

SZEMLE

Review

Víruseredetű köpenyfehérjének által közvetített rezisztencia transzgenikus növényekben

I. Helyzetkép az ezredfordulón

JÓZSA RITA–BALÁZS ERVIN
Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont,
Gödöllő

Összefoglaló

A növénytermesztésben jelentős mértékű károkat okozó növényi vírusok elleni védekezésben a leghatékonyabb megoldás a vírusrezisztens transzgenikus növények előállítását. Az elmúlt másfél évtizedben a molekuláris biológiai eszközök felhasználásával a világ különböző laboratóriumaiban vírusellenálló növényeket hoztak létre. A víruseredetű géneket transzgeniként felhasználó módszerek közül legelterjedtebben alkalmazott a köpenyfehérjét tartalmazó konstrukciókkal történő növényi transzformáció. Számos növény-vírus kombinációban használták sikerrel ezt az eljárást.

Coat protein gene-mediated cross protection in transgenic plants

I. State for the art at the Millenium

R. JÓZSA–E. BALÁZS
Agricultural Biotechnology Center,
Gödöllő

Summary

One of the most effective ways to protect cultivated crops from virus diseases is to produce virus-resistant transgenic plants. During the last fifteen years several virus-resistant plants have been produced by genetic engineering in different laboratories all over the world. Among the transgene technologies involving genes of virus origin constructs containing coat protein genes have been used for plant transformation on a wide scale. This technology has been successfully used in several plant-virus combinations. The review summarises the research and application data related to coat protein-mediated cross protection in transgenic plants.

Bevezetés

Termesztett növényeinken számos esetben súlyos károkat okoznak a növényi vírusok, ezért az ellenük való védekezés mindig is fontos kérdés volt. A vírusok által okozott károk első-sorban járványok megjelenésekor jelentenek

szembetűnő gazdasági veszteséget. A vírusok elleni védekezés főként preventív jellegű volt, de intenzív nemesítő munka folyt és folyik a növények vírusellenállóságának kialakítása terén. A vad fajokban meglévő rezisztenciagének általában más tulajdonsággal kapcsolatosak, így azok felhasználása hosszú és munkaigényes

munka után válik lehetővé. A molekuláris biológia azonban fokozta a vírusellenállóság kialakítására tett törekvések eredményességét azáltal, hogy a növényekben a növénykórtanban jól ismert keresztvédettségi reakciókat lehetett kialakítani. *McKinney* (1929) megfigyelte, hogy egy dohány mozaik vírustörzs egy másik, felülfertőző dohány mozaik vírustörzssel szemben védettséget alakított ki a növényben. Ezt később gyengített (attenuált) vírustörzsek felhasználásával üvegházi körülmények között sikerrel alkalmazták. Az említett technológia azonban nem terjedt el, mert ezek a gyengített vírustörzsek más gazdanövényeken súlyos betegséget, esetleg teljes pusztulást okoztak. Az attenuált törzsek felhasználása magában hordozza azt a lehetőséget is, hogy mutáció során az eredetileg gyengített vírustörzs patogénitása megváltozik. Mintegy 15 évvel ezelőtt *Powell-Abel et al.* (1986) dohány mozaik vírus köpenyfehérjéjét építettek be dohány- és paradicsomnövényekbe, melyek így nagyfokú ellenállóképességet mutáltak a felülfertőző vírussal szemben. Ezáltal lehetővé vált egy új, korszerű génebeszteti eljárás felhasználásával a vírusellenállóság kialakítása. Ma már több mint száz vírus-gazdanövény kapcsolatban sikeresen alkalmazzák ezt az ún. köpenyfehérjéjén által közvetített ellenállóság kialakítását. Az utóbbi években az így előállított transzgenikus növények közül számos köztermesztésbe is került. Ezen összefoglalóban az elmúlt 15 évnek kizárólag a köpenyfehérjéjén beépítésén alapuló vírusellenállósággal kapcsolatos eredményeit ismertetjük, és nem térünk ki más víruseredetű gének felhasználásával kapott ellenállóképesség kialakítására.

Klasszikus keresztvédettség

A klasszikus keresztvédettség jelensége az, amikor egy gyengített vírustörzssel történő inokulációt követően ellenállóképesség alakul ki egy felülfertőző, vad típusú vírustörzssel szemben. A fertőzés után a felülfertőző vírus csak kis mennyiségben van jelen a növényben, esetenként ki sem mutatható. A rezisztencia nem jelenik meg minden esetben, például „A” vírus nyújthat védelmet „B”-vel szemben, míg „B” már nem „A”-val szemben (*Palukaitis és Zaitlin* 1984). Általánosságban elmondható,

hogy inkább rokon törzsek között figyelhető meg a jelenség kialakulása, ami szekvenciahomológiára vezethető vissza. Egyes feltételezések szerint a keresztvédettség valamely prekursor elhasználásából származik, melyre mindkét vírusnak szüksége van. Nem zárták ki specifikus inhibitorok jelenlétének lehetőségét sem, melyeket a gyengített törzs termelhet, gátolva más – főképpen rokon – törzsek szaporodását. Lehetségesnek tartották, hogy az előfertőző vírus oly mértékben változtatja meg a gazdanövény metabolizmusát, hogy a továbbiakban érzéketlenné válik a későbbi fertőzésekkel szemben. Magyarították a védettség jelenlétét a fertőző vírus becsomagolódásával a gyengített törzs köpenyfehérjéjébe is. E keresztvédettség gyakorlati felhasználása „elő vakcina” veszélyeket is rejthet magában, így esetenként más növényfajokra terjedve vagy mutációval a vírus patogénné válva súlyos károkat idézhet elő. További kockázati tényezőket jelenthet a szinergisztikus hatás, mely valamely más vírussal való együttes fertőzésekor léphet fel. Ekkor a két vírus egyidejű jelenléte ugyanazon növényben fokozottabb kártételt eredményez, mint a kettő külön-külön (jó példa erre a dohány mozaik vírus és az uborka mozaik vírus.)

Köpenyfehérje által közvetített rezisztencia (coat protein mediated resistance – CPMR)

A második vírustörzssel történő fertőzéskor fellépő rezisztenciát később egyértelműen a növényi sejtekben már megtalálható víruseredetű köpenyfehérje jelenlétével magyarázták, a biotechnológiai módszerek fejlődésével felismerték a lehetőséget, hogy a köpenyfehérjéjével történő transzformáció segítségével a keresztvédettséghez hasonló eredmények érhetőek el. A Patogéntől Származott Rezisztencia (PDR) fogalma 1985-ből Sanfordtól és Johnsontól ered. E megfogalmazás szerint a gazdanövényben expresszálandó vírus génjének, génszakaszának RNS-transzkriptuma, illetve génterméke a víruseredetű komponensek természetének egyensúlyát megváltoztathatja, így a vírusreplikáció, valamint a vírus növényen belüli terjedése megakadályozható, illetve megzavarható, ami a növény enyhített vagy elmaradott fertőzését eredményezi. Transz-

génikus növények előállításához a köpenyfehérje mellett számos vírusgén felhasználható: a replikázkomplex komponenseinek génei, szatellit RNS-ek, defektív interferáló elemek, ribozimok, antiszensz RNS-ek és mozgási fehérjék génei (Wilson 1993, Lindbo *et al.* 1993b, Baulcombe 1996, Tacke *et al.* 1996, Ares *et al.* 1998). Széles körben és sikeresen használt a vírus köpenyfehérjéjé, melyet elsőként alkalmaztak transzgénikus növények előállítására a klasszikus keresztvédettség vizsgálataiból levont következtetések alapján. A gént megfelelő vektorba helyezve és növénybe építve a köpenyfehérje növényen belüli termelődését eredményezi. Az így kiváltott rezisztenciát nevezzük köpenyfehérje által közvetített rezisztenciának. A védettség mértéke függ az adott vírustól, az inokulum koncentrációjától és a transzformáns növényi vonaltól. A köpenyfehérje általi védettség vizuálisan is megjelenik. A rezisztencia szintje azonban változó: a szimptomák kifejlődése időben később, a megjelenő tünetek lehetnek enyhébbek, előfordulhat kisebb vírusszám, létrejöhét felépülési („recovery“) reakció (amikor a növény elsődlegesen fertőződik, azonban a később megjelenő fiatal levelek már tünet- és vírusmentesek), valamint kialakulhat immunitás. A védettség esetenként fennállhat nagyobb inokulum-koncentrációval szemben is.

Az első kísérletet köpenyfehérje általi rezisztencia kialakítására Bevan *et al.* (1985) végezték. Dohány mozaik vírus (tobacco mosaic tobamovirus – TMV) köpenyfehérje- (coat protein – CP) gént építettek be dohánynövényekbe *Agrobacterium tumefaciens* segítségével. A felnevelt növények leveleiből 0.001%-ban mutatták ki a CP-t az összes oldható fehérjéhez viszonyítva, azonban TMV-fertőzőskor a transzgénikus növények a kontrollokhoz hasonlóan fogékonyak bizonyultak. Az első sikeres kísérletet Powel Abel *et al.* (1986) végezték el. Reverz transzkripcióval előállított, a TMV CP-génjét tartalmazó konstrukcióval transzformáltak dohánynövényeket, mely konstrukció 35 S promotert és poly (A) régiót is tartalmazott. A transzgénikus növények leveleiből származó fehérjekivonatban immunoblot segítségével 0.1%-os arányban mutatták ki a vírus CP-génjét. TMV-vel történő mesterséges fertőzés során a CP-t szintetizáló növényeken vagy késéssel

jelentkeztek a tünetek, vagy egy részük tünetmentes maradt. A transzformánsokon megfigyelt rezisztenciát a hasadó utódpopulációkon is ki lehetett mutatni. Ez volt az első tanulmány, amely bebizonyította, hogy vírusrezisztencia kialakításának céljából a genetikai transzformációt eredményesen lehet alkalmazni. 1986 óta CP által kiváltott védettséget számos esetben hoztak létre a világ különböző laboratóriumaiban mintegy 16 vírusnemzetség egyes tagjaival szemben (1. táblázat).

Az alábbiakban víruscsoportonként foglaljuk össze az elért új eredményeket.

Alfamovirus csoport

Tumer *et al.* (1987) a lucerna mozaik vírus (alfalfa mosaic alfamovirus – AIMV) 4-es RNS-ét használták fel transzformációs vektorok előállításához. Dohány- és paradicsomnövényeket használtak a transzformációkhoz, melyek leveleiből 0.1–0.8%-ban mutatták ki a CP-t a kivonható összfehérjékből immunoblot analízissel. A transzgénikus dohánynövényeket inokulálták 5 és 50 µg/ml koncentrációjú AIMV-vel. A CP-t expresszáló (CP+) növényeken nem jelentek meg a vírus tünetek két héttel a fertőzés után, míg a CP-t nem termelő (CP-) növényeken léziók és szisztemikus mozaik tünetek fejlődtek ki. Ezekben a fogékony növényekben 400-szor nagyobb vírusszámot találtak, mint a „CP+“ növényekben.

