legalábbis gombákkal és baktériumokkal szemben. Az eredeti koncepciónak ellentmondó eredmények okán azonban hamar felmerült a FA-teória revíziójának szükségessége, vagyis annak megállapítása, hogy valóban rezisztenciátényező-e a FA, vagy csupán a rezisztenciát kísérő jelenségek egyike.

Általános jelenség-e a FA-termelés?

Egy izoflavon típusú vegyület, a borsóból származó pizatin volt az első FA, amelyet szerkezetileg azonosítottak, 1960-ban. Ezt követően került sor a bab egyik fitoalexinjének, a szintén izoflavon típusú fazeolinnak, majd rokon vegyületeinek, valamint a burgonya (először a „Rishiri” fajta) gumójában termelődő szeszkviterpén, a risitin kémiai meghatározására. A legkülönbözőbb növénycsoportok – elsősorban a zárwatermők és főleg a kétszikűek – több száz fajából izolált vegyületek száma száz-as nagyságrendű. Rokon növények általában azonos típusú vegyülete(ke)t termelnek. Így például a *Leguminosae*-ben az izoflavon FA-ek, a *Solanaceae*-ben a szeszkviterpének, a *Malvaceae*-ben a naftaldehidek, a *Compositae*-ben a poliacetilének, a *Convolvulaceae*-ben a furanoterpének, az *Orchidaceae*-ben a fenantrének a jellemzőek. Ennek alapján a FA-ek felhasználhatók kemotaxonómiai összefüggések tanulmányozására.

Nemcsak fertőzés, hanem a mikroorganizmusok bizonyos anyagcseretermékei és/vagy szerkezeti anyagai (szénhidrátok, fehérjék, lipidek) mint ún. biotikus elicitorok szintén indukálhatnak FA-t az élő kórokozóra fogékony és rezisztens növényben egyaránt. Hasonlóképpen aspecifikusak egyes mechanikai és kémiai stimulusok, az ún. abiotikus elicitorok. Mindez arra utal, hogy a FA-termelés több-kevésbé általános növényi válasz, de az, hogy az esetek többségében inkább a rezisztens növény fer-



Érsek Tibor, a biológiai tudomány doktora 1978 óta. Szakterülete a növényvédelem és növénykórtan, ezen belül a *Phytophthora*-fajok intra- és interspecifikus változékonysága. 1970 és 2007 között az MTA Növényvédelmi Kutatóintézetének munkatársa, ahol 1995-től 2005-ig óta a Növénykórtani Osztály tudományos osztályvezetője volt. 2007 óta egyetemi tanár a Nyugat-magyarországi Egyetem, Mezőgazdaság- és Élelmiszer-tudományi Karán. Az *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica* és a *Plant Protection Science* (CZ) szerkesztőbizottságának tagja, 2000-ben a Magyar Agrártudományi Egyesület (MAE) Növényvédelmi Társaság Linhart György Emlékérem kitüntetettje. Ez a közlemény a közelmúltban könyvfejezetként megjelent összefoglalójának [12] rövidített változata.

tőzési reakciója, mint a fogékonyé, felveti a specifikusság kérdését: milyen specifikus mechanizmus húzódik meg a háttérben?

