B 3695

A KÖRNYEZET KÖTÖTT NITROGÉN KONCENTRÁCIÓJÁNAK A BAKTERIÁLIS *SYRM* ÉS *NTRR* GÉNEK ÁLTAL KÖZVETÍTETT SZABÁLYOZÓ SZEREPE A SZIMBIOTIKUS NITROGÉNKÖTÉS EGYES SZAKASZAIBAN

PhD értekezés tézisei

Készítette:

Kissné Oláh Boglárka

MTA Szegedi Biológiai Központ

Genetikai Intézet

Témavezető:

Dr. Dusha Ilona

Szeged, 2000

BEVEZETÉS

A föld nitrogén készletének jelentős része gáz halmazállapotú, amelyet az élőlények túlnyomó többsége nem képes közvetlenül hasznosítani. A talaj alacsony nitrogéntartalmának más élőlény számára is felhasználható kötött formában való utánpótlására a légkörből csupán bizonyos prokarióta mikroorganizmusok képesek, amelyek a molekuláris nitrogént ammóniává redukálják, növelve a talaj hasznosítható nitrogéntartalmát. Ezek egy része szabadon élve (pl. *Klebsiella*), míg az *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mezorhizobium*, *Rhizobium* és *Sinorhizobium* fajok elsősorban a *Leguminosae* családba tartozó növényekkel szimbiózisban képesek a légköri nitrogén megkötésére.

A *Rhizobiumok* pillangós virágú növényekkel kialakított szimbiózisának és ezen keresztül a levegő nitrogénjének biológiai úton történő hatékony megkötésének megismerése egyrészt elméleti szempontból rejt számos érdekességet (pl. a két, rendszertanilag igen távol álló szervezet közötti kommunikáció molekuláris mechanizmusának feltárása), másrészt gyakorlati szempontból is kiemelkedő jelentőségű.

A termőterületek intenzív mezőgazdasági tevékenység miatti nitrogén veszteségét napjainkban műtrágyázással pótolják. Ez azonban csak rövidtávon nyújthat megoldást, hiszen ez a módszer igen költséges, és nagymértékben károsítja a környezetet. A talajból az élővizekbe mosódó nitrogén-sók tönkreteszik azok élővilágát, szennyezik az ivóvíz készleteket, és a tavak eutrofizációjához vezetnek. Ezzel ellentétben a biológiai nitrogénkötés teljesen környezetbarát, a szimbiózist létesítő nitrogénkötő baktériumok ugyanis képesek a teljes nitrogénszükséglet folyamatos ellátására, szükségtelenné téve a műtrágyázást.

Ahhoz azonban, hogy a biológiai úton történő nitrogénellátást tetszés szerinti széles körben megvalósíthassuk, a természetes folyamat pontos megismerése szükséges. Így érthető, hogy a biológiai kutatások egy része a nitrogénkötés megismerésére, ezen belül a szimbiotikus nitrogénkötés fokozásának és kiterjesztésének lehetőségeire irányul.

A szimbiózis kialakulása és fenntartása igen bonyolult folyamat, melynek alapfeltétele a két szimbionta, esetünkben a *Sinorhizobium meliloti*, és gazdanövénye, a *Medicago sativa* (lucerna) génjeinek tér- és időbeni összehangolt működése, amelyet a baktérium és gazdanövénye közötti, jelmolekulák cseréjén alapuló kommunikáció biztosít.

A felismerés első lépéseként a növény gyökeréből a talajba kibocsátott flavonoid típusú vegyületek a szabadon élő *Rhizobium* fajok kemotaxisát, valamint gümőképzési, más néven nodulációs (*nod*) génjeiknek működését váltják ki. A *nod* gének által kódolt fehérjék a növény számára válaszjelül szolgáló lipokito-oligoszacharid típusú molekulák, a Nod-faktorok szintéziséért felelősek, amely molekulák a gyökérszőrök görbülését, a kortikális sejtek osztódását, és ez által a gyökérgümő fejlődésének iniciálását okozzák. A gyökérszőrön megtapadt baktériumok a növényi sejtfal anyagokból álló, ún. infekciós fonálon keresztül hatolnak be a gyökérbe. A sikeres inváziióhoz további bakteriális szignál molekulák szükségesek, melyek közül az egyik legfontosabb a savas exopoliszacharid (EPSI, vagy szukcinoglükán). Az EPSI szintéziséért, szerkezetének módosításáért, polimerizációjáért valamint transzportjáért az *exo* gének termékei felelősek.