Loesch-Fries *et al.* (1987) kétféle génkonstrukciót állítottak elő transzformációs céllal. Az egyik az AIMV 19S promotert és a karfiol mozaik vírus (cauliflower mosaic caulimovirus – CaMV) CP kazettát tartalmazva, míg a másik az AIMV 35 S promotert és a CP:T-DNS ORF 25 3' végszekvenciákat, melyekkel dohány- és lucernanövényeket transzformáltak. A P19S:CP konstrukciót hordozó dohánynövények (33 vonal) leveleiből 0.05%-ban mutatták ki a CP-t, a P35S:CP konstrukciójukból (34 vonal) pedig 0.13%-ban a levél összfehérjéjéhez viszonyítva. A P19S:CP transzgénikus utódok, melyek a legmagasabb szinten akumuláltak a CP-t, kevesebb elsődleges fertőzési tünetet mutattak és bennük lassabban fejlődtek ki a szisztemikus tünetek is a „CP+“ növényekhez képest. A 0.006%-ban CP-t tartalmazó növények már nem voltak rezisztensek. Az ellenállóképesség

1. táblázat. *Transzformáns növényeken CP által kiváltott védetség 16 vírusnemzetség egyes tagjaival szemben*

Vírus-nemzetség (1)	Beépített CP (2)	Transzformált növény (3)	Rezisztencia (4)	Referencia (5)
<i>Alfavirus</i>	AIMV	Dohány (6), paradicsom (7)	AIMV (+)	<i>Tumer et al.</i> 1987, 1991
	AIMV-YSMV	Dohány (6)	AIMV-YSMV (+), TSV (-)	<i>van Dun et al.</i> 1987
	AIMV-425	Dohány (6), lucerna (8)	AIMV-425, AMV-McKinney (+)	<i>Loesch-Fries et al.</i> 1987
	AIMV	Lucerna (8)	AIMV (+)	<i>Halk et al.</i> 1989
	AIMV	Dohány (6)	PVX, CMV (+-), TMV (-)	<i>Anderson et al.</i> 1989
	AIMV	Dohány (6), lucerna (8)	AIMV (+)	<i>Hill et al.</i> 1991
	AIMV	Dohány (6) (<i>Xanthi</i>)	AIMV (+)	<i>Yushibov et al.</i> 1995
<i>Carlavirus</i>	PVS-An	<i>N. debneyi</i>	PVS-ME (+)	<i>MacKenzie és Tremaine</i> 1990
	PVS-An	Burgonya (9) (<i>Russet Burbank</i>)	PVS-An (+), PVM (+-)	<i>MacKenzie et al.</i> 1991
<i>Cucumovirus</i>	CMV-C	Dohány (6)	CMV-C (+)	<i>Cuozzo et al.</i> 1988
	CMV-C	Dohány (6) (<i>Xanthi</i>)	CMV-C, CMV-Chi(+), CMV-WL(+/-)	<i>Quemada et al.</i> 1991
	CMV-WL	Dohány (6)	CMV-WL, CMV-C, CMV-Chi (+)	<i>Namba et al.</i> 1991
	CMV	Tök (10)	CMV (+)	<i>Gonsalves et al.</i> 1992
	CMV-O	Dohány (6)	CMV-O, CMV-Y (+)	<i>Nakajima et al.</i> 1993
	CMV-Y	Dohány (6)	CMV-Y (+)	<i>Okuno et al.</i> 1993
<i>Enamovirus</i>	PEMV	Borsó (11)	PEMV (+)	<i>Chowrira et al.</i> 1998
<i>Furovirus</i>	BNYVV	Cukorrépa (12) (protoplaszt)	BNYVV (+)	<i>Kallerhoff et al.</i> 1990
<i>Geminivirus</i>	TYLCV	Paradicsom (7)	TYLCV (+)	<i>Kunik et al.</i> 1994
<i>Illavirus</i>	TSV-WC	Dohány (6) (<i>Xanthi</i> , <i>Samsun</i>)	TSV-WC (+), AIMV (+)	<i>van Dun et al.</i> 1988
<i>Luteovirus</i>	PLRV	Dohány (6), burgonya (9) (<i>Desiree</i>)	PLRV (+)	<i>Kawchuk et al.</i> 1990
	PLRV	Burgonya (9) (<i>Russet Burbank</i>)	PLRV (+)	<i>Kawchuk et al.</i> 1990
	PLRV	Burgonya (9)	PLRV (+)	<i>van der Wilk et al.</i> 1991, <i>Barker et al.</i> 1992
	ArMV	Dohány (6)	ArMV (+)	<i>Bertioli et al.</i> 1992

1. táblázat folytatása. *Transzformáns növényeken CP által kiváltott védetség 16 vírusnemszetség egyes tagjaival szemben*

Vírus-nemszetség (1)	Beépített CP (2)	Transzformált növény (3)	Rezisztencia (4)	Referencia (5)
<i>Nepovirus</i>	GCMV	Dohány (6)	GCMV (+)	<i>Brault et al.</i> 1993
<i>Potexvirus</i>	PVX	Dohány (6)	PVX (+)	<i>van der Wilk et al.</i> 1991, <i>Hemenway et al.</i> 1988
	PVX	Burgonya (9)	PVX (+)	<i>Hoekema et al.</i> 1989, <i>Kaniewski et al.</i> 1990
	PVX	Burgonya (9) (<i>Russet Burbank</i>)	PVX (+), PVY (–)	<i>Lawson et al.</i> 1990
	PVX+PVY	Burgonya (<i>Russet Burbank</i>)	PVX+PVY (+)	<i>Lawson et al.</i> 1990
	PVX	Burgonya (<i>Binjtje, Escort</i>)	PVX (+)	<i>Jongedijk et al.</i> 1992
	PVX-G	Burgonya (9)	PVX-G (+)	<i>Fehér et al.</i> 1992
	CyMV	Dohány (6)	CyMV (+)	<i>Chia et al.</i> 1992
	PAMV	<i>N. benthamiana</i>	PAMV (+)	<i>Leclerc és AbouHaidar</i> 1995
<i>Potyvirus</i>	SMV-N	Dohány (6)	PVY, TEV (+), TMV-UI (–)	<i>Stark és Beachy</i> 1989
	BYMV	<i>N. benthamiana</i>	BYMV (+), PepMoV, TuMV (–)	<i>Hammond és Kamo</i> 1995
	PPV	<i>N. clevelandii</i>	?	<i>da Camara Machado et al.</i> 1990
	PPV	<i>N. clevelandii</i> <i>N. benthamiana</i>	PPV (+)	<i>Regner et al.</i> 1992
	PPV	Dohány (6), (<i>Xanthi</i>) <i>N. clevelandii</i> , <i>N. benthamiana</i>	PPV (+), PVY (+)	<i>Ravelonandro et al.</i> 1993
	PPV	Szilva (13), öszibarack (14)	PPV (+)	<i>Scorza et al.</i> 1994, 1995
	PPV	<i>N. benthamiana</i>	PPV (+)	<i>Palkovics et al.</i> 1995
	LMV	Dohány (6) (<i>Xanthi</i>)	LMV, PVY (+)	<i>Dinant et al.</i> 1993
	MDMV	Kukorica (15)	MDMV, MCMV (+)	<i>Murry et al.</i> 1993
	WMV II, ZYMV	<i>N. benthamiana</i>	WMV II, ZYMV (+)	<i>Namba et al.</i> 1992
	ZYMV	Sárgadinnye (16)	ZYMV (+)	<i>Fang és Grumet</i> 1993
	PVY-O	Burgonya (9) (<i>Russet Burbank</i>)	PVY-O (+), PVX (–)	<i>Lawson et al.</i> 1990
PVY-N	Burgonya (9) (<i>Binjtje</i>)	PVY-N (+), PVY-O (–)	<i>Farinelli et al.</i> 1992 <i>Farinelli és Malnoe</i> 1993	

I. táblázat folytatása. *Transzformáns növényeken CP által kiváltott védettség 16 vírusnemzetség egyes tagjaival szemben*

Vírus-nemzetség (1)	Beépített CP (2)	Transzformált növény (3)	Rezisztencia (4)	Referencia (5)
	PVY-N	Dohány (6)	PVY-N (+) PVY-N, PVY-O (+)	<i>van der Vlugt et al. 1992</i> <i>Farinelli és Malnoe 1993</i>
	PVY	Dohány (6)	PVY-NTN (+)	<i>Kollár et al. 1993</i>
<i>Potyvirus</i> (folytatás)	PVY	Burgonya (9)	PVY (+)	<i>Smith et al. 1995,</i> <i>Stark és Beachy 1989,</i> <i>Kaniewski et al. 1990</i>
	TVMV	Dohány	TVMV (+), TEV (+)	<i>Murphy et al. 1990</i>
	PRSV	Dohány (6), Papaya	PVY, PepMoV, TEV (+), CMV-C (-)	<i>Ling et al. 1991</i>
	PRV	Papaya	PRV (+)	<i>Fitch et al. 1992</i>
	PSiV	<i>N. benthamiana</i>	PSiV (+), TEV (-)	<i>Cassidy és Nelson 1995</i>
	TEV	Dohány (6)	TEV (+ -)	<i>Lindbo és Dougherty 1992b</i>
	TEV	Dohány (6) (<i>Burley 49</i>)	TEV (+)	<i>Dougherty et al. 1994</i>
Tenuivirus	RSV	Rizs (17)	RSV (+)	<i>Hayakawa et al. 1992</i>
Tobamovirus	TMV-UI	Dohány (6)	TMV-UI (+)	<i>Powell et al. 1986</i>
	TMV-UI	Paradicsom (7)	TMV-UI, TMV-PV230 (+), ToMV-L, ToMV-2 (+ -)	<i>Nelson et al. 1988</i>
	TMV	Dohány (6)	TMV, ToMV, TMGMV, ORSV PMMV (+), RMV, SHMV (-)	<i>Nejidat és Beachy 1990</i>
	TMV	Dohány (6)	TMV (+)	<i>Anderson et al. 1989,</i> <i>Clark et al. 1990,</i> <i>Reimann-Philip és Beachy 1993</i>
	TMV-UI	Dohány (6)	mut. TMV (+), TMV-UI+SHMV CP (-)	<i>Clark et al. 1995</i>
	ToMV-C	Paradicsom (7)	TMV-UI, ToMV-C (+)	<i>Sanders et al. 1992</i>
	Tobravirus	TRV-TCM	Dohány (6)	TRV-TCM (+)
TRV-TCM		Dohány (6) (<i>Samsun</i>)	TRV-TCM, PEBV (+), TRV-PLB (-)	<i>van Dun és Bol 1988</i>
TRV-PLB		Dohány (6)	TRV-PLB (+), TRV-TCM (-)	<i>Angenent et al. 1990</i>
Tombusvirus	CyRSV	Dohány (6)	CyRSV	<i>Rubino et al. 1993</i>
Tospovirus	TSWV	Dohány (6)	TSWV (+)	<i>MacKenzie és Ellis 1992</i> <i>de Haan et al. 1992</i> <i>Goldbach és de Haan 1993</i>

1. táblázat folytatása. *Transzformáns növényeken CP által kiváltott védetség 16 vírusnemzetség egyes tagjaival szemben*

Vírus-nemzetség (1)	Beépített CP (2)	Transzformált növény (3)	Rezisztencia (4)	Referencia (5)
<i>Tospovirus</i> (folytatás)	TSWV-BL	Dohány (6)	TSWV-BL (+)	<i>Pang et al.</i> 1993
	TSWV+ TCSV+G RSV	Dohány (6)	TSWV, TCSV,	<i>Prins et al.</i> 1995
	TSWV olasz iz.	<i>N. benthamiana</i>	TSWV, INSV, GRSV (+–), GBNV (–)	<i>Gielen et al.</i> 1991 <i>Vaira et al.</i> 1995
	TSWV-Hm	Dohány (6)	TSWV-Hm (+)	<i>Burgán et al.</i> 1998

Table 1. Protection against virus species from 16 genera, induced by CP in transformed plants. (1) Virus genus, (2) CP incorporated, (3) Transformed plant, (4) Resistance, (5) Reference, (6) Tobacco, (7) Tomato, (8) Alfalfa, (9) Potato, (10) Marrow, (11) Pea, (12) Sugarbeet (protoplast), (13) Plum, (14) Peach, (15) Maize, (16) Musk melon, (17) Rice.

hatásosnak bizonyult két AIMV törzssel szemben, de AIMV RNS-el és TMV-vel történő fertőzéssel szemben már nem.