Fitoalexinek és az általános rezisztencia

Az általános rezisztencia, vagyis egy növényfajnak más növényfajokra specializálódott kórokozókkal szembeni ellenállósága gyakran gyors FA-akkumulációval járó HR-ban fejeződik ki, miután a potenciális kórokozó fertőzi (de nem betegíti meg) a számára idegen növényt. De vajon van-e ok-okozati összefüggés a FA-termelés és a rezisztencia e típusa között? Előfordul ugyanis, hogy egy kórokozó a saját gazdanövényében (tehát fogékonyág esetén) legalább olyan gyors és nagymértékű FA-akkumulációt indukál, mint az illető növényfajra nem patogén mikroorganizmus. Feltételezték, és később bizonyították is, hogy ilyenkor a patogén azért képes betegséget kiváltani, mert kevésbé érzékeny (toleránsabb) az általa indukált FA-nel szemben, mint az adott fajon HR-t okozó, nem patogén mikroorganizmus. A FA-tolerancia tehát a kórokozónak az a képessége, amellyel az általa indukált FA feltételezett *in planta* gátló hatását leküzdi, megkönnyítve ezáltal saját elterjedését a növényben. Ezzel szemben a rezisztencia a kórokozó fokozott FA-érzékenységének tulajdonított. Az *Ascochyta pisi* és a szintén borsópatogén *Fusarium solani* f. sp. *pisi* (teleomorf: *Nectria haematococca*) toleranciáját az amerikai VanEtten és kutatócsoportja [13] annak tulajdonította, hogy *in vitro* mindkettő képes a pizatint demetilálással számára kevésbé toxikus vegyületté alakítani. Amikor az utóbbi gomba pizatin demetiláz enzimjének génjét (*pda*) sikerült klónozni, kiderült, hogy több ilyen gén is van a genomban. Valamennyit a pizatin indukálja, de eltérő hatékonysággal; azok a legagresszívebb törzsek, amelyekben az indukció gyorsan végbemegy, és az enzimaktivitás is nagy. Szenzációként hatott, hogy a *pda* gén olyan minikromoszómán helyezkedik el, amely egyes törzsekben hiányzik és az ilyen törzsek nem is okoznak betegséget. Némiképp csodálatos jelentett az a későbbi megállapítás, amely szerint a FA illetően lebontásának képessége nem elengedhetetlen, csupán hasznos fegyvere a kórokozónak, mert az a demetilázaktivitás híján is képes betegséget kiváltani – a pizatinakkumuláció ellenére. Mi több, egy másik borsópatogén gomba, az *Aphanomyces euteiches* szintén gyors és nagy mennyiségű

FA-t indukál gazdanövényében (tehát kompatibilis kapcsolatban), de annak ellenére, hogy *in vitro* igen érzékeny a FA-re, és hatástalanítani sem képes azt, gyorsan terjedve súlyos betegségtünetet okoz a borsón. A tolerancia mechanizmusa a növény–baktérium kapcsolatokban nem ismert, és a fajta–rassz kölcsönhatásokban sem működik. Mindez arra utal – jóllehet a FA-közömbösítésnek egyéb, eddig felátíratlan módjai is lehetnek –, hogy legalábbis a pizatin demetiláz inkább agresszivitás-, mintsem patogénitási faktor. Más szóval: a FA-ek fontosnak tűnő, de semmi esetre sem elsődleges tényezői az általános rezisztenciának.

Fitoalexinek és a rasszspecifikus rezisztencia

A FA-akkumuláció hiánya fogékonyághoz vezet

Számos kísérlet igazolja, hogy a FA-felhalmozódás gátlásával a kórokozófaj egyes rasszaira genetikailag rezisztens növényfajta fogékonyá válnak. Már-már klasszikusnak mondható kísérletében Chamberlain és Paxton [14] kimutatta, hogy ha a *Phytophthora megasperma* f. sp. *glycinea* (szinonimája: *P. sojae*) megfelelő rasszával fertőzött rezisztens szója fajta szárából egy vékony pamutfonallal elvezetik a keletkezett FA-eket, akkor a növény fogékonyá válik a fertőző kórokozóra. Ha pedig a fonalat egy, az adott rasszra fogékony növény szárába átvezetik, abban FA mutatható ki, és rezisztenssé válik. Szépséghibája ennek a munkának az, hogy nem tudjuk, hogy a FA-eken kívül milyen más, a rezisztencia szempontjából esetleg fontos vegyületek mobilizálódnak.

