B 3566

A gümőfejlődésben résztvevő *enod12*, ciklin és *msc27* gének jellemzése és kifejeződésük vizsgálata *Medicago* növényekben.

PhD értekezés tézisei

Készítette: Szécsi Judit

MTA Szegedi Biológiai Központ
Növénybiológiai Intézete
CNRS Institut des Sciences Végétales
Gif-sur-Yvette, Franciaország

Témavezetők: Dr. Dudits Dénes
Dr. Kondorosi Éva

József Attila Tudományegyetem, Szeged

1998

Bevezetés

A pillangós növények családjába tartozó lucerna (*Medicago sativa*) mezőgazdasági jelentőségét a állatok takarmányozásában és a vetésforgóban betöltött hagyományos szerepe alapozza meg. Az utóbbi években a lucerna az emberi táplálkozásban is teret hódított és a tudományos kutatásokban egyike a legalaposabban tanulmányozott pillangós növényeknek.

A lucernát már 2000 éve használják a mezőgazdasági vetésforgóban, mint a talaj termőképességét javító növényt. Egy jó állapotban lévő lucerna kultúra 300kg/ha légköri nitrogént is megköthet évente a vele szimbiózisban élő *Rhizobium meliloti* nitrogénkötőbaktériumok segítségével. Az ammónia formájában megkötött légköri nitrogén szerves vegyületekbe épül be, amit egyrészt a gazdanövény közvetlenül felhasznál, másrészt a felesleget kiválasztja a talajba, ahol nitrogén forrásul szolgálhat a lucerna után következő növényi kultúráknak. Így a költséges, sokszor veszélyes és környezetkárosító nitrogén műtrágyázás csökkenthető olyan lucerna fajok beiktatásával a vetésforgóba, amelyek nagy mennyiségű nitrogént képesek megkötni. Ez mind gazdasági, mind környezetvédelmi szempontból igen jelentős. Ennek köszönhetően a *Medicago-R. meliloti* között kialakuló szimbiózis, amelynek során a baktérium a gazdanövény gyökerén gümők kialakítását serkentik, amelyben aztán a légköri nitrogén megkötése és a növény számára hasznosítható vegyületekbe való beépítése folyik, intenzíven tanulmányozott. A gyökérgümő kialakulása emellett kiváló lehe-

tőséget nyújthat a növények szervfejlődésének, és ezen belül sejtosztódási ciklusnak a tanulmányozására is.

A gümő képződése bonyolult folyamat, amely mind bakteriális, mind növényi oldalról szigorú szabályozás alatt áll az optimális gümőzési állapot kialakítása érdekében. A gyökérgümő fejlődését a növény biztosítja, de a baktériumok indítják be. A szimbiózis kialakulását a növény gyökeréből kibocsátott jelmolekulákat indítják be. Ezek a gazdanövénytől függően különböző flavonoidok, amelyek a baktérium pozitív szabályozó génjeinek (*nodD*) termékeihez kapcsolódva aktiválják a baktérium gümőzési génjeinek (*nod, nol, noe*) működését. Ezeknek a géneknek a termékei végzik a bakteriális jelmolekulák (Nod faktorok) előállítását. A bakteriális Nod faktorok szükségesek a gümőfejlődési program beindításához a gazdanövényben. A gümőfejlődés mechanizmusa még csak részleteiben jellemzett. Elsősorban a Nod f aktorok által a gazdanövény gyöke-rében lejátszódó különböző válaszreakciók ismertek (gyökérszőrök meggörbülése, deformálódása, alkalinizáció a gyökérszőrök csúcsában, membránok depolarizációja, infekciós fonál képződése, sejtciklus reaktivációja, korai nodulin gének beindítása, stb).

A *Rhizobium* Nod faktorai gazdaspecifikus morfogének, amelyek képesek a gazdanövény gyökérének már differenciálódott kéregsejtjeit osztódásra serkenteni. A külső kéregsejtekben a sejtosztódás nem fejeződik be, hanem a reaktiváció után hamarosan ismét leáll. Ezekben a sejtekben alakul ki az előinfekciós fonál. Ezzel szemben a belső kéregsejtekben a sejtosztódás folyamatos, aminek eredményeként kialakul a gümőprimordium. Ez a folyamat egyedi lehetőséget

nyújt a sejtciklus reaktivációjában résztvevő gének és szabályozó mechanizmusok tanulmányozására.