Anderson et al. (1989) megfigyelték, hogy az AIMV CP-t tartalmazó transzgenikus növények TMV-vel szemben érzékenyek, azonban 0.01–0.5 µg/ml burgonya X vírus (potato X potovirus – PVX) vagy uborka mozaik vírus (cucumber mosaic cucumovirus – CMV) fertőzés esetén a szimptomák kifejlődése késett.

A P35S:AIMV CP konstrukciót *van Dun et al.* (1987) juttatták be lucernába. A vizsgált 240 növény 40%-a expresszáta a CP-gént, mely 0.05%-ban volt jelen a levél összfehérjében. A transzgenikus növények ellenállóak voltak AIMV fertőzéssel szemben. Öt hónappal az inokulációt követően sem fejlődtek ki a vírus-tünetek, és az ezekből előállított protoplasztok is rezisztensnek mutatkoztak. Később dohány-növényeket is transzformáltak P35S:AIMV CP:NOS 3' konstrukcióval. A 15 regeneráns vonalból 11-ben tapasztaltak CP expressziót, melyek megközelítőleg 0.05%-ban tartalmazták a CP-t a levél kivonható fehérjéiben. A növények rezisztensek voltak AIMV 'YSMV' törzssel történő fertőzést követően, míg fogékonyak bizonyultak AIMV RNS és dohány csikosság vírus (tobacco streak ilarvirus – TSV) fertőzés esetében is. Egy „frame-shift” mutációt tartalmazó konstrukcióval transzformált növények, melyek csak a CP mRNS-t

akkumuláltak, magát a CP-t nem, fogékonyak voltak AIMV fertőzéssel szemben. Ezek az eredmények a fehérjetermék szerepére utalnak a rezisztencia kialakításában.

Yushibov és Loesch-Fries (1995) szintén AIMV CP-vel transzformáltak *Nicotiana tabacum L. cv. Xanthi* dohány-növényeket, melyek hatásos védelmet nyújtottak a donorvírussal szemben. Mutáns, nem transzlálódó CP-gént tartalmazó konstrukciók használatát követően gyenge rezisztenciát tapasztaltak. Ez rámutatott arra, hogy az ellenállóképesség kialakításához nincs szükség a CP-k és az AIMV RNS-ek közötti interakcióra.

Carlavirus csoport

Köpenyfehérje által kiválasztott rezisztenciát kaptak a burgonya M vírus (potato M carlavirus – PVM) és burgonya S vírus (potato S carlavirus – PVS) köpenyfehérjéjének felhasználásával is. *McKenzie és Tremaine* (1990), valamint *McKenzie et al.* (1991) dohány-növényekbe építették be a PVS 'An' izolátum CP-génjét, mely által sikerült rezisztenciát kiváltani a transzgenikus vonalakban. Transzformáltak a konstrukcióval *Russet Burbank* burgonyanövényeket és azt tapasztalták, hogy a CP-t expresszáló vonalak ellenállóak voltak PVS 'An'-nel szemben, PVM-mel szemben viszont kevésbé.

Cucumovirus csoport

Quemada et al. (1991) CMV 'C' törzsének CP-jével transzgenikus *N. tabacum* L. cv. *Xanthi* vonalakat állítottak elő. A rezisztencia mértéke változó volt, a majdnem teljes védettségű az ellenállóság hiányáig terjedt, és függött a fertőzéshez használt törzstől (CMV 'C' subgroup 1, 'Chi' sg. 1, 'WL' sg. 2). A fertőzéseket mechanikusan és levéltetvek segítségével is elvégezték. Megfigyelték, hogy a köpenyfehérjét expresszáló vonalak CMV 'C'-vel szemben majdnem teljesen rezisztensek voltak, míg CMV 'Chi'-vel szemben megközelítőleg 20%-uk, illetve CMV 'WL'-l szemben kb. 50%-uk fertőződött meg. A köpenyfehérjét nem akumuláló vonalak CMV 'C' esetén 50%-ban fertőződtek, míg a CMV 'Chi' és 'WL' törzsek esetén 100%-os volt a fertőzőség.

Okuno et al. (1993) CMV köpenyfehérjégre transzgenikus dohánynövényeket fertőztek CMV víronnal és RNS-sel. A növények mindkét esetben ellenállóak voltak, míg protoplasztok RNS-el történő fertőzésekor nem maradt fenn az ellenállóképesség. 34 °C-on végzett hőkezelés kísérletek során tapasztalták, hogy a növényekben csökkent a rezisztencia szintje, vagy akár teljesen el is vesztették azt. Mivel a CP magas hőmérsékleten instabil, ez az eredmény a köpenyfehérje szerepére utal a CMV-vel szembeni rezisztencia kialakulásában.

CMV 'D', 'WL' és 'O' izolátumok köpenyfehérjéjeivel transzformáltak dohánynövényeket *Cuozzo et al.* (1988), *Namba et al.* (1991) és *Nakajima et al.* (1993). CMV 'D' esetében védettséget tapasztaltak CMV 'C'-vel szemben, CMV 'WL' eredetű transzgent hordozóknál CMV 'C', 'Chi' és 'WL'-l szemben, valamint CMV 'O' CP használatakor CMV 'O' fertőzést követően.

Enamovirus csoport

Köpenyfehérje által kialakított védettséget indukáltak borsó enációs mozaik vírus (pea enation mosaic enamovirus – PEMV) CP-gént tartalmazó konstrukció felhasználásával borsóban *Chowrira et al.* (1998). Axilláris merisztémasejteket transzformáltak injektálással és elektroporálással. A transzgenikus növények-

ben késői és alacsonyabb szintű PEMV replikációt, illetve gyengült tünetek kifejlődését tapasztalták a kontroll növényekhez képest.

Furovirus csoport

Kallerhoff et al. (1990) felhasználták a répa nekrotikus sárgaerűség vírus (beet necrotic yellow vein furovirus (újabban benyvirus) – BNYVV) CP-génjét cukorrépa protoplaszt-transzformációra *Agrobacterium* kokultivációval, és ezen az úton reisztranszgenikus növényi vonalakhoz jutottak. A sejtszuszpenzióból izoláltak CP-t expresszáló transzformált protoplasztokat, melyekből fertőzés után kimutatták, hogy a CP expresszió hatékony rezisztenciát eredményezett. Megközelítőleg a sejtek 2%-a volt transzformáns, melyek 200 mg/l kanamincint tartalmazó szelektív táptalajon is képesek voltak nőni. A rezisztencia nagy inokulációs koncentráció mellett is érvényesült, és RNS-sel történő fertőzés esetében sem tapasztaltak vírusreplikációt, szemben a nem transzformált protoplasztokban tapasztaltakkal.

Geminivirus csoport

Kunik et al. (1994) transzgenikus paradicsomnövényeket állítottak elő a paradicsom sárga levélgöndörödés vírus (tomato yellow leaf curl geminivirus – TYLCV) – ez egyszálú DNS-t tartalmazó vírus – köpenyfehérjéjének felhasználásával. A növények ellenállóak voltak a későbbi vírustámadással szemben. A kísérlethez a *Lycopersicon esculentum* x *L. pennellii* hibrid F₁ nemzedékét használták, mivel ez a természetes paradicsommal azonos fogékonyságú, viszont a regenerációs kapacitása annál nagyobb. A CP-génnel (V1) transzformált növényeket fehérlegyek segítségével fertőzték meg. Szimptomakésést és recovery jelenséget tapasztaltak. Ismételt fertőzések esetében sem mutatták ki a rezisztencia csökkenését, inkább annak erősödését figyelték meg. Kilenc transzgenikus vonalból hatban fordult elő fehérjeakkumuláció. A kontrollokhoz hasonlóan érzékeny transzformált növények csak a V1 RNS-t expresszálták, míg azok, melyek magát a CP-t is termelték, képesek voltak felépülni, vagy ellenállóságot kialakítani.

Ilarvirus csoport

Van Dun et al. (1988) TSV 'WC' törzsének CP-génjével transzformáltak *N. tabacum Samsun* és *Xanthi* dohánynövényt. A transzgenikus vonalak mindegyikében megtalálható volt a CP mRNS, a CP szintet azonban nem vizsgálták. A növények fertőzését 10 µg/ml koncentrációjú TSV inokulummal végezték. A „CP+” vonalakban nem fejlődtek ki vírus-tünetek, míg a kontrollokon léziók kialakulását lehetett megfigyelni. A szisztemikus szimptomák a „CP-” növényeken három héten belül fejlődtek ki, míg a „CP+” vonalakban három hét után sem alakultak ki.

Luteovirus csoport

Kawchuk et al. (1990) burgonya levélsodródás vírus (potato leafroll luteovirus – PLRV) köpenyfehérjéjét használták *Desiree*, majd később *Russet Burbank* burgonyafajta transzformációjához. A gént hordozó vonalak rezisztensnek bizonyultak PLRV fertőzéssel szemben, bár a magas transzkriptumszint ellenére kis köpenyfehérje-mennyiséget mutattak ki: 0.01%-ot az összes levélproteinhez viszonyítva. Ennek magyarázata a CP mRNS kis translációs hatékonysága vagy a proteinalagság instabilitása, de előfordulhat, hogy a köpenyfehérje csak egy bizonyos szövettípuson belül stabil, pl. a floem sejtekben. A transzgenikus vonalak ellenállóképességét sem a levéltétivel történő fertőzés, sem a nagy inokulumkoncentráció nem törte át.

Nepovirus csoport

Az arabis mozaik vírus (arabis mosaic nepovirus – ArMV) és a szőlő króm mozaik vírus (grapevine chrome mosaic nepovirus – GCMV) köpenyfehérjéjéket használták fel sikeres, köpenyfehérje által indukált keresztvédtetéshez dohánynövényekben (*Brault et al.* 1993). A GCMV CP-t hordozó növények magas szinten expresszálták a köpenyfehérjéjét, ami rezisztenciát is eredményezett. Néhány növény megfertőződött ugyan, de a kontrollokhoz képest alacsony szinten akkumulálták a vírus RNS-t. Az ellenállóság tisztított

vírus RNS-sel történő fertőzés esetében is megmaradt. Azt tapasztalták, hogy csak a magas szintű CP expresszió eredményez csak rezisztenciát. A *Nicotiana tabacum* ugyan nem szisztemikus gazdája a vírusnak, az mégis képes benne replikálódni szisztemikus tünetek kialakítása nélkül. Néhány növény 1 µg/ml inokulumkoncentrációnál is megfertőződött, míg nagy koncentrációnál (10 µg/ml) már a nagy részük. Ezek azonban jóval kevesebb RNS-t akkumuláltak, mint a szintén megfertőződött kontrollnövények. RNS-sel történő fertőzésnél is hasonló eredményeket kaptak.