Általános fehérjeszintézis-gátlókkal (aktinomicin, blaszticidin) vagy specifikusabb inhibitorokkal – mint a flavon típusú FA-ek bioszintézisében is kulcsszerepet játszó fenil-alanin-ammonia liáz (PAL) enzimnek a kompetitív inhibitorai (például az amino-oxiacetát) – egyaránt gátolható a FA-akkumuláció [15] inkompatibilis kölcsönhatásokban, amellyel összhangban vagy amelynek eredményeként a kórokozó gomba, illetve baktérium terjedésének (szaporodásának) a gátoltsága feloldódik, és betegségtünet jön létre az eredetileg rezisztens növényben. Az ilyen vizsgálatoknak – bár félreérthetetlenül bizonyítják a FA-ek *de novo* szintézisét – megvan az a szépséghibájuk, hogy nem elég specifikusak, azaz nem a terminális FA-szinté-

zist befolyásolják. Még a PAL specifikus inhibitorai is a fehérjeszintézisben központi helyet betöltő fenil-alanin-készletet módosítják, vagyis lényegében a fehérjeszintézisbe avatkoznak. Ezért igen fontos, de nem könnyű feladat a terminális FA-szintézisben részt vevő enzimek szerepének vizsgálata. Bár a különböző típusú vegyületek eltérő bioszintézis-útjai elég régóta ismertek [15], sokáig szinte semmit nem tudtunk az e folyamatokban részt vevő enzimek jellegéről. A sikimisav-, az acetát-malonát- és az acetát-mevalonát-reakcióutakon keresztül keletkező gliceolin mint a szója fő FA-je általános szintézisének kezdeti szakaszában működő PAL (a fenil-alanint mint az egyetlen lehetséges prekursor deaminálja) mellett egy olyan enzim, a prenil transferáz létét is bizonyították [16], amely a terminális szintézisben működik. Elicitorral kezelt szójaszikklevél sejtmentes kivonatában ez az enzim a trihidroxipterokarpánt prenilálja egy olyan származékká, amely a gliceolin közvetlen prekursorának tekinthető.

A gomba gátlása fogékony növényben FA-akkumulációt eredményez

A FA-eknek a vertikális rezisztenciában feltételezett elsődleges szerepét – ezzel a FA-teória érvényességét – magyar kutatók kérdőjelezték meg először. Király et al. [17] kimutatták, hogy az inkompatibilis burgonya-*Phytophthora infestans* kölcsönhatásra (is) jellemző szöveti nekrotizálódás, illetve a szeszkviterpén FA-ek (risitin és rokon vegyületei) akkumulációja kiváltható fogékony gumószeletekben is, ha a növényi szövetbe hatoló kórokozó valamilyen módon gátolt vagy károsított. Az ultrahanggal roncsolt micélium kivonatával való kezelés vagy a genetikailag kompatibilis kölcsönhatást eredményező fertőzéssel egy időben (esetleg néhány órával később) végrehajtott antibiotikumos (például klóramfenikolos) kezelés egyaránt rezisztenciaválaszt (hiperszenzitív nekrosis, FA) indukált. Az antibiotikum a kórokozónak a fogékony gumószövetbe való penetrációját nem akadályozta meg, csupán miceliális növekedését (a kolonizációt) gátolta. Ebből arra következtettek, hogy egy genetikailag meghatározott inkompatibilis kapcsolatban is a kórokozónak először – egy ismeretlen, specifikus (később felismerési reakcióként aposztrofált) mechanizmus révén – szintén gátlódnia és/vagy károsodnia kell ahhoz, hogy az ily módon

felszabaduló anyagai (elicitorai) kiválthassák a növényi sejtek HR-jét, a FA-termelést is beleértve. Mindezek alapján kimondták, hogy a hiperszenzitivitás (nekrosis, FA) nem oka, hanem következménye a rezisztenciának. Azt azonban e munka alapján és a későbbi kutatások ismeretében nem lehet kizárni, hogy a FA-ek – mintegy végső döfés-ként – hozzájárulnak a felismerés következtében már meggyengített (károsított) kórokozó teljes gátlásához (elpusztításához).

Specifikus vagy aspecifikus elicitorok?