A gyökérgümő a nitrogénkötéshez szükséges, speciális környezetet biztosít a mikroszimbionta számára. A bakteroidokat a növény citoplazmájában egy növényi sejtfal eredetű, ún. peribakteroid membrán (PBM) veszi körül. A nitrogén megkötését a bakteroid nitrogenáz enzimkomplexe végzi, mely működéséhez speciális, alacsony oxigén tenziójú környezetet igényel. A baktérium által megkötött nitrogén ammóniumion formájában jut a növény citoszoljába, ahol aminosavakba beépülve asszimilálódik.

A gümő nitrogén metabolizmusa szoros kapcsolatban áll a szén anyagcserével, mely feladata a bakteroid nitrogénkötéséhez nélkülözhetetlen szén- és energiaforrás biztosítása.

A szimbiotikus nitrogénkötés kialakulását és fennmaradását több tényező is befolyásolja, melyek közül az egyik leglényegesebb a talaj kötött nitrogén tartalma, melynek emelkedése a szimbiózis több folyamatára nézve is gátló hatású.

KUTATÁSI ELŐZMÉNYEK

A dolgozatomban leírt munka a csoportunk által elkezdett kutatási téma egy részének folytatása. A teljes program a szimbiotikus gümő fejlődésében szerepet játszó szignálmolekulák, és a szintézisüket szabályozó bakteriális regulátor gének izolálása és jellemzése, valamint a környezeti tényezők általi szabályozásuk vizsgálata.

Az első bakteriális jelmolekula, a Nod-faktor termeléséért felelős *nod* gének szabályozásában a *syrM* gén fontos szerepet tölt be, mely a *nodD3* gén közreműködésével valósul meg (Maillet és mtsai, 1990; Kondorosi és mtsai, 19991b; Swanson és mtsai, 1993), így a *syrM* is részt vesz a *nod* gének *ntr* rendszer és *nodD3* által közvetített, környezeti nitrogén szint szerinti regulációjában (Dusha és Kondorosi, 1993). Az *S. meliloti* és a lucerna kapcsolatában legfontosabb flavonoid, a luteolin feltehetően szintén befolyásolja a *syrM-nodD3* gének expresszióját, mivel nitrogén éheztetés mellett indukálja a *nodD3* transzkripcióját (Dusha és mtsai, 1989).