A gümőfejlődési program során a Nod faktorok beindítják, illetve serkentik olyan gümőspecifikus növényi gének (korai nodulinok) kifejeződését is, amelyek a gümő szervfejlődésben vehetnek részt. Bár számos korai nodulinok szekvenciája és kifejeződése a gümőfejlődés során ismert, pontos szerepük gyakorlatilag ismeretlen. Szekvencia homológia és térbeli kifejeződésük alapján feltételezik, hogy a baktérium fertőzésben, illet-ve a gümőképződésben játszanak szerepet.

Előzmények

A doktori dolgozatban bemutatott munkát a Dr. Kondorosi Ádám vezetése alatt álló Institut des Sciences Végétales-ban (Gif-sur-Yvette, Franciaország), Dr. Kondorosi Éva csoportjában kezdtem 1992 végén. A csoport kutatási területe a *Medicago-Rhizobium meliloti* szimbiózison belül a gümőfejlődés molekuláris alapjainak alaposabb megismerése. Ezen belül én elsősorban a gümőfejlődés korai szakaszában kifejeződő gének izolálásában és jellemzésében vettem részt. Mivel a gének térbeli kifejeződésének ismerete fontos információval szolgálhat szerepük, működésük megismeréséhez, ezekhez a vizsgálatokhoz elengedhetetlenül szükséges volt az *in situ* hibridizációs technika kísérleti körülmények aprólékos beállítása, amely lehetővé tette a technika rutinszerű használatát a laboratóriumban.

A csoportban a korai nodulinok közül elsőként a *Medigaco enod12* génjeinek izolálása és jellemzése folyt. Ez a munka

szoros kollaboracióban folyt az MTA SZBK Genetikai Intézetének a nitrogénkötő szimbiózist tanulmányozó csoportjával. A dolgozatban bemutatott munka kezdetekor csak a borsó *enod12* génjei voltak ismertek. A franciaországi csoport izolálta az első *Medicago*-ból származó *enod12* géneket (Allison és mtsai., 1993). Ezen korai nodulin gének további jellemzése, kifejeződésének vizsgálata a gyökérgümőben képezi többek között ennek a dolgozatnak egy részét. A különböző növényfajokból származó feltételezett Enod12 fehérjék magas prolin tartalma alapján feltételezték, hogy a hidroxiprolinban-gazdag glikoproteinek családjába tartoznak, és valószínűleg a sejtfal felépítésében játszanak szerepet. A MTA SZBK Genetikai Intézetében Dr. Kiss György és munkatársai a *Medicago* genom térképezéséhez használt növény populációban találtak olyan egyedeket, amelyek nem hordozták az *enod12* gént. Ezek az *enod12* mutáns egyedek kiváló lehetőséget nyújtottak az *enod12* gén szerepének tanulmányozásához a gümőképződés és nitrogénkötés során.

A csoport másik érdeklődési területe a Nod faktorok hatására a *Medicago* kérégsejtjeiben újrainduló sejtosztódás megismerése volt. A munkának ez a része szoros kollaborációban folyt a MTA SZBK Növénybiológiai Intézetével, ahol a Dr. Dudits Dénes által vezetett csoportban intenzív kutatások folytak a sejtciklus alapvető résztvevőinek azonosítására lucernában. A franciaországi csoport munkája fő ként a sejtciklust szabályozó ciklineknek az izolálására és jellemzésére koncentrálódott. A dolgozatban bemutatott munka kezdetekor *Medicago*-ból minössze két részleges ciklinszekvencia állt rendelkezésre. A csoportnak sikerült az első

teljes hosszúságú mitotikus ciklint azonosítani *Medicago*-ból (Savouré és mtsai., 1995). Ezen túlmenően erőfeszítések folytak a sejtciklus egyéb fázisaiban résztvevő ciklinek izolálására és jellemzésére.