A kórokozók elicitorainak (vagyis hiperszenzitív típusú nekrosis és vele általában összefüggő FA-felhalmozódás indukálására képes kémiai anyagainak) sokszor ellentmondásokkal terhelt vizsgálata két lehetőséget vetett fel. Az egyik – régebbi – elgondolás szerint a kórokozó különböző rasszainak azonos, nem specifikus elicitorai vannak. Ezek inkompatibilis kapcsolatban a kórokozó kezdeti károsodását kiváltó specifikus felismerési reakció során szabadulhatnak ki, és aspecifikusan indukálják a szöveti nekrotizációt, illetve a FA-termelést. E tekintetben nyitott marad a kérdés: milyen specifikus mechanizmus rejtőzködik a hipotetikus felismerési reakció mögött? Az újabb keletű felfogás értelmében a kórokozónak az aspecifikus mellett specifikus elicitorai is vannak. Ez utóbbiak mint domináns avirulenciagének (közvetlen vagy közvetett) termékei csak az adott kórokozóra rezisztens növényfajtában működnek – Flor „gén a génnel szemben” (*gene-for-gene*) modellje [18] alapján – azáltal, hogy kölcsönhatásba lépnek a növény domináns rezisztenciagénjének termékével mint receptorral. Ennek a kölcsönhatásnak az eredménye: specifikus FA-indukció, amelyet később az aspecifikus követ(het). Ennek az elképzelésnek az alapján a felismerésért és a HR- (nekrosis-, illetve FA-) indukcióért ugyanazok a kémiai anyagok felelősek. Egyes vélemények szerint az aspecifikus elicitorok szerepe másodlagos, és egy általános rezisztenciaválaszt indukálnak.

Meglehetősen kevés a specifikus elicitorok létreutaló adat. A szója szikklevelében sebzés (egyébként maga a fertőzés is egyfajta sebzésként fogható fel) hatására aktiválódó endoglükánáz enzim a *Phytophthora sojae* sejtfalából glükomannánt szabadít ki, amely rasszspecifikus elicitoroként funkcionál, vagyis csak azokban a szójafajtákban indukál

FA-termelést, amelyek rezisztensek a kórokozó ama rasszára, amelyből az elicitor származik [19]. Az idézett munkából az a következtetés vonható le – jöllehet a szerzők ezt nem tették –, hogy a kórokozó sejtfalának mintegy károsodásként elkönnyelhető szerkezeti átalakulása (az elicitor kiszabadulása) előfeltétele a FA-felhalmozódásnak.

A DeWitt vezette holland kutatócsoportnak az 1980-as évek elejétől elért eredményei igen meggyőzőnek tűnnek a HR (valójában csak a hiperszenzitív típusú nekrosis, de nem a FA) indukciójának specifikusságával kapcsolatban [20]. Vizsgálataik a paradicsompatogén *Fulvia fulva* (szinonimája: *Cladosporium fulvum*) gombát célozzák, amely a paradicsomlevél sejt közötti járatait kolonizálja. A gombának a *Cf9* rezisztenciagént (amelyet azonosítottak és klónoztak) tartalmazó paradicsomfajtán HR-t okozó ama rasszai, amelyekben a „gén a génnel szemben” elmélet alapján feltételezett *avr9* avirulenciagén jelen van, specifikus elicitorhatást fejtenek ki. Megjegyzendő azonban, hogy ez az elicitorhatás csak a hiperszenzitív nekrosis indukciójával kapcsolatos, FA-termelés a paradicsomban nem mutatható ki!) Az aktivitás csak a *Cf9* gént hordozó fajtákban vált ki HR-t, azaz rasszspecifikus. Nem izolálható az elicitor sem a gomba tenyésztésűrlétéből, sem a fertőzött rezisztens fajtákból. Kinyerhető azonban a fogékony fajták fertőzött leveleinek sejt közötti járataiból abban az esetben, ha a fertőző rassz valamilyen kombinációban tartalmaz funkcionális *avr9* gént. Ez azt jelenti, hogy egyfelől a gombának föl kell szaporodnia (a növényben!) ahhoz, hogy kimutatható mennyiségű elicitor termeljen, másfelől pedig elicitorhatásának kifejtéséhez szükséges a megfelelő rezisztenciagén specifikus produktuma (receptora).