Potexvirus csoport

Lexler és AbouHaidar (1995) burgonya aucuba mozaik vírus (potato aucuba mosaic potexvirus – PAMV) köpenyfehérjéjéjével transzformáltak *Nicotiana benthamiana* növényeket. Négyféle génkonstrukciót állítottak elő: teljes hosszúságú (full length) CP-gén, két csonkított CP-gén (az egyikben az N-terminális régióból 46 aminosavat töröltek „NT 138”, míg a másikban a konzervatív „core” régióból 86 aminosavat töröltek „CT 258”) és egy antiszensz CP-génkonstrukciót. A teljes hosszúságú és az NT 138 transzgéneket hordozó növényekből kimutatták a mRNS-t és a fehérjeterméket, míg a CT 258 és az antiszensz konstrukciókkal transzformált vonalaktól csak a mRNS-t tudták kimutatni, a fehérjét nem. PAMV-vel történő fertőzést követően rezisztencia alakult ki a teljes hosszúságú, a CT 258 és az antiszensz géneket hordozó vonalakban, ez a szimptomák kialakulásának késésében nyilvánult meg. Az NT 138 konstrukciót hordozó növényekben azonban nem alakult ki ellenállóság. A leghatékonyabbnak az antiszensz vonalak bizonyultak. A csonkított „core” régió felhasználásával kimutatták, hogy CP általi rezisztencia kiváltásához nemcsak a teljes hosszúságú géneket hordozó konstrukciókat lehet felhasználni.

Hoekema et al. (1989) PVX CP-génnel transzformáltak burgonyanövényeket, és 1 µg/ml inokulumkoncentrációval történő fertőzés esetén a szimptomakifejlődés késését és vírusakkumuláció-csökkenést tapasztaltak a transzgenikus vonalakban.

Jongedijk et al. (1992) *Bintje* és *Escort* burgonyafajtát transzformáltak szintén PVX köpenyfehérjéjével. A szántóföldi vizsgálatok során pozitív korrelációt tapasztaltak az akkumulált CP-szint és a rezisztencia szintje között, azonban ez a korreláció a közepes szinten expresszáloknál nem volt egyértelmű.

PVX-szel szembeni ellenállóságot váltottak ki *van der Wilk et al.* (1991) dohánynövényekben, míg *Lawson et al.* (1990) *Russet Burbank* burgonyában. Ebben az esetben a transzgenikus növény fogékony volt PVY-nal szemben, azonban egy olyan konstrukció használata által, mely nemcsak a PVX, hanem a PVY köpenyfehérje génjét is tartalmazta, a növények ellenállóvá váltak. *Fehér et al.* (1992) a PVX 'G' izolátumát használták fel burgonya-transzformációkhoz. *Desirée* és *Gracia* gumókorongokat transzformáltak *Agrobacterium* segítségével. A CP-expresszió szintje alacsony, de kimutatható volt (Northern-, Western-analízissel). Az inokulált levelekben a vírus RNS csökkent akkumulációját tapasztalták a transzformánsok nagy részében a kontrollokhoz képest, sőt 18 nappal a fertőzés után az egyik vonalban 4–10-szeres csökkenést észleltek.

Chia et al. (1992) cymbidium mozaik vírus (cymbidium mosaic virus – CyMV) CP-génjével transzformáltak dohánynövényeket, melyek rezisztensek lettek a későbbi CyMV fertőzésekkel szemben.

Potyvirus csoport

Murry et al. (1993) kukorica törpe vagy csikos mozaik vírus (maize dwarf mosaic potyvirus – MDMV) 'B' törzsének CP-génjét felhasználva állítottak elő transzgenikus kukoricánövényeket. A vonalak mindegyike expresszálta a CP-gént, sőt az egyik vonalban 100–200 µg CP-t mutattak ki frisstömeg-grammonként. A növényeket MDMV 'A' és 'B' törzsekkel fertőzték, valamint kukorica klorotikus foltosság vírus (maize chlorotic mottle carmo- vagy machlomovirus – MCMV)-vel együtt, keverten. A hatodik napot követő vizsgálatokban a transzgenikus növények rezisztensnek bizonyultak. A replikáció gátlása és a vírusterjedés a heterológ fertőzésnél azonban nem volt teljes, a transzgen jelenléte mégis

elősegítette a növények túlélését és a maghozatal.

Cassidy és Nelson (1995) földimogyoró csíkosság vírus (peanut stripe potyvirus – PStV) CP-gén felhasználásával előállított konstrukciókkal transzformáltak *N. benthamiana* növényeket. Létrehoztak ATG translációs start kóddal rendelkező és e nélküli, teljes hosszúságú konstrukciókat, valamint ATG-vel rendelkező, de csonkított CP-t tartalmazó vektorokat, melyek aminoterminális régiójából deletáltak 16, illetve 106 aminosavat. A két – teljes gént tartalmazó – „ATG+” vonalnál nem figyeltek meg szimptomakifejlődést vagy vírusakkumulációt mechanikai fertőzés esetén, a többi vonalnál viszont csupán a szimptomák kifejlődésének késését tapasztalták. Ezen növények szisztemikus, fiatal levelei áttörték a fertőzést, és belőlük a CP kimutatása is sikertelenné vált. További vizsgálatokkal kimutatták, hogy a felépülési „recovery” jelenséget mutató növények szimptóma nélküli levelei rezisztensek az újabb PStV fertőzésekkel szemben, azonban dohány karcolatos vírus (tobacco etch potyvirus – TEV) fertőzéssel szemben nem. A PStV-re immunis transzgenikus növények ellenállóképesége hatástalan maradt más poty- vagy tobamovírusokkal történő fertőzés esetén. Az „ATG-” vonalak késve kifejlődő, illetve enyhébb tüneteket mutattak az „ATG+” vonalokhoz és a nem transzgenikusokhoz képest, sőt előfordultak szimptomamentes egyedeik is. A fertőződött növények között nem fordultak elő felépülési képességgel rendelkező egyedek, azonban az ATG szükségessége nem tisztázott a jelenség létrejöttében. A vizsgálatok nem mutattak ki korrelációt a CP akkumulációs szint és a rezisztencia mértéke között.

Da Camara Machado et al. (1992) *Prunus armeniaca* sejt kultúrát transzformáltak 24 órás *Agrobacterium*os együtt tenyésztéssel, mely a szilva himlő vírus (plum pox potyvirus – PPV) CP-génjét hordozta, majd 48 órán át regenerációs táptalajon inkubálták. Az őszibarack-regeneráció fejletlen embriókból történt. Ez volt az első tanulmány, mely sikeres gyümölcsfa-transzformációt írt le.

Ravelonandro et al. (1993) PPV CP-génnel transzformáltak *N. tabacum Xanthi*, *N. benthamiana* és *N. clevelandii* növényeket. A *bentha-*

miana vonalakban ellenállóképesség kialakulását tapasztalták PPV fertőzés esetén, míg a *Xanthi* és a *clevelandii* vonalakban csupán részleges védettséget figyeltek meg PPV és burgonya Y vírus (potato Y potyvirus – PVY) inokulációkat követően. 20 µg/ml PVY-nal történő fertőzés esetében a vonalak 90–100%-a megfertőződött, ami a rezisztencia inokulumkoncentrációtól való függőségét jelzi. Egyes *benthamiana* növényeknél a hosszú távú vírusmozgás blokkolását és a felépülési jelenséget figyeltek meg, ez azonban szintén függött a víruskoncentrációtól.

Palkovics et al. (1995) az SK-68 jelű PPV törzs köpenyfehérjéjénél építették be *Nicotiana benthamiana* növényekbe, melyek közül több nagyfokú rezisztenciát adott a felülfertőző vírussal szemben. Két vonal esetében a „recovery” jelenségét is megfigyelték.

Regner et al. (1992) is hasonló eredményekről számoltak be, azonban *N. clevelandii* növények esetében is megfigyelték a fertőzést áttörő, új, szimptomamentes levelek kialakulását. A rezisztencia szintje és a CP-expresszió között ugyanakkor negatív korrelációt figyeltek meg.

Scorza et al. (1994) szilva hipokotil szeleteket transzformáltak PPV CP-génnel. 1800 szeletből 22 transzformáns klónt kaptak, melyek közül öt termelte a CP-t. A mRNS-szint a kimutathatatlantól a nagy mennyiségig terjedt, és a CP-mennyiség korrelált a mRNS-szinttel. A termelődött köpenyfehérje-mennyiséget összefüggésbe hozták a beépülési kópiaszámmal és az integráció helyével.

Scorza et al. (1991) papaya gyűrűsfoltosság vírus (papaya ringspot potyvirus – PRV) CP-génnel transzgenikus szilvákat fertőztek átoltással PPV-vel, és két éven keresztül vizsgálták a reakciókat. A legtöbb transzgenikus növény megfertőződött, viszont a szimptomák a kontrollokhoz képest enyhébbek voltak. Csupán egy növényben tapasztalták a védettség megjelenését.

Ling et al. (1991) PRV CP-gént expresszáltak dohánynövényekben. TEV, PVY és földimogyoró mozaik vírus (peanut mosaic potyvirus – PeMV) fertőzést követően szimptomakésést és a tünetek gyengült kifejlődését tapasztalták. Az ellenállóképesség TEV és PeMV esetében hatékonyabbnak bizonyult,

mint PVY-nal szemben, holott a PeMV és a PVY köpenyfehérjei közötti aminosavszekvencia-homológia jelentős.

Gonsalves és Slightom (1993) S55-1 transzgenikus papayavonallal végeztek szántóföldi vizsgálatokat. A növények felét mechanikailag, másik felét levéltetvek segítségével fertőzték mind a transzgenikusok, mind a kontrollok esetében. A transzgenikusok közül egy sem fertőződött meg, míg a kontrollokból egy kivételével az összes. Ezt a vizsgálatot két-három éves periódusra tervezték, mivel választ várnak arra a kérdésre, hogy a rezisztencia változik-e a gyümölcschozattal, illetve az öregedéssel.

Lindbo és Dougherty (1992) nem transzlálódó, szensz és antiszensz TEV CP-génnel transzformáltak dohánynövényeket. A hét vizsgált antiszensz vonalból egy esetben tapasztaltak szimptomagyengülést, míg a tíz szensz vonal mindegyike tünetmentes volt. Mechanikai és levéltetvek általi inokulációt is alkalmaztak. A rezisztencia jellemzői eltértek a CP által kiváltott ellenállóságtól, mivel az ebben az esetben RNS-függőnek bizonyult. A védettség független volt az inokulumkoncentrációtól és a növény méretétől, azonban TEV specifikus volt, mely elsősorban a vírusreplikáció csökkentésében nyilvánult meg.