A *syrM* génről megfigyelések alapján feltételezni lehetett, hogy túl a *nod* gének szabályozásán, valószínűleg részt vesz a szimbiózis későbbi folyamatainak regulációjában is. A *syrM* mutáns *S. meliloti* 41 és 1021 törzsek (Kondorosi és mtsai, 1991b, Dusha és mtsai, 1999) a vadnál később, és kevesebb gümőt indukálnak a gazdanövény gyökerén, amely jelenség kötött nitrogén jelenlétében is megfigyelhető (Dusha és mtsai, 1999). Ez a hatás azonban nem a *nod* gének alacsonyabb szintű transzkripciójának eredménye, hiszen a *nodABC-lacZ* fúzió a vad háttérben mérthez hasonló szinten fejeződik ki a *syrM* mutánsban is (Dusha és Kondorosi, 1993). Feltételezték, hogy a *syrM* részt vesz az invázió folyamatában is, amelyet alátámasztottak Mulligan és Long (1985) eredményei is, akik azt tapasztalták, hogy a *syrM-nodD3-syrA* régió bejuttatása a baktériumba mukoid fenotípust, azaz megnövekedett mennyiségű EPS termelést eredményez. Tn5 inszerció a *syrM* vagy *syrA* génben az eredeti fenotípus helyreállásához vezetett. Kísérleteik alapján feltételezték, hogy a SyrM a *syrA* génen keresztül hathat egyes *exo* génekre, ill. az EPSI szintézisre (Barnett és mtsai, 1998). Kimutatták, hogy az invázióban részt vevő baktériumok jelenléte, illetve tisztított Nod-faktor adása a növény fenilpropnoid bioszintézis útjának indukcióját váltják ki (Savouré és mtsai, 1994), amely a *nod* gének pozitív regulációjában szerepet játszó flavonoid vegyületek termelését is magában foglalja (Dakora és mtsai, 1993). Feltételezik, hogy ez a hatás szerepet játszik a szimbiózis kialakulásának későbbi folyamatainak, feltehetően a baktérium inváziónak pozitív szabályozásában is. Valószínűleg a luteolin a további, invázióhoz szükséges bakteriális szignálmolekuláknak, mint például az EPSI szintézisének a regulációjában is részt vesz.

Mivel úgy tűnt, hogy a *syrM* a *nod* és *exo* gének közös szabályozója, felmerült a a *syrM-nodD3* páros közvetítő szerepe az *exo* gének expressziójának nitrogén és luteolin általi szabályozásában is, csakúgy, mint a *nod* gének esetében. Csoportunk ezért célul tűzte ki az *S. meliloti* EPSI termelésének nitrogén és luteolin általi szabályozásának, valamint a *syrM* ezen folyamatokban betöltött esetleges regulátor szerepének vizsgálatát.

Munkám kezdetekor a következő eredmények voltak ismertek:

-vad típusú baktériumban mind a nitrogén, mind a luteolin befolyásolja a termelődő EPSI mennyiségét és minőségét, valamint, hogy ezekben a folyamatokban a *syrM* is részt vesz.

A vad típusú és a *syrM* mutáns törzs EPSI termelésének kromatográfiás vizsgálatát Dr. Dusha Ilona és dr. Borzi Miklósné végezték.

Az első bakteriális jelmolekula, a Nod-faktor termelése a talaj kötött nitrogén szintjének szabályozása alatt áll: a *nod* gének kifejeződése gátolt magas nitrogén koncentráció jelenlétében (Dusha és mtsai, 1989). Csoportunk egy kísérlet sorozatban a Nod-faktor szignálmolekula szintézisének regulációját és a nitrogén represszió hatását tanulmányozva egy Tn5 mutagenezis eredményeképpen izolálta az *S. meliloti* 399 törzset, melyben a *nodABC* és *nodD3* gének még magas ammónium koncentráció mellett is kifejeződnek (Dusha és mtsai, 1989). A génről (*ntrR*), amelyet a mutáció érintett, feltételezték, hogy egy represszor molekulát kódol. Növényi tesztben azt az eredményt kapták, hogy mind nitrogén éheztetéskor, mind pedig ammónium szulfát jelenlétében a mutáns törzs a vadnál előbb, és nagyobb számban indukál gümőt a lucerna gyökerén (Dusha és mtsai, 1989), valamint az általa fertőzött növények szárazanyag súlya, és fajlagos nitrogén tartalma magasabb a vad típusú baktériummal fertőzött növényekhez képest (Oláh és mtsai, 2000- beküldve). Az *ntrR* mutáció szimbiózisra gyakorolt hatásának növényi teszt kísérleteit Dr. Dusha Ilona és dr. Borzi Miklósné végezték.