A fertőzött és az adott rasszra fogékony paradicsomlevelek intercelluláris folyadékának kémiai elemzéséből kiderült, hogy az elicitor egy 28 aminosavból álló, ciszteinben gazdag peptid, amely az *avr9* gén közvetlen terméke, s jelen van mindazokban a rasszokban, amelyek tartalmaznak funkcionális *avr9* gént. Az elicitorgén legalább egy kópiáját felvett (eredetileg virulens) transzformánsok avirulenssé váltak (HR-t okoztak) a *Cf9* paradicsomgenotípusban. Viszont ha folyamatosságában (diszrupcióval) megszakították az *avr9* gént, akkor az ilyen törzs nem termelt elicitor, és virulenssé változott a *Cf9* fajtán. A kórokozó más rasszaiban is ta-

láltak ciszteinben gazdag, specifikus elicitorokat és az azokat kódoló avirulenciagéneket mint például az *avr4* gént, amely a *Cf4* rezisztenciagént hordozó paradicsomfajták HR-jának indukálásáért felelős. Úgy tűnik, az egyes avirulenciagének szekvenciája mindössze egyetlen, bár különböző helyen fellépő, de mindig a ciszteinkodont érintő pontmutációban különbözik egymástól, amikor is a TGT ciszteinkodon a TAT tirozinkodonra módosul. Mivel a cisztein meghatározó szerepet játszik a fehérjék másodlagos és harmadlagos szerkezetének kialakításában, már ez a kis módosulás elég ahhoz, hogy a gazdanövény elicitorspecifikus receptorai ne ismerjék fel az adott elicitor, vagyis hogy ne alakuljon ki HR. Ezek az eredmények egyértelműen igazolják – legalábbis ebben a növény–parazita kapcsolatban –, hogy (a) az avirulenciagén és a rezisztenciagén termékeinek kölcsönhatása határozza meg a rasszspecifikus rezisztencia kialakulását a „gén a génnel szemben” modellnek megfelelően; (b) az elicitor az avirulenciagén közvetlen transzlációs terméke, amely fogékony növényben is termelődik (tehát anélkül, hogy a gomba előzőleg károsodna), de abban specifikus receptor hiányában nem képes HR-t indukálni.

Specifikus elicitorokat és/vagy azok avirulenciagénjeit (*avr*) sikerült kimutatni néhány más gombában és egyes baktériumokban, jöllehet az elicitor nem minden esetben bizonyult közvetlen génterméknek, illetve volt olyan, hogy az *avr* gént izolálták, de a közvetlen vagy közvetett génterméket (specifikus elicitor) nem. Az első bakteriális *avr* gént a szóját betegítő *Pseudomonas syringae* pv. *glycineaból* izolálták [21]. Találtak egy olyan klónt, amely más rasszok virulenciáját az adott szójafajtán avirulenssé változtatta. Az *avr* gén közvetlen (fehérje-) terméke azonban a várttal ellentétben nem működött elicitorként. A *P. syringae* paradicsompatogén változatából (pv. *tomato*) klónozott *avrD* gén közvetlen termékének szintén nincs elicitoraktivitása. Mindkét esetben közvetett elicitorhatást feltételeznek.

A sokszor csak egynéhány sejtre terjedő, ezért szabad szemmel nem látható HR során a szokásos kivonási eljárásokkal nem mutatható ki FA. Sajátos mikroszkópos és festési módszerek alkalmazásával viszont bizonyítható, hogy – például a *Peronospora manshurica*val fertőzött rezisztens szójalevélben – közvetlenül a gomba penetrációs helye körül elhaló

néhány növényi sejtben a szója izoflavon típusú FA-jeire (gliceolin és rokon vegyületei) jellemző autofluoreszcenciájú anyag akkumulálódik mintegy 10 órán belül. Fogékony növényben ezzel szemben csak több nap múlva észlelhető igen kis mértékű felhalmozódás [22].