Hammond és Kamo (1995) *N. benthamiana* növényeket transzformáltak antiszensz bab sárga mozaik vírus (bean yellow mosaic potyvirus – BYMV) köpenyfehérjéjénnel. A konstrukció a 3' nem kódoló régiót és a poly (A) véget is tartalmazta. A tíz vizsgált transzgenikus vonal második generációjában egy esetben találtak nagyfokú rezisztenciát 100 µg/ml BYMV és 50 µg/ml BYMV RNS mechanikai inokulációját követően. Egyik esetben sem volt detektálható a vírus a növényben. A többi kilenc vonal szisztémikusan fertőződött és a kezdeti tünetek a nem transzgenikus növények reakcióihoz hasonlóak voltak. Egy esetben tapasztaltak „recovery” jelenséget, míg a többi részleges felépülést mutatott, mivel a vírusszám és a tünetek erőssége csökkent ugyan, de nem tűnt el teljesen. Ezek a transzgenikus növények paprika foltosság vírus (pepper mottle potyvirus – PepMoV) és tarlórépa mozaik vírus (turnip mosaic potyvirus – TuMV) fertőzésekkel szemben fogékonyak voltak. A megfigyelhető aktuális állapotú (steady-state)

transzkriptumszint az erősebben rezisztens vonalaknál alacsonyabb volt, aminek kiváltója lehet egy szekvensspecifikus gazdanövény eredetű nukleáz működése, amely a transzgén RNS és a vírus RNS additív hatására lép működésbe (előzetes szisztemikus fertőzést igényelve). Nem zárható ki, hogy a magas transzkriptumszint önmagában is képes aktiválni a mechanizmust.

Dinant et al. (1993) saláta mozaik vírus (lettuce mosaic potyvirus – LMV) köpenyfehérjéggel transzformált *Xanthi* dohány-növényeket, majd ezeket PVY-nal fertőzték. A 34 vizsgált növényi vonalból 17 esetben mutattak ki CP-akkumulációt. Ezek a vonalak rezisztensek voltak PVY 'NV' (necrotic strain) fertőzéssel szemben, holott a PVY és az LMV CP-k közötti aminosav-homológia csupán 66%. A második generációból öt vonalat vizsgálva azt tapasztalták, hogy a növények ellenállóak voltak a PVY 'NV' és még négy másik PVY törzssel szemben is, ez a rezisztencia azonban fenotípusosan eltérően jelentkezett. Két vonalban teljes rezisztenciát tapasztaltak, két másik vonalban csupán szimptomakifejlődés-késést és -csökkenést, egy vonalban pedig a kontrollokhoz hasonló erősségű tüneteket figyeltek meg, melyek késve ugyan, de megjelentek.

Smith et al. (1995) PVY CP-vel transzformáltak burgonyanövényeket, melyek vizsgálata során fordított korrelációt figyeltek meg a köpenyfehérje-akkumuláció és a rezisztencia foka között. A nagyfokú ellenállóképességet kifejező vonalak több transzgén kópiát tartalmaztak és alacsony alapállapotú RNS-szinttel rendelkeztek, azonban feltételezték, hogy a rezisztencia függött a gazdasejt reakcióitól is.

Kollár et al. (1993) szintén PVY köpenyfehérjéggel transzformáltak *N. tabacum* növényeket. A CP-t expresszáló vonalak rezisztensek voltak PVY fertőzéssel szemben, és a vizsgálatok során kimutatták, hogy fordított korreláció található a rezisztencia hatékonysága és a CP expressziós szintje között. Hasonló eredményeket kaptak *van der Vlugt et al.* (1992) dohánynövények és PVY 'N' izolátum esetén.

PVY 'O' törzsének CP-génjével végeztek transzformációt *Lawson et al.* (1990), és azt tapasztalták, hogy a transzgénikus *Russet Burbank* burgonyanövények rezisztensek vol-

tak a PVY 'O' fertőzéssel szemben, míg a PVX-szel-szel szemben fogékonyak mutatkoztak.

Stark és Beachy (1989) szója mozaik vírus (soybean mosaic potyvirus – SMV) 'N' törzs CP-gént használtak fel dohánytranszformációkhoz. A transzgénikus növények ellenállóak voltak PVY-nal és TEV-vel szemben, míg TMV 'U1' fertőzés esetén fogékonyak mutatkoztak.

Fang és Grumet (1993) cukkini sárga mozaik vírus (zucchini yellow mosaic potyvirus – ZYMV) CP-t tartalmazó konstrukció felhasználásával hoztak létre ZYMV fertőzéssel szemben ellenállóságot sárgadinnyében.

Dohány érfoltosság vírus (tobacco vein mottling potyvirus – TVMV) CPMR-t váltottak ki *Murphy et al.* (1990) transzgénikus dohányvonalakban, melyekben nemcsak TVMV-vel szembeni ellenállóságot tapasztaltak, hanem TEV fertőzéssel szemben is bizonyos fokú rezisztenciát észleltek.

Tenuivirus csoport

Riszprotoplasztok elektroporációs transzformációjához *Hayakawa et al.* (1992) felhasználták a rizs csíkoság vírus (rice stripe tenuivirus – RSV) köpenyfehérjéjét, ezáltal RSV fertőzéssel szemben ellenálló növényeket kaptak. Minden egyes kalluszvonalból számos növényt regeneráltak. A transzgénikus növények magas szinten (0.5%-ban) expresszálták a CP-t az összes oldható fehérjéhez viszonyítva. A rezisztenciavizsgálatokat az utódnemzedékeken végezték. Az elsődlegesen transzformáltak öntermékenyítéséből származó utódnemzedék is expresszáta a köpenyfehérjét, és rezisztenciát is mutatott, jelezve, hogy a CP-gén és az ellenállóság átvihető az utódnemzedékekbe. A fertőzést kis barna levélbolhakkal végezték. Nyolc héttel a fertőzést követően a transzgénikus növényekből nem volt kimutatható a vírus által kódolt protein, ami arra utal, hogy a védekezésmechanizmus a víruszaporodás előtt lép fel. A nem transzgénikusok 80%-a, valamint a CP-t nem termelő transzgénikusok azonban 15 nappal a fertőzés után megfertőződtek.

Ez a tanulmány mutatott rá, hogy a köpenyfehérje által indukált rezisztencia jelen-

sége kiterjeszhető a gabonafélékre is, és olyan vírusok esetében is létrejöhet, amelyek csak rovarvektorokkal terjednek.

Tobamovírus csoport

Paradicsomtranszformációhoz használták fel *Sanders et al.* (1992), valamint *Nelson et al.* (1988) a TMV 'U1' törzs, illetve a paradicsom mozaik vírus (tomato mosaic tobamovirus – ToMV) CP-génjét. A TMV CP-vel transzgenikus növények rezisztensek voltak az 'U1' és egy súlyosabb károkat okozó, ún. 'PV 230'-as törzssel szemben, viszont ToMV fertőzés esetén fogékonyak mutatkoztak. A ToMV köpenyfehérjét hordozó vonalak védettek voltak ToMV fertőzéssel szemben. A CP-t alacsonyabb szinten expresszáló vonalak erősebb rezisztenciával rendelkeztek, mint a magasabb szinten expresszálók. A TMV CP és a ToMV CP-k közötti homológia eléri a 88%-ot, ez azonban a korábban tapasztaltaktól függetlenül mégsem eredményezett ellenállóságot a TMV CP–ToMV fertőzéssel szemben.

Clark et al. (1990) dohánynövényeket transzformáltak TMV CP-t tartalmazó konstrukciókkal. Egyik esetben promotérként a 35 S-t promotert használták, más konstrukciónál pedig az rbcS promotert, mely elsődlegesen a mezofillumsejtekben működik. A vizsgált transzgenikus növényvonalak eltérő rezisztenciával rendelkeztek, melyet a felhasznált promotér kimutathatóan befolyásolt. A 35 S esetében az ellenállóképesség a növény egészében erősebb volt, viszont a mezofillumsejtekben és a protoplasztikusérletekben nem találtak különbséget a rezisztencia szintje között.

Reimann-Philip és Beachy (1993) kimutatták, hogy a TMV köpenyfehérjéjével transzformált dohánynövényekben a rezisztencia kialakításához szükséges a CP. Tiszított vírus RNS-sel történt fertőzésnél az ellenállóképesség erőteljesen csökkent, de nem tűnt el teljesen. A köpenyfehérjét akkumuláló vonalak nem fertőződtek meg, míg a nem akkumuláló kisebb víruskoncentrációnál is megfertőződtek. A köpenyfehérje termelődése nemcsak TMV-vel szemben eredményezett rezisztenciát, hanem más, a tobamovírus csoportba tartozó rokon törzsekkel szemben is, ez viszont

függött a CP-k aminosav-homológiájától. A köpenyfehérje valószínűleg az RNS 5' végére kötődve gátolja a riboszómákhoz kötődését. A CP által kiváltott rezisztencia TMV esetében eltér a klasszikus keresztvédettség jellemzőitől, mivel abban az esetben közvetlen kapcsolata van a fertőző vírusnak a gyengített vírus köpenyfehérjéjével, illetve RNS-ével vagy valamely növényi védekezési reakcióval, míg CPMR esetében a dohány és a TMV kapcsolatban nem találtak speciális vagy általános növényi válaszreakciót.

Clark et al. (1995) is azt tapasztalták, hogy azok a transzgenikus dohánynövények, melyek a TMV 'U1' törzsének köpenyfehérjéjénél expresszálták, rezisztensek voltak több tobamovírusal szemben is. A fertőző vírus felületi fehérjei szerepének vizsgálatára mutáns TMV 'U1' konstrukciót hoztak létre, mely a kender mozaik vírus (sunhemp mosaic tobamovirus – SHMV) amino- vagy karboxiterminális régióját tartalmazta. A mutáns vírus nem törte át a TMV által előidézett rezisztenciát, viszont az a kimérazkonstrukció, melynek köpenyfehérjéjénje teljes mértékben az SHMV-től eredt, az SHMV-hez hasonló tüneteket idézett elő. Ez az eredmény az ellenállóság kialakításának szempontjából a transzgéntermék és a fertőző vírus aminosavszekvenciái közötti interakcióra utal, melyben valószínűleg nem a köpenyfehérje felületén található aminosavak játszanak fő szerepet.

Tobravirus csoport

Van Dun et al. (1987), *van Dun és Bol* (1988) dohány rattle vírus (tobacco rattle virus – TRV) 'TCM' törzsének köpenyfehérjéjénél használták fel *Samsun* dohánynövények transzformációjához. A cDNS a CP-n kívül tartalmazott szekvenciákat az 5' nem kódoló és a 3' nem kódoló régiókból is, több mint 400 nukleotidot. Ezt a 35 S promotér és a NOS terminátor közé építették be. A „CP+” vonalakban 0.05%-ban mutatták ki a köpenyfehérjét az összfehérjéhez viszonyítva. Ezekben a vonalakban enyhe nekrotizist figyeltek meg 1 µg/ml TRV 'TCM' fertőzést követően, viszont nem tudták kimutatni a TRV RNS-t. ezzel szemben a „CP-” növényekben nekrotikus foltok jelentek meg az

inokulált leveleken és súlyos nekrosis a szisztémikusan fertőződött száron és leveleken. A „CP+” vonalakat további vizsgálatokba bevonva fertőzték TRV 'PLB' törzssel, valamint borsó korai barnulás vírus (pea early browning tobnavirus) – PEBV-vel. A TRV 'TCM' és 'PLB' törzseinek köpenyfehérjei közötti aminosavszekvencia-homológia megközelítőleg 39%, és mindkét CP képes a másik törzs RNS-ének becsomagolására. A PEBV izolátum és a 'TCM' törzs között ennél nagyobb homológia nem található, ezért nem meglepő, hogy míg a „CP+” növények TRV 'PLB' fertőzéssel szemben érzékenyek voltak, addig PEBV-vel szemben rezisztensnek bizonyultak. Mindebből arra következtettek, hogy valószínűleg nem az RNS:CP interakció a köpenyfehérje által kiváltott rezisztencia fő hatásmechanizmusa, hiszen a két TRV képes a másik RNS-t becsomagolni, viszont védelmet nem nyújtottak egymással szemben.