CÉLKITŰZÉSEK

A dolgozat eredményeit képező munka megkezdésekor ismeretes volt, hogy a *S. meliloti* lucernával kialakított szimbiózisának több lépése (noduláció, EPSI termelés) a környezet kötött nitrogén szintje szerinti szabályozás alatt áll, melynek közvetítésében a baktérium részéről fontos szerepet játszik a *syrM* és az *ntrR* gén. Ismeretlen volt azonban, hogy e két gén mely folyamatokon keresztül befolyásolja a noduláción túl az EPSI temelést (*syrM*), illetve a hatékonyabb szimbiózis kialakulását (*ntrR*).

Ezek alapján célul tűztem ki a *syrM* és az *ntrR* gének e folyamatok nitrogén általi szabályozásában betöltött szerepének vizsgálatát, melyet az alábbi részfeladatok megoldása során próbáltunk elérni:

1. A *syrM* mutáció hatása az *S. meliloti* EPSI termelésére

-a *syrM* mutáns és a vad típusú *S. meliloti* által különböző növesztési körülmények között termelt EPSI kromatográfiás analízise annak vizsgálatára, hogy a SyrM részt vesz-e az EPSI szintézis kötött nitrogén, illetve luteolin általi szabályozásában,

-annak tanulmányozására, hogy vajon milyen, a megváltozott mennyiségű és minőségű EPSI szintézist magyarázó molekuláris változások következnek be a *syrM* mutánsban, az egyes, EPSI termelésben, módosításban, polimerizációban illetve transzportban résztvevő reprezentatív *exo* gének (*exoF,P,H,K*) nitrogén és luteolin általi szabályozásának vizsgálata génexpresszió szintjén vad típusú és *syrM* mutáns háttérben.

2. Az *ntrR* génben bekövetkezett mutáció hatása a szimbiózis hatékonyságára

-annak eldöntésére, hogy az *ntrR* mutáns nagyobb szimbiotikus hatékonysága megnövekedett nitrogénkötési képesség eredményeképpen alakul-e ki, a *nifH* és *nifA* nitrogénfixálási gének kifejeződésének összehasonlítása *ntrR* mutáns és vad háttérben, nitrogén hiányában és jelenlétében,

-annak vizsgálatára, hogy vajon az *ntrR* mutáns hatékonyabb nitrogénkötése hatással van-e a növényi ammónia asszimilációs út, valamint a bakteroid energia- és szénforrását biztosító növényi szén anyagcsere út enzimeit kódoló gének kifejeződésére, ezen gének (AAT:aszpartát-amino-transzferáz, CA:karbonsav anhidráz, GS:glutamin szintetáz, NADH-GOGAT:glutamát szintáz, MDH:malát dehidrogenáz, PEPC:foszfoenol-piruvát-karboxiláz, SS:szacharóz szintáz) transzkripciójának összehasonlítása kötött nitrogén hiányában és jelenlétében, vad típusú és *ntrR* mutáns baktériumok által indukált gümőkben.

ALKALMAZOTT MÓDSZEREK

-mikrobiológiai eljárások
-rekombináns DNS technikák
-enzimaktivitás (β-galaktozidáz, alkalikus foszfatáz) mérések baktérium kultúrából és gümőből
-EPS termelés mennyiségi és minőségi meghatározása kromatográfiás módszerrel
-hexóz összetétel meghatározása HPLC módszerrel
-növényi teszt
-RNS izoláslás, RT-PCR, hibridizáció

ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

1. A *Sinorhizobium meliloti* 1021 EPSI termelése, valamint egyes *exo* gének kifejeződése nitrogén kontrol alatt áll

Az *S. meliloti* 1021 törzs EPSI termelése nagymértékben csökken kötött nitrogén (ammónium szulfát) jelenlétében. Kísérleteinkben kimutattuk, hogy a szintézis első lépésében, valamint az EPSI polimerizációjában részt vevő *exoF* ill. *exoP* gének transzkripciója nitrogénszabályozás alatt áll, míg a polimer módosításában szerepet játszó *exoK* és *exoH* gének a nitrogén jelenlététől függetlenül működnek.