A dolgozatban bemutatott munkát 1995-tól kezdődően a MTA SZBK Növénybiológiai Intézetében, Dr. Dudits Dénes vezetése alatt folytattam. Ez a munkacsoport a *Medicago* gének igen széles spectrumát vizsgálja. Az előzőekben említett, a sejtciklus szabályozásában résztvevő géneken kívül intenzív kutatások folynak például hősokk proteinek, kálcium kötő fehérjék, stb. izolálására és jellemzésére is. Ebben a csoportban, Dr. Györgyey János izolálta az *msc27* gént, amely egyike a legerősebben kifejeződő lucerna géneknek. Ennek a génnek további jellemzése a dolgozat keretei között került bemutatásra.

Célkitűzések

Az értekezés a *Rhizobium* Nod faktorainak hatására a *Medicago* gazdanövényben beinduló gümőmorfogenezisben szerepet játszó *enod12* és ciklin gének, valamint egy, a gümőben is magas szinten kifejeződő gén, az *msc27*-t jellemezését tartalmazza. Az ismertetett munka fő célkitűzései a következők voltak:

1. Az *enod12* korai nodulin gén jellemzése.

- az *in situ* hibridizációs technika kísérleti körülményeinek beállítása, majd a technika alkalmazása az *enod12* korai nodulin gén térbeli kifejeződésének meghatározására *Medicago* gyökérgümőben.
- az *enod12* gén kópiaszámának megállapítása és öröklődésének nyomonkövetése a diploid *M. sativa* ssp *coerula* és *M. sativa* ssp *quasifalcata* növények keresztezése során.
- az *enod12* hatásának vizsgálata a gümőképződésre és nitrogénkötésre *enod12*$^-$ genotípusú növények segítségével.

2. *Medicago* ciklinek jellemzése

- a *Medicago* sejtosztódási ciklusában szerepet játszó ciklinek közül a *CycIIIMs* teljes hosszúságú ciklin és a *CycSMs* részleges ciklin szekvenciák összehasonlítása és kimutatásuk a különböző *Medicago* fajok genomjában.
- a *Medicago CycIIIMs* és *CycSMs* ciklinek sejtciklus függő kifejeződésének vizsgálata részlegesen szinkronizált lucerna sejtkultúrában.
- a *CycIIIMs* gén kifejeződésének vizsgálata lucerna különböző szerveiben.

3. Az *msc27* gén jellemzése

a lucerna *msc27* géntermék konzerválódásának vizsgálata az adatbázisokban tárolt aminósavszekvenciák segítségével.

- az *msc27* gén jelenlétének kimutatása különböző növények genomjában Southern hibridizációval, és az *msc27* gén kifejeződésének vizsgálata eltérően kezelt lucerna sejtkultúrákban és lucerna különböző szerveiben.

- az *msc27* gén térbeli kifejeződésének vizsgálata *in situ* hibridizációval lucerna gyökérgümőben.

Alkalmazott módszerek

- *In situ* hibridizációs technika.
- Növényi DNS és RNS kinyerési és kezelési technikák.
- A Southern és Northern hibridizáció.
- PCR és reverz transzkripciós PCR amplifikálás.
- *Medicago* növények nevelése és a gümőzési kísérlet.
- Számítógépes szekvencia analízis.
- Medicago sejtszuszpenzió fenntartása és kezelése.

Új tudományos eredmények és következtetések

Az *enod12* korai nodulin gén jellemzése.

1.1. Az *in situ* hibridizációs technika segítségével kimutattuk, hogy az *enod12* gén, mind a fiatal, mind az idős gyökérgümőben, az infekciós zónában fejeződik ki, közvetlenül az osztódószövet mögött. Ez az eredmény, valamint az a

tény, hogy az *enod12* gén hasonlóságot mutat a sejtfal felépítésében résztvevő hidroxi-prolinban gazdag fehérjékhez, arra a feltételezésre vezetett minket, hogy valószínűleg az invázió során a növényi sejtekben képződő új sejtfal struktúrák, feltehetően elsősorban az infekciós fonál felépítésében játszik szerepet. (Bauer és mtsai., 1994)