Molekuláris módszerek a fitoalexinek szerepének vizsgálatában

A FA-eknek a rezisztencia jelenségével való kapcsolata (ok vagy korrelatív esemény) igazolására ígéretesnek tűnő lehetőség olyan transzgenikus vagy bioszintézis-mutáns növények előállítása, amelyek elvesztették FA-termelő képességüket. Ma már több, a terminális FA-szintézisben részt vevő (tehát specifikus) enzim ismert, mint például a *Solanaceae* családra jellemző szeszkviterpén cikláz, vagy egy metil transzferáz, mely a borsó izoflavon FA-je, a pizatin szintézisének végső lépését végzi. Ezeknek az enzimeknek a specifikus gátlásával, illetve – mivel a kódoló géneket már klónozták is – génjeik diszruptiót követő átültetésével közelebb juthatunk a megoldáshoz.

Az egyetlen növény az *Arabidopsis thaliana*, amelynek sikerült eddig FA-képzésre képtelen (FA-deficiens) mutánsait előállítani [23]. Ez a rövid tenyészidejű és viszonylag kis genomú, ezért a genomkutatásokban kedvelt modellnövény a kamalexin (kéntartalmú indolvegyület) nevű FA-t termeli. Kamalexin-deficiens mutánsaival végzett vizsgálatok némi csalódást keltettek, mert egyes mutásokban – bár nem termelődött FA – az indukáló (inkompatibilis) kórokozó nem növekedett jobban, mint az eredeti, FA-képzésre képes növényekben. Ezek a vizsgálatok egyelőre sugallják, hogy a FA-ek semmiképp nem kizárólagos meghatározói az ún. öröklött rezisztenciának.

Az utóbbi évek genomkutatásainak köszönhetően néhány növényből (például az *Arabidopsis*-ból, rizsből stb.) sikerült rezisztenciagéneket klónozni és kimutatni, hogy ezek más növénybe átvive is működőképesek. Egyelőre az alap kutatás szintjén, de szintén ígéretesnek tűnnek azok a próbálkozások, amelyek a kórokozók elicitortermelésért felelős avirulenciagénjeit építik be azoknak a növényeknek a genomjába, amelyek hordozzák az elicitornak megfelelő rezisztenciagént [24,25]. A cél az, hogy védekezési gének promótereivel úgy szabá-

lyozzák az avirulenciagént, hogy az csak fertőzéskor (HR) fejeződjék ki.