2. A kötött nitrogén koncentrációja befolyásolja a nagy (HMW) és kis (LMW) molekulatömegű EPSI formák arányát, amely folyamatban részt vesz a *syrM* gén is

A vad típusú *S. meliloti* 1021 törzs által nitrogénéheztetés mellett termelt EPSI HMW és LMW formáinak aránya 60 és 40%. A táptalaj ammónium koncentrációjának emelése nem csak az EPSI mennyiségének 15 százalékra csökkenését eredményezi, hanem a HMW-LMW arány 14-86 százalékra változását is. A *syrM* feltehetően részt vesz a nitrogén szabályozó szerepének közvetítésében, hiszen mutációja esetén mind az EPSI mennyisége, mind pedig a két forma aránya megváltozik. A vad típushoz viszonyítva nitrogén hiányában kevesebb, míg jelenlétében több EPSI termelődik, ráadásul a két forma aránya is ellenkező: magas ammónium szulfát koncentráció mellett a HMW forma, nitrogénmentes táptalajon pedig az LMW forma halmozódik fel.

3. Nitrogén éheztetés mellett a *syrM* mutáció az *exoK* gén kifejeződésének emelkedéséhez vezet

Nitrogénmentes táptalajon az *exoK* expressziója kettő-háromszorosára nő a vad típusú baktériumban mérthez képest, amely magyarázatul szolgálhat a *syrM* mutánsban ilyen körülmények között megfigyelhető LMW forma felhalmozódásra. A *syrM* feltehetően az *exoK* gén előtti gyenge promóteren keresztül fejti ki hatását az *exoK* transzkripciójára.

4. A *syrM* mutáció hatása az EPSI termelésre és az *exoP* gén transzkripciójára nitrogén jelenlétében

A *syrM* mutánsban a táptalaj nitrogén koncentrációjának emelkedésekor tapasztalható megnövekedett és deregulált EPSI szintézisnek a nitrogén általi represszió hiánya, valamint az *exoP* expressziójának csökkenése mellett az ExoP fehérje konformációjának esetleges eltérő szabályozása miatt alakulhat ki.

5. Az EPSI szintézist a luteolin is befolyásolja, feltehetően a *syrM* közreműködésével

A luteolin jelenléte mind a vad típusú, mind a *syrM* mutáns baktériumban az EPSI termelés emelkedését eredményezi, ami nitrogén tartalmú táptalajban még nagyobb, ráadásul

a vad típusú baktériumban a biológiailag aktív LMW forma felhalmozódása figyelhető meg. A *syrM* feltehetően részt vesz a luteolin hatásának közvetítésében, hiszen a mutáns nem képes az LMW forma felhalmozására. A luteolin befolyása génexpresszió szinten is kimutatható. A nitrogén által szabályozott gének (*exoF,P*) transzkripciója nő luteolin jelenlétében, ellentétben a nitrogéntől függetlenül működő *exoH,K* gének működésével.

6. Az *ntrR* mutáns *S. meliloti* 399 törzs a vad típusú törzsnél hatékonyabb szimbiózist képes kialakítani a gazdanövénnyel

Az *ntrR* mutáns törzs egy-két nappal korábban, valamint nagyobb számban indukál gümőt a lucerna gyökerén, és ez az előnye nitrogén ellátottság mellett még nagyobb. A mutáns törzzsel fertőzött növények szárazanyag súlya, valamint fajlagos nitrogén tartalma is magasabb, mint a vad típusú baktériumokkal fertőzött lucernáé. Ezek az adatok azt támasztják alá, hogy a mutáns a vad baktériumnál hatékonyabb szimbiózisra képes.