Angent et al. (1990) TRV 'PLB' izolátum CP-génjével transzformáltak dohánynövényeket, melyek TRV 'PLB' fertőzéssel szemben rezisztensek voltak, TRV 'TCM' fertőzés esetén azonban fogékonyak.

Tombusvirus csoport

Dohánynövények transzformációjára használták fel a cymbidium gyűrűsfoltosság vírus (cymbidium ringspot tobusvirus – CymRSV) CP-génjét Rubino et al. (1993), melyek ezáltal védetté váltak CymRSV fertőzéssel szemben. A *N. benthamiana* növények csupán 0.05 µg/ml inokulumkoncentráció esetén voltak védettek, míg 0.5 vagy 5 µg/ml-nél már nem (csupán néhány napos szimptomakifejlődés-késést tapasztaltak), és *in vitro* szintetizált genomikus RNS-el történő fertőzés esetében sem. A rezisztencia szintje az alacsonytól a közepesig terjedt.

Tospovirus csoport

De Haan et al. (1992), valamint MacKenzie és Ellis (1992) a paradicsom foltoshervadás vagy bronzfoltosság vírus (tomato spotted wilt tospovirus – TSWN) N génjét használták fel dohánynövények transzformációjára. A vírus

negatív szálú RNS-t tartalmaz, melynek N génje képezi a nukleokapszidot. TSWV-vel történő fertőzést követően magas szintű rezisztenciát figyeltek meg thripsz átvitele esetén is, amely azonban más tospovírusokkal szemben nem működött, holott akár 80%-os homológia is előfordul az egyes vírusok között. 23 vonalból négyben transzlációdefektív transzgen volt, melyekben szintén nagyfokú rezisztenciát tapasztaltak. Megfigyelték, hogy a rezisztencia a nem transzlálódott N gén RNS-akkumulációjának függvényében változott, illetve függött a transzgen és a fertőző vírúsgén közötti homológia mértékétől.

Goldbach és Haan (1993) szintén TSWV N génnel transzformáltak növényeket, melyek thripsz általi fertőzéssel szemben is rezisztensek voltak. A transzlációdefektív transzgeneket hordozó vonalak is ellenállónak bizonyultak, mely eredmények az előzőekkel egybevágóan a rezisztencia RNS-függőségét bizonyítják.

Pang et al. (1993) TSWV 'BL' szensz és antiszensz nem transzlálódó N génekkel transzformáltak dohánynövényeket, melyek rezisztensek voltak homológ és közeli rokon izolátumokkal szemben, azonban távolabbi rokon tospovírusok esetében nem. Az így létrejövő RNS-függő rezisztencia azoknál a vonaloknál volt a leghatékonyabb, melyek alacsony szinten expresszálták az RNS-t. Protoplaztikáselektől levont következtetések alapján feltételezték, hogy az ellenállóság a replikáció gátlásából ered. Ellentétben a szensz RNS általi rezisztenciával, az antiszensz RNS-ek esetében a védelmi reakció függött az inokulumkoncentrációtól és a növény korától. A korábbi tapasztalatokhoz hasonlóan a homológ és a közeli rokon vírusokkal szembeni rezisztencia esetében alacsony szintű volt a transzlálható N gén expressziója, valamint nem volt kimutatható a fehérjetermék. Távolabbi rokon tospovírusok esetében a nagyobb N gén transzkriptumszinttel rendelkezők és az N proteint magas szinten expresszálók bizonyultak rezisztensnek.

Vaira et al. (1995) TSWV egyik olasz izolátumának N génjével transzformáltak *N. benthamiana* növényeket. A transzgenikus vonalakat tesztelték TSWV izolátumokkal és három másik tospovíussal szemben: földimogyoró rügynekrosis vírus (groundnut bud necrosis tospovirus – GBNV), földimogyoró

gyűrűsfoltosság vírus (groundnut ringspot tospovirus – GRSV), nebántsvirág nekrotikus-foltosság vírus (impatiens necrotic spot tospovirus – INSV). Tizenhárom vizsgált vonalból kettő bizonyult a többi TSWV izolátummal szemben rezisztensnek, azonban ezekben a növényekben a transzgen expresszió kisebb volt, mint bármelyik fogékony vonalban, és az N protein hiányzott, vagy nem volt detektálható. Más tospovírusokkal történő fertőzésekkel szemben viszont fogékonyak voltak, egyedül GRSV esetében tapasztaltak enyhébb szimptomákat. Azokban a vonalakban, melyek nagyobb mennyiségű proteint termeltek, két–három hetes késéssel fejlődtek ki a fertőzésre utaló tünetek legalább egy TSWV izolátummal szemben. Szintén késést vagy gyengülést észleltek INSV és/vagy GRSV által okozott tünetekben. Megfigyelték tehát, hogy a nagy N gén expresszió esetenként visszatarthatja a szimptomák kifejlődését TSWV és INSV-vel történő fertőzésnél, azonban a detektálható expresszió hiánya TSWV-specifikus rezisztenciát eredményez. *Pang et al.* (1993) kimutatták, hogy a TSWV rezisztencia az alacsony szinten expresszálóknál RNS-függő, míg a magas szinten expresszálóknál TSWV-vel és INSV-vel szemben proteinfüggő. *Gielen et al.* (1991) azonban nem találtak összefüggést a rezisztencia szintje és a fehérjetermék mennyisége között. Feltételezték, hogy a védettség RNS-függő. GRSV esetében a magas szinten expresszálóknál szimptomakifejlődés-késést tapasztaltak, míg a korábbi kutatási eredmények nem találtak összefüggést az expressziós szint és a rezisztencia között ennél a vírusnál. GBNV-vel szemben minden vonal fogékonyan bizonyult, ami valójában nem meglepő, mivel genetikailag távolabb helyezkedik el a TSWV-től.

Prins et al. (1995) transzgenikus dohány-növényeket állították elő olyan génkonstrukcióval, mely három tospovírus köpenyfehérjéjéit tartalmazta 35 S promóter és NOS terminációs foltosság vírus (tomato chlorotic spot tospovirus – TCSV) köpenyfehérjéket hordozó transzgenikus vonalak nagyfokú rezisztenciával rendelkeztek mindhárom vírussal szemben, ezáltal lehetőséget adva széles spektrumú rezisztencia kialakítására.

Burgyán et al. (1998) TSWV 'Hm' izolátumának nukleoprotein/N génjét építették be *Agrobacterium* segítségével dohány-növényekbe. Nyolcvankét független transzformáns vonalat kaptak, melyek közül nyolc bizonyult vírusellenállónak. Ezek a vonalak ismételt felülfertőzéssel szemben is immunisak voltak. A tesztelés TSWV 'Hm' izolátummal fertőzött dohány-növények szövetnedvével, mechanikai úton történt. 14 nappal ezt követően a növények fele a transzgenmentes kontrollokhöz hasonló tüneteket mutatott (erős szisztemikus mozaik, levéldeformáció, nekrotikus lokális léziók). Majd ezek a növények lassú ütemben el is pusztultak. 13 tünetmentes növényt újra inokuláltak, amelyekből öt vonal esetében két héttel később még nem, de egy hónap elteltével már lokális léziókat figyeltek meg, majd ezek egyre súlyosabb tünetekké fejlődtek. Így ezek vírusellenállósága részleges volt, míg a tünetmentes nyolc növényen két hónap elteltével sem alakultak ki a tünetek. A vírust is csupán a tünetes növényekből tudták kimutatni.

Köszönetnyilvánítás

*Köszönetet szeretnénk mondani
dr. Szilassy Dénesnek a kézirat átolvasásáért
és hasznos tanácsaiért.*

IRODALOM

- Anderson, E. J.–Stark, D. M.–Nelson, R. S.–Beachy, R. N.*: 1989. Transgenic plants that express the coat protein genes of tobacco mosaic virus or alfalfa mosaic virus interfere with disease development of some nonrelated viruses. *Phytopathology*, 79: 1284–1290.
- Angenent, G. C.–van den Ouweland, J. M.–Bol, J. F.*: 1990. Susceptibility to virus infection of transgenic tobacco plants expressing structural and nonstructural genes of tobacco rattle virus. *Virology*, 175: 191–198.
- Ares, X.–Calamante, G.–Cabral, S.–Lodge, J.–Hemenway, P.–Beachy, R. N.–Mentabery, A.*: 1998. Transgenic plants expressing potato virus X ORF 2 protein (p24) are resistant to tobacco mosaic virus and Ob tobmoviruses. *Journal of Virology*, 72: 731–738.