Irodalomjegyzék

- [1] Dixon, R. A., Lamb, C. J. (1990) Molecular communication in interactions between plants and microbial pathogens. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **41**: 339–367.
- [2] Baker, B., Zambryski, P., Staskawicz, B., Dinesh-Kumar, S. P. (1997) Signaling in plant-microbe interactions. *Science*, **276**: 726–733.
- [3] Müller, K. O., Börger, H. (1941) Experimentelle Untersuchungen über die *Phytophthora*-Resistenz der Kartoffel. *Arb. Biol. Anst. Reichsanst. (Berlin-Dahlem)*, **23**: 189–231.
- [4] Cruickshank, I. A. M. (1963) Phytoalexins. *Annu. Rev. Phytopathol.*, **1**: 351–374.
- [5] Bailey, J. A., Mansfield, J. W. (Eds.) (1982) Phytoalexins. Blackie and Sons, Glasgow.
- [6] Deverall, B. J. (1976) Current perspectives in research on phytoalexins. In: *Biochemical Aspects of Plant Parasite Relationships* (Friend, J., Threlfall, D. R., Eds.) *Phytochem. Soc. Symp. Series*, No. 13 Acad. Press, London–New York–San Francisco, pp. 207–223.
- [7] Gross, D. (1977) Phytoalexine und verwandte Pflanzenstoffe. In: *Progress in Chemistry of Organic Natural Products 34* (Herz, W., Grisebach, H., Kirby, G. W., Eds.) Springer-Verlag, Wien–New York, pp. 187–247.
- [8] Darwill, A. G., Albersheim, P. (1984) Phytoalexins and their elicitors – A defense against microbial infection in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, **35**: 243–275.
- [9] Kuæ, J. (1985) Phytoalexins. *Arch. Biochem. Biophys.*, **236**: 455–472.
- [10] Érsek, T., Király Z. (1986) Phytoalexins: Warding-off compounds in plants? *Physiol. Plantarum*, **68**: 343–346.
- [11] Hammerschmidt, R. (1999) Phytoalexins: What have we learned after 60 years? *Annu. Rev. Phytopathol.*, **37**: 285–306.
- [12] Érsek T. (2007) Fitoalexinek: antimikrobiális vegyületek a növény fertőzés indukálta rezisztenciaválaszában. In: *Molekuláris növénykórtan* (Gáborjáni, R., Király, Z., szerk.) Agroiinform Kiadó, Budapest, pp. 292–304.
- [13] VanEtten, H. D., Matthews, D. E., Matthews, P. S. (1989) Phytoalexin detoxification: importance for pathogenicity and practical implications. *Annu. Rev. Phytopathol.*, **27**: 143–164.
- [14] Chamberlain, D. W., Paxton, J. D. (1968) Protection of soybean plants by phytoalexins. *Phytopathol.*, **58**: 1349–1350.
- [15] Ebel, J. (1986) Phytoalexin synthesis: the biochemical analysis of the induction process. *Annu. Rev. Phytopathol.*, **24**: 235–264.
- [16] Zähringer, U., Ebel, J., Mulheim, L. J., Lyne, R. L., Griesbach, H. (1979) Induction of phytoalexin synthesis in soybean. Dimethylallylpyrophosphate: trihydroxyterocarpan dimethylallyl transferase from elicitor-induced cotyledons. *FEBS Lett.*, **101**: 90–92.
- [17] Király, Z., Barna, B., Érsek T. (1972) Hypersensitivity as a consequence, not the cause, of plant resistance to infection. *Nature*, **239**: 456–458.
- [18] Flor, H. H. (1942) Inheritance of pathogenicity in *Melampsora lini*. *Phytopathol.*, **32**: 653–669.
- [19] Keen, N. T., Yoshikawa, M., Wang, M. C. (1983) Phytoalexin elicitor activity of carbohydrates from *Phytophthora megasperma* f. sp. *glycinea*. *Physiol. Plant Pathol.*, **21**: 65–70.
- [20] DeWitt, P. J. G. M. (1995) Fungal avirulence genes and plant resistance genes: unraveling the molecular basis of gene-for-gene interactions. *Adv. Bot. Res.*, **21**: 147–185.
- [21] Staskawicz, B. J., Dahlbeck, D., Keen, N. T. (1984) Cloned avirulence gene of *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* determines race-specific incompatibility on *Glycine max* (L.) Merr. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **81**: 6024–6028.
- [22] Érsek, T., Holliday, M., Keen, N. T. (1982) Association of hypersensitive host cell death and autofluorescence with a gene for resistance to *Peronospora manshurica* in soybean. *Phytopathol.*, **72**: 628–631.
- [23] Glazebrook, J., Ausubel, F. M. (1994) Isolation of phytoalexin-deficient mutants of *Arabidopsis thaliana* and characterization of their interactions with bacterial pathogens. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **91**: 8955–8959.
- [24] Dixon, R. A., Lamb, C. J., Masoud, S., Sewalt, W. J. H., Paiva, N. L. (1996) Metabolic engineering: prospects for crop improvement through the genetic manipulation of phenylpropanoid biosynthesis and defense responses – a review. *Gene*, **179**: 61–71.
- [25] Mourgues, F., Brisset, M.-N., Chevreau, E. (1998) Strategies to improve plant resistance to bacterial diseases through genetic engineering. *Trends Biotech.*, **16**: 203–210.