7. Az *ntrR* mutáció hatására megnő a bakteroid nitrogénkötési képessége

A vad típushoz viszonyítva a mutáns baktériumban megnő mind a nitrogenáz enzim fő egységét kódoló *nifH* gén, mind a pozitív regulátorát kódoló *nifA* gén expressziója. Kimutattuk, hogy a kötött nitrogén jelenléte mindkét gén kifejeződését nagymértékben gátolja. Nitrogén jelenlétében a vad típusú baktériumban ezeknek a géneknek stagnál a transzkripciója, míg a mutánsban megmarad a génexpresszió növekedésének képessége, azaz a nitrogén gátló hatása kevésbé érvényesül,

8. Az *ntrR* mutáns megnövekedett nitrogénkötési kapacitásának hatása a növény gümőjének szén anyagcseréjére

A malát szintézisútjának három enzimét kódoló gének (CA, MDH, PEPC) expressziója a nitrogénmentes (CA, MDH), valamint nitrogén tartalmú táptalajon (CA, MDH, PEPC) a mutáns által indukált gümőkben nagyobb, mint a vad típusú baktériummal indukált gümőkben. Ezek az eredmények a megnövekedett malát szintézis mellett nagyobb mértékű anyagcsere tevékenységre, és az ebből adódó magasabb respirációra utalnak, amelyek alátámasztják a mutáns hatékonyabb nitrogénkötési képességének tényét. Az összes növényi gén esetében azt tapasztaltuk, hogy kisebb-nagyobb mértékben mindegyik transzkripcióját gátolja a talaj magas kötött nitrogén szintje.

ÖSSZEFOGLALÁS

Dolgozatomban az *S. meliloti* 1021 törzs kettő génjének, a gümőképzés környezeti nitrogén szint általi szabályozásában részt vevő *syrM* és *ntrR* géneknek esetleges szerepét vizsgáltam a szimbiózis későbbi folyamataiban. Vizsgálataink során megállapítottuk, hogy az eddig ismert feladatuk mellett a *syrM* az EPSI szintézis, míg az *ntrR* a nitrogénkötés hatékonyságának külső nitrogén forrás általi regulációjának közvetítésében is szerepet játszik:

1. A *syrM* mutáció hatása az *S. meliloti* EPSI termelésére

-a vad típusú *S. meliloti* 1021 törzs EPSI szintézisének mind mennyiségét, mind minőségét meghatározza a környezet nitrogén koncentrációjának szintje, valamint a növényi indukálószer, a luteolin jelenléte is,

-az egyes, EPSI termelésben, polimerizációban illetve transzportban résztvevő reprezentatív *exo* gének (*exoF,P*) nitrogén és luteolin szabályozás alatt állnak, míg más, szerkezeti módosításban szerepet játszó gének (*exoH,K*) attól függetlenül működnek,

-a *syrM* mutáns EPSI termelésének mértéke, valamint szerkezetének összetétele is megváltozik a táptalaj nitrogén ellátottságától, illetve a luteolin jelenlététől függően, ebből

következően a *syrM* gén feltehetően közreműködik az EPSI termelés nitrogén és luteolin általi regulációjának közvetítésében,
-az *exoP* és *exoK* gének a táptalaj összetételétől függően a *syrM* szabályozása alatt állnak, amely részben magyarázza a mutánsban tapasztalható EPSI megoszlást,
2. Az *ntrR* génben bekövetkezett mutáció hatása a szimbiózis hatékonyságára
-az *ntrR* mutáns *S. meliloti* 399 törzs nitrogénkötési képességének megnövekedése révén, melyet a *nifH* és *nifA* gének szabályozásával valósít meg, a vad típusú baktériumnál hatékonyabb szimbiózist képes kialakítani a gazdanövénnyel, előnyös tulajdonságai alkalmassá teszik mezőgazdasági felhasználásra is,
-az *ntrR* mutáns által indukált gümőkben megnő a növény szénanyagcsere útjának enzimeit kódoló gének expressziója, amely a bakteroid megnövekedett szén- és energiaforrás igényére utal, és alátámasztja a nagyobb nitrogénkötési kapacitás tényét ,
-lucerna gümőben kimutattuk a környezet kötött nitrogén tartalmának a *nif* génekre, valamint a növény szén- és nitrogén anyagcsere útjainak enzimeit kódoló génekre gyakorolt gátló hatását.