- Barker, H.–Reavy, B.–Kumar, A.–Webster, K. D.–Mayo, M. A.: 1992. Restricted virus multiplication in potatoes transformed with the coat protein gene of potato leafroll luteovirus: similarities with a type of host gene mediated resistance. *Ann. Appl. Biol.*, 120: 55–64.
- Baulcombe, D. C.: 1996. Mechanism of pathogen-derived resistance to viruses in transgenic plants. *The Plant Cell*, 8: 1833–1844.
- Baulcombe, D. C.–English, J. J.: 1996. Ectopic pairing of homologous DNS and post-transcriptional gene silencing in transgenic plants. *Current Opinion in Biotechnology*, 7: 173–180.
- Beachy, R. N.: 1990. Coat protein-mediated resistance against virus infection. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 28: 451–474.
- Bendahmane, M.–Fitchen, J. H.–Zhang, G.–Beachy, R. N.: 1997. Studies of coat protein-mediated resistance to tobacco mosaic tobamovirus: correlation between assembly of mutant coat proteins and resistance. *Journal of Virology*, 71: 7942–7950.
- Bertioli, D. J.–Cooper, J. I.–Edwards, M. L.–Hawes, W. S.: 1992. Arabis mosaic nepovirus coat protein in transgenic tobacco lessens disease severity and virus replication. *Ann. Appl. Biol.*, 120: 47–54.
- Bevan, M. W.–Mason, S. E.–Goelet, P.: 1985. Expression of tobacco mosaic virus coat protein by a cauliflower mosaic virus promoter in plants transformed by *Agrobacterium*. *EMBO J.*, 4: 1921–1926.
- Bourdin, D.–Lecoq, H.: 1991. Evidence that heteroencapsidation between two potyviruses is involved in aphid transmission of a non-aphid-transmissible isolate from mixed infections. *Phytopathology*, 11: 1459–1464.
- Brault, V.–Candresse, T.–le Gall, O.–Delbos, R. P.–Lanneau, M.–Dunez, J.: 1993. Genetically engineered resistance against grapevine chrome mosaic nepovirus. *Plant Mol. Biol.*, 21: 89–97.
- Brigneti, G.–Voinnet, O.–Li, W. X.–Ji, L. H.–Ding, S. W.–Baulcombe, D. C.: 1998. Viral pathogenicity determinants are suppressors of transgene silencing in *Nicotiana benthamiana*. *EMBO J.*, 17: 6739–6746.
- Burgván J.–Perkátá, K.–Salamon P.–Havelda, Z.: 1998. A paradicsom foltoshervadás-vírus hazai izolátumának molekuláris jellemzése és vírusrezisztens dohány előállítására genetikai transzformációval. *Növényvédelem*, 11: 607–612.
- Candelier-Harvey, P.–Hull, R.: 1993. Cucumber mosaic virus genome is encapsidated in alfalfa mosaic virus coat protein expressed in transgenic tobacco plants. *Transgenic Research*, 2: 277–285.
- Cassidy, B. G.–Nelson, R. S.: 1995. Differences in protection phenotypes in tobacco plants expressing coat protein genes from peanut stripe potyvirus with or without an engineered ATG. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 8: 357–365.
- Chia, T. F.–Chan, Y. S.–Chua, N. H.: 1992. Characterization of cymbidium mosaic virus coat protein gene and its expression in transgenic tobacco plants. *Plant Mol. Biol.*, 18: 1091–1099.
- Chowrira, G. M.–Cavileer, T. D.–Gupta, S. K.–Lurquin, P. F.–Berger, P. H.: 1998. Coat protein-mediated resistance to pea enation mosaic virus in transgenic *Pisum sativum* L. *Transgenic Res.*, 7: 265–271.
- Clark, W. G.–Register, J. C.–Nejdat, A.–Eichholtz, D. A.–Sanders, P. R.–Fraleay, R. T.–Beachy, R. N.: 1990. Tissue-specific expression of the TMV coat protein in transgenic tobacco plants affects the level of the coat protein-mediated virus protection. *Virology*, 179: 001–008.
- Clark, W. G.–Fitchen, J.–Nejdat, A.–Deom, C. M.–Beachy, R. N.: 1995. Studies of coat protein-mediated resistance to tobacco mosaic virus (TMV). II. Challenge by a mutant with altered virion surface does not overcome resistance conferred by TMV coat protein. *J. of General Virology*, 76: 2613–2617.
- Cuozzo, M.–O'Connell, K. M.–Kaniewski, W.–Fang, R. X.–Chua, N. H.–Tumer, N. E.: 1988. Viral protection in transgenic tobacco plants expressing the cucumber mosaic virus coat protein or its antisense RNA. *Bio/Tecnology*, 6: 549–555.
- Da Camara Machado, M. L.–da Camara Machado, A.–Mattanovich, D.–Regner, F.–Hanzer, V.–Durniok, B.–Steinkeller, H.–Himmler, G.–Katinger, H.: 1990. Expression of the plum pox coat protein in *Nicotiana clevelandii*. *Acta Horticulturae*, 280: 577–580.
- Da Camara Machado, L. M.–da Camara Machado, A.–Hanzer, V.–Weiss, H.–Regner, F.–Steinkeller, H.–Mattanovich, D.–Plail, R.–Knapp, E.–Kalthoff, B.–Katinger, H.: 1992. Regeneration of transgenic plants of *Prunus armeniaca* containing the coat protein gene of Plum pox virus. *Plant Cell Reports*, 11: 25–29.

- De Haan, P.–Gielen, J. J.–Prins, M.–Wijkmp, I. G.–van Schepen, A.–Peters, D.–van Grinsven, M. Q.–Goldbach, R.: 1992. Characterization of RNA-mediated resistance to tomato spotted wilt virus in transgenic tobacco plants. *Bio/Technology* (N Y), 10: 1133–1137.
- Dinant, S.–Balise, F.–Kuziak, C.–Astier–Manificier, S.–Albouy, J.: 1993. Heterologous resistance to potato virus Y in transgenic tobacco plants expressing the coat protein gene of lettuce mosaic virus. *Phytopathology* 83: 818–824.
- Dougherty, W. G.–Lindbo, J. A.–Smith, H. A.–Parks, T. D.–Swaney, S.–Proebsting, W. M.: 1994. RNA-mediated virus resistance in transgenic plants: exploitation of a cellular pathway possibly involved in RNA degradation. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 7: 544–552.
- Fang, G.–Grumet, R.: 1993. Genetic engineering of potyvirus resistance using constructs derived from zucchini yellow mosaic virus coat protein gene. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 6: 358–367.
- Farinelli, L.–Malnoe, P.–Collet, G. F.: 1992. Heterologous encapsidation of potato virus Y strain O (PVY^O) with the transgenic coat protein of PVY strain N (PVY^N) in *Solanum tuberosum* cv. *Bintje*. *Bio/Technology*, 10: 1020–1025.
- Farinelli, L.–Malnoe, P.: 1993. Coat protein gene-mediated resistance to potato virus Y in tobacco: examination of the resistance mechanisms -is the transgenic coat protein required for protection? *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 6: 284–292.
- Fehér, A.–Skyrabin, K. G.–Balázs, E.–Preiszner, J.–Shulga, O. A.–Zakharyev, V. M.–Dudits, D.: 1992. Expression of PVX coat protein gene under the control of extensin-gene promoter confers virus resistance on transgenic potato plants. *Plant Cell Rep.*, 11: 48–51.
- Fitch, M. M. M.–Manshardt, R. M.–Gonsalves, D.–Slightom, J. L.–Sanford, J. C.: 1992. Virus resistant papaya plants derived from tissues bombarded with the coat protein gene of papaya ringspot virus. *Bio/Technology*, 10: 1466–1472.
- Gielen, J. J. L.–De Haan, P.–Kool, A. J.–Peters, D.–Van Grinsven, M. W. J. M.–Goldbach, R. W.: 1991. Engineered resistance to tomato spotted wilt virus, a negative-strand RNA virus. *Bio/Technology*, 9: 1363–1367.
- Goldbach, R.–de Haan, P.: 1993. Prospects of engineered forms of resistance against tomato spotted wilt virus. *Seminars in Virology*, 4: 381–387.
- Gonsalves, D.–Chee, P.–Provvidenti, R.–Seem, R.–Slightom, J. L.: 1992. Comparison of coat protein-mediated and genetically-derived resistance in cucumbers to infection by cucumber mosaic virus under field conditions with natural challenge inoculations by vectors. *Bio/Technology*, 10: 1562–1570.
- Gonsalves, D.–Slightom, J. L.: 1993. Coat protein-mediated protection: analysis of transgenic plants for resistance in a variety of crops. *Seminars in Virology*, 4: 397–405.
- Halk, E. L.–Merlo, D. J.–Liao, L. W.–Jarvis, N. P.–Nelson, S. E.: 1989. Resistance to alfalfa mosaic virus in transgenic tobacco and alfalfa. In: Staskawicz, B., Ahlquist, P., Yolder, O. (eds.) *Molecular biology of plant-pathogen interactions*, Alan R. Liss, New York.
- Hammond, J.–Kamo, K. K.: 1995. Effective resistance to potyvirus infection conferred by expression of antisense RNS in transgenic plants. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 8: 674–682.
- Hayakawa, T.–Zhu, Y.–Itoh, K.–Kimura, Y.–Izawa, T.–Shimanoto, K.–Toryama, S.: 1992. Genetically engineered rice resistant to rice stripe virus, an insecttransmitted virus. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 89: 9865–9869.
- Hemenway, C.–Fang, R. X.–Kaniewski, W. K.–Chua, N. H.–Tumer, N. E.: 1988. Analysis of the mechanism of protection in transgenic plants expressing the potato virus X coat protein or its antisense RNA. *EMBO J.*, 7: 1273–1280.
- Hill, K. K.–Jarvis–Eagan, N.–Halk, E. L.–Krahn, K. J.–Liao, L. W.–Mathewson, R. S.–Merlo, D. J.–Nelson, S. E.–Rakha, K. E.–Loesch–Fries, L. S.: 1991. The development of virus resistant alfalfa, *Medicago sativa* L. *Bio/Technology*, 8: 373–377.
- Hoekema, A.–Huisman, M. J.–Molendijk, L.–van den Elzen, P. J. M.–Cornelissen, B. J. C.: 1989. The genetic engineering of two commercial potato cultivars for resistance to potato virus X. *Bio/Technology*, 7: 273–278.
- Jongedijk, E.–de Schutter, A. A. J. M.–Stolte, T.–van den Elzen, P. J. M.–Cornelissen, B. J. C.: 1992. Increased resistance to potato virus X and preservation of cultivar properties in transgenic potato under field conditions. *Biol/Technology*, 10: 422–429.

- Kallerhoff, J.–Perez, J.–Bouzoubaa, S.–Bentahar, S.–Perret, J.: 1990. Beet necrotic yellow vein virus coat protein-mediated protection in sugarbeet (*Beta vulgaris*) protoplasts. *Plant Cell Rep.*, 9: 224–228.
- Kaniewski, W.–Lawson, C.–Sammons, B.–Haley, L.–Hart, J.–Delannay, X.–Turner, N. E.: 1990. Field resistance of transgenic *Russet Burbank* potato to effects of infection by potato virus X and potato virus Y. *Bio/Technology*, 8: 750–754.
- Kawchuk, L. M.–Martin, R. R.–McPherson, J.: 1990. Resistance in transgenic potato expressing the potato leafroll virus coat protein gene. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 3: 301–307.
- Kollár, Á.–Thole, V.–Dalmay, T.–Salamon, P.–Balázs, E.: 1993. Efficient pathogen-derived resistance induced by integrated potato virus Y coat protein gene in tobacco. *Biochimie*, 75: 623–629.
- Kunik, T.–Salomon, R.–Zamir, D.–Navot, N.–Zeidan, M.–Michelson, I.–Gafni, Y.–Chosnek, H.: 1994. Transgenic tomato plants expressing the tomato yellow leaf curl virus capsid protein are resistant to the virus. *Bio/Technology*, 5: 500–504.
- Lawson, C.–Kaniewski, W.–Haley, L.–Rozman, R.–Newell, C.–Sanders, P.–Turner, N.: 1990. Engineering resistance to mixed virus infection in a commercial potato cultivar: resistance to potato virus X and potato virus Y in transgenic *Russet Burbank*. *Bio/Technology*, 8: 127–134.
- Leclerc, D.–AbouHaidar, M. G.: 1995. Transgenic tobacco plants expressing a truncated form of the PAMV capsid protein (CP) gene show CP-mediated resistance to potato aucuba mosaic virus. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 1: 58–65.
- Lindbo, J. A.–Dougherty, W. G.: 1992. Untranslatable transcripts of the tobacco etch virus coat protein gene sequence can interfere with tobacco eth virus replication in transgenic plants and protoplasts. *Virology*, 189: 725–733.
- Lindbo, J. A.–Silva-Rosales, L.–Dougherty, W. G.: 1993/a. Pathogen derived resistance to potyviruses: working, but why? *Seminars in Virology*, 4: 369–379.
- Lindbo, J. A.–Silva Rosales, L.–Proebsting, W. M.–Dougherty, W. G.: 1993/b. Induction of highly specific antiviral state in transgenic plants: Implications for regulation of gene expression and virus resistance. *Plant Cell*, 5: 1749–1759.
- Ling, K.–Namba, S.–Gonsalves, C.–Slightom, J. L.–Gonsalves, D.: 1991. Protection against detrimental effects of potyvirus infection in transgenic tobacco plants expressing the papaya ringspot virus coat protein gene. *Bio/Technology*, 9: 752–758.
- Loesch-Fries, L. S.–Merlo, D.–Zinnen, T.–Burhop, L.–Hill, K.–Krahn, K.–Jarvis, N.–Nelson, S.–Halk, E.: 1987. Expression of alfalfa mosaic virus RNA 4 in transgenic plants confers virus resistance. *EMBO J.*, 6: 1845–1851.
- MacKenzie, D. J.–Tremaine, J. H.: 1990. Transgenic *Nicotiana debneyi* expressing viral coat protein are resistant to potato virus S infection. *J. Gen. Virology*, 71: 2167–2170.
- MacKenzie, D. J.–Tremaine, J. H.–Pherson, J.: 1991. Genetically engineered resistance to potato virus S in potato cultivar *Russet Burbank*. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 4: 95–102.
- MacKenzie, D. J.–Ellis, P. J.: 1992. Resistance to tomato spotted wilt virus infection in transgenic tobacco expressing the viral nucleocapsid. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 5: 34–40.
- McKinney, H. H.: 1929. Mosaic disease in the Canary Islands, West Africa and Gibraltar. *Journal of Agricultural Research*, 39: 557–558.
- Murphy, J. F.–Hunt, A. G.–Rhoads, R. E.–Shaw, J. G.: 1990. Expression of potyviral genes in transgenic tobacco plants. *Abstr. VIII. Int. Congr. Virol. Berlin*, aug. 26–31. P84–007.
- Murry, L. E.–Elliot, L. G.–Capitant, S. A.–West, J. A.–Hanson, K. K.–Scarafia, L.–Johnston, S.–DeLuca-Flathery, C.–Nichols, S.–Cuanan, D.–Dietrich, P. S.–Mettler, S. D.–Warnick, D. A.–Rhodes, C.–Shinibaldi, R. M.–Brunke, K. J.: 1993. Transgenic corn plants expressing MDMV strain B coat protein are resistant to mixed infections of maize dwarf mosaic virus and maize chlorotic mottle virus. *Bio/Technology*, 11: 1559–1564.
- Nakajima, M.–Hayakawa, T.–Nakamura, I.–Suzuki, M.: 1993. Protection against cucumber mosaic virus (CMV) strains O and Y and chrysanthemum mild mottle virus in transgenic tobacco plants expressing CMV–O coat protein. *J. Gen. Virol.*, 74: 319–322.
- Namba, S.–Ling, K.–Gonsalves, C.–Gonsalves, D.–Slightom, J. L.: 1991. Expression of the gene encoding the coat protein of cucumber mosaic virus (CMV) strain WL appears to provide protection to tobacco plants against infection by several different CMV strains. *Gene*, 107: 181–188.