AZ ÉRTEKEZÉS TÁRGYKÖRÉHEZ TARTOZÓ KÖZLEMÉNYEK

Dusha, I., **Oláh, B.**, Szegletes, Z., Erdei, L., Kondorosi, A. (1999) *syrM* is involved in the determination of the amount and ratio of the two forms of the acidic exopolysaccharide EPSI in *Rhizobium meliloti*. **Mol. Plant-Microbe Interact.** 12:755-765.

Oláh, B., Borzi, J., Kiss, E., Györgypál, Z., Kondorosi, Á., Dusha, I. (2000) Connection of the nitrogen and carbon metabolism of alfalfa nodules induced by the *ntrR* mutant *S. meliloti* strain. Plant Cell – beküldve

Dusha, I., **Oláh, B.**, Dixon, R. (1994) Bakteriális szignál molekulák szintézisének regulációja. Magyar Genetikusok Egyesülete III. Konferenciája, Debrecen

Dusha, I., **Oláh, B.**, Kiss, E., Kiss, P., Bottka, S., Kondorosi, A. (1996) Mutations in two nitrogen regulatory genes affect symbiotic signal production by *Rhizobium meliloti*. 2nd European Nitrogen Fixation Conference, Poznan.

Dusha, I., Kiss, E., Györgypál, Z., **Oláh, B.**, Kondorosi A. (1998) The efficiency of symbiosis is modulated by the nitrogen controlled nodulation and invasion functions of the bacterial partner. 3rd European Nitrogen Fixation Conference, Lunteren, The Netherlands. p. 28

Oláh, B., Dusha, I. (1999) A szimbiózis hatékonyságának modulálása a *nod* és *exo* gének expressziójának szabályozásával. IV. Magyar Genetikai Kongresszus, Siófok, o. 44. (előadás)

EGYÉB KÖZLEMÉNYEK

Kiss, E., Mergaert, P., **Oláh, B.**, Kereszt, A., Staehelin, C., Davies, A. E., Downie, J. A., Kondorosi, A., Kondorosi, E. (1998) Conservation of *nolR* in the *Sinorhizobium* and *Rhizobium* genera of the *Rhizobiaceae* family. **Mol. Plant-Microbe Interact** 11:1186-1195.

Cebolla, A., Vinardell, J. M., Kiss, E., **Oláh, B.**, Roudier, F., Kondorosi, A., Kondorosi, E., (1999) The mitotic inhibitor *ccs52* is required for endoreduplication and ploidy-dependent cell enlargement in plants. **EMBO J.** 18(16): 4476-4484.

Kiss E., Kereszt, A., **Oláh, B.**, Downie, J. A., Kondorosi A., Kondorosi E. (1996) Negative regulation of the nodulation genes by NolR in *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* strain TOM. 2nd European Nitrogen Fixation Conference, Poznan.

Kondorosi, E., Cebolla, A., Fehér, A., Foucher, F., Györgyey, J., Kiss, E., **Oláh, B.**, Roudier, F., Trinh, H., Vinardell, J. M., Dudits, D., Hirt, H., Kondorosi, A. (1998): Control of Nod factor-induced cell cycle activation in *Medicago* roots. in: IX International Congress on Plant Tissue and Cell Culture, Jerusalem, p.29.

Kondorosi, E., Cebolla, A., Foucher, F., Roudier, F., Vinardell, J. M., **Oláh, B.**, Kiss, E., Györgyey, J., Mergaert, P., Vaubert, D., Kondorosi, A. (1998) Regulation of cell cycle during nodule organogenesis. 3rd European Nitrogen Fixation Conference, Lunteren, The Netherlands. p. 23.

Charon, C., Cebolla, A., Vinardell, J. M., Kiss, E., **Oláh, B.**, Martin, C., Schultze, M., Felle, H., Kondorosi, É., Kondorosi, Á. (1999) A gyökérgümö fejlődésének szabályozása.. IV. Magyar Genetikai Kongresszus, Siófok, o. 45.