- Namba, S.–Ling, K.–Gonsalves, C.–Gonsalves, D.–Slightom, J. L.: 1992. Protection of transgenic plants expressing the coat protein gene of watermelon mosaic virus II or zucchini yellow mosaic virus against six potyviruses. *Phytopathology*, 82: 940–946.
- Nejidat, A.–Beachy, R. N.: 1990. Transgenic tobacco plants expressing a coat protein gene of tobacco mosaic virus are resistant to some other tobamoviruses. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 3: 247–251.
- Nelson, R. S.–McCormick, S. M.–Delannay, X.–Dubé, P.–Layton, J.–Anderson, E. J.–Kaiewski, M.–Prosch, R. K.–Horsch, R. B.–Rogers, S. G.–Fraley, R. T.–Beachy, R. N.: 1988. Virus tolerance, plant growth and field performance of transgenic tomato expressing coat protein from tobacco mosaic virus. *Bio/Technology*, 6: 403–409.
- Okuno, T.–Nakayama, M.–Yoshida, S.–Furusawa, I.–Koyima, T.: 1993. Comparative susceptibility of transgenic tobacco plants expressing the coat protein gene of cucumber mosaic virus to infection with virions and RNA. *Phytopathology*, 83: 542–547.
- Palkovics, L.–Wittner, A.–Balázs, E.: 1995. Pathogen-derived resistance induced by integrating the plum pox virus coat protein gene into plants of *Nicotiana benthamiana*. *Acta Horticulturae*, 386: 311–317.
- Palukaitis, P.–Zaitlin, M.: 1984. A model to explain the „crossprotection“ phenomenon shown by plant viruses and viroids, in „Plant-Microbe Interactions. Molecular and Genetic Perspectives.“ Vol. 1. (T. Kosuge and E. W. Nester, eds.) Macmillan publishing company, New York. pp. 420–429.
- Pang, S. Z.–Slightom, J. L.–Gonsalves, D.: 1993. Different mechanisms protect transgenic tobacco against tomato spotted wilt and impatiens necrotic spot potyviruses. *Bio/Technology*, 11: 819–824.
- Powell-Abel, P.–Nelson, R. S.–De, B.–Hoffmann, N.–Rogers, S. G.–Fraley, R. T.–Beachy, R. N.: 1986. Delay of disease development in transgenic plants that express the tobacco mosaic virus coat protein gene. *Science*, 232: 738–743.
- Prins, M.–de Haan, P.–Luyten, R.–van Heller, M.–van Grinsven, M. Q. J. M.–Goldbach, R.: 1995. Broad resistance to tospoviruses in transgenic tobacco plants expressing three tospoviral nucleoprotein sequences. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 1: 85–91.
- Quemada, H. D.–Gonsalves, D.–Slightom, J. L.: 1991. Expression of coat protein gene from cucumber mosaic virus strain C in tobacco: Protection against infection by CMV strains transmitted mechanically or aphids. *Phytopathology*, 81: 794–802.
- Ravelonandro, M.–Monson, M.–Delbos, R.–Dunez, J.: 1993. Variable resistance to plum pox virus and potato virus Y infection in transgenic *Nicotiana* plants expressing plum pox virus coat protein. *Plant Science*, 91: 157–169.
- Regner, F.–da Camara Machado, A.–da Camara Machado, M. L.–Steinkeller, H.–Mattanovich, D.–Hanzer, H.–Weiss, H.–Katinger, H.: 1992. Coat protein mediated resistance to plum pox virus in *Nicotiana glauca* and *N. benthamiana*. *Plant Cell Rep.*, 11: 30–33.
- Reimann–Philip, U.–Beachy, R. N.: 1993. The mechanism(s) of coat protein-mediated resistance against tobacco mosaic virus. *Seminars in Virology*, 6: 349–357.
- Rubino, L.–Capriotti, G.–Lupo, R.–Russo, M.: 1993. Resistance to cymbidium ringspot tobravirus infection in transgenic *Nicotiana benthamiana* plants expressing the virus coat protein gene. *Plant Mol. Biol.*, 21: 665–672.
- Sanders, P. R.–Sammons, B.–Kaniewski, W.–Haley, L.–Layton, J.–Lavalley, B. J.–Delannay, X.–Tumer, N. E.: 1992. Field resistance of transgenic tomatoes expressing the tobacco mosaic virus or tomato mosaic virus coat protein genes. *Phytopathology*, 82: 683–690.
- Sanford, J. C.–Johnston, S. A.: 1985. The concept of pathogen derived resistance: Deriving resistance genes from the parasites own genome. *J. Theor. Biol.*, 113: 395–405.
- Scorza, R.–Cordts, J. M.–Mante, S.–Gonsalves, D.–Damsteegt, V. D.–Yepes, L. M.–Slightom, J. L.: 1991. Agrobacterium-mediated transformation of plum (*Prunus domestica* L.) with the coat protein gene of papaya ringspot virus. *Third Int. Congr. Plant Mol. Biol.* 6–11. Oct. 1991. Tuscon, AZ. abstract 1167.
- Scorza, R.–Ravelonandro, M.–Callahan, A. M.–Cordts, J. M.–Fuchs, M.–Dunez, J.–Gonsalves, D.: 1994. Transgenic plums (*Prunus domestica* L.) express the plum pox virus coat protein gene. *Plant Cell Reports*, 14: 18–22.
- Scorza, R.–Hammeschlag, F. A.–Zimmerman, T. W.–Cordts, J. M.: 1995. Genetic transformation in *Prunus persica* (peach) and *Prunus domestica* (plum). in *Bio/Technology*, in *Agriculture and Forestry*, 34: 255–268.

- Smith, H. A.–Powers, H.–Swaney, S. L.–Brown, C.–Dougherty.: 1995. Transgenic potato virus Y resistance in potato: Evidence for an RNA-mediated cellular response. *Phytopathology*, 85: 864–870.
- Stark, D. M.–Beachy, R. N.: 1989. Protection against potyvirus infection in transgenic plants: evidence for a broad spectrum resistance. *Bio/Technology*, 7: 1257–1262.
- Tacke, E.–Salamini, F.–Rohde, V.: 1996. Genetic engineering of potato for broad-spectrum protection against virus infection. *Nat. Biotechnology*, 14: 1579–1601.
- Tepfer, M.–Balázs, E. (eds): *Virus-resistant Transgenic Plants: Potential Ecological Impact*. 1997. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, INRA Paris.
- Tumer, N. E.–O'Connell, K. M.–Nelson, R. S.–Sanders, P. R.–Beachy, R. N.–Fraleigh, R. T.–Shah, D. M.: 1987. Expression of alfalfa mosaic virus coat protein gene confers cross-protection in transgenic tobacco and tomato plants. *EMBO J.*, 6: 1181–1188.
- Tumer, N. E.–Kaniewski, W.–Haley, L.–Gehrke, L.–Lodge, J. K.–Sanders, P.: 1991. The second amino acid of alfalfa mosaic virus coat protein is critical for coat protein-mediated protection. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 88: 2331–2335.
- Vaira, A. M.–Semeria, L.–Crespi, S.–Lisa, V.–Allavena, A.–Accotto, G. P.: 1995. Resistance to tospoviruses in *Nicotiana benthamiana* transformed with the N gene of tomato spotted wilt virus: Correlation between transgene expression and protection in primary transformants. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 1: 66–73.
- Van der Vlugt, R. A. A.–Ruiter, K. R.–Goldbach, R.: 1992. Evidence for sense RNA-mediated protection to PVY^N in tobacco plants transformed with the viral coat protein cistron. *Plant Mol. Biol.*, 20: 631–639.
- Van der Wilk, F. P.–L.–Willink, D.–Huisman, M. J.–Huttinga, H.–Goldbach, R.: 1991. Expression of potato leafroll luteovirus coat protein gene in transgenic potato plants inhibits viral infection. *Plant Mol. Biol.*, 17: 431–439.
- Van Dun, C. M. P.–Bol, J. F.–van Vloten-Doting, L.: 1987. Expression of alfalfa mosaic virus and tobacco rattle virus coat protein genes in transgenic tobacco plants. *Virology*, 159: 229–305.
- Van Dun, C. M. P.–Bol, J. F.: 1988. Transgenic tobacco plants accumulating tobacco rattle virus coat protein resist infection with tobacco rattle virus and pea early browning virus. *Virology*, 167: 649–652.
- Van Dun, C. M. P.–Overduin, B.–van Vloten-Doting, L.–Bol, J.: 1988. Transgenic tobacco expressing tobacco streak virus or mutated alfalfa mosaic virus coat protein does not cross-protect against alfalfa mosaic virus infection. *Virology*, 164: 383–389.
- Wilson, T. M. A.: 1993. Strategies to protect crop plants against viruses: Pathogen-derived resistance blossoms. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 90: 3134–3141.
- Yushibov, V.–Loesch–Fires, L. S.: 1995. High-affinity RNA-binding domains of alfalfa mosaic virus coat protein are not required for coat protein-mediated resistance. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 92: 8980–8984.

Érkezett: 2000. 05. 10.

A szerzők levélcíme – Address of the authors:

Józsa Rita–Dr. Balázs Ervin
Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont
Gödöllő
Szent-Györgyi A. u. 4.
H–2100