1.2. Az *in situ* hibridizáció eredménye bizonyítja, hogy:

- a fixálási és beágyazási lépések után a gümő megőrizte jellemző szerkezetét, valamint a benne kifejeződő mRNS-ek is konzerválódtak.
- a hibridizációt megelőző kezelések lehetővé tették a próba behatolását a vizsgált szövetbe, és a specifikus hibridizációt.
- a próba jelölése során a jelölt nukleotidok hatékonyan beépültek a szintetizált RNS-be.
- a próba hossza megfelelően rövid volt ahhoz, hogy a próba hatékonyan behatoljon a metszetekbe, és elég hosszú volt ahhoz, hogy a nem-specifikus hibridizáció szintje alacsony maradjon.
- a hibridizáció utáni kezelések hatékonyan eltávolították a nem-specifikus hibridizációs jelet. (Bauer és mtsai., 1994)

2.1. Két, nem önbeporzó diploid *Medicago* faj, *M. sativa* ssp *quasifalcata* k93 (Mqk93) és a *M. sativa* ssp *coerulea* w2 (Mcw2) keresztezésével előállított F1 és F2 utódpopulációban vizsgáltuk az *enod12* jelenlétét. Ezek a szülőként használt egyedek heterozigóták, így keresztezésükkel genetikailag nagyon változatos utódpopulációk hozhatók létre. A Mcw2 szülőről Southern hibridizációval és PCR amplifikációval kimu-

tattuk, hogy két *enod12* gént hordoz a genomjában, a *M. sativa* ssp *sativa* cv Nagyszénási fajtához hasonlóan. A Mqk93 egyetlen *enod12* gént hordozott, a *M. truncatula* cv Jemalong fajtához hasonlóan. A Mqk93 és Mcw2 keresztezésből származó F1/1 egyed önbeporzásával előállított utódpopulációban, F2(F1/1XF1/1], megjelentek olyan növények is, amelyek genomjukban nem tartalmazták az *enod12* korai nodulin gént. Az *enod12* öröklődésének nyomonkövetése a szülői és az utódpopulációkban feltárta, hogy az apai egyedként használt növény (Mcw2) heterozigóta volt az *enod12* génre nézve; az egyik kromoszómapárján két *enod12* gént hordozott, amelyek szorosan kapcsoltan öröklődtek, míg a másik kromoszóma párról hiányzott mindkét *enod12* gén (null allél). Az *enod12* hiányos F2 egyedek csak az apai ágról örökölt null allélokat hordozták. A null allél a Mendeli recesszív gének szabályainak megfelelően, stabilan öröklődött, és az általunk vizsgált *enod12*$^-$ növényekből többszöri vegetatív szaporítás után sem volt kimutatható az *enod12* jelenléte. Ez azt bizonyítja, hogy az *enod12* hiánya a növényekben nem mozaikos jellegű, hanem az egész növényre kiterjedő, állandó genotípus. (Csanádi és mtsai., 1994)

2.2. A vad típusú és az eltérő kópiaszámú *enod12*-t tartalmazó növényeket *Rhizobium meliloti*-val fertőzve azt tapasztaltuk, hogy a gümők kifejlődésének időbeli lefolyása azonos volt, és a fejlődött gümők fenotípusában sem találtunk szignifikáns különbséget. Az *enod12* gént nem hordozó növényeken a gümőképződés időbeli lefolyása nem tért el a szülői növényen tapasztaltaktól, és a képződött gümőknek mind

a formája, mind a belső szerkezete megegyezett az *enod12* gént hordozó növényeken képződött gümőkkel. A rendkívül érzékeny RT-PCR vizsgálatok kimutatták, hogy az *enod12*⁻ növényeken képződött gümők nem tartalmazták az *enod12* mRNS-eket. (Csanádi és mtsai., 1994)

2.3. A gümők acetilén redukáló képességének mérésével bizonyítottuk, hogy az *enod12* mutáns növényeken képződött gümőkben aktív nitrogénkötés folyik. (Csanádi és mtsai., 1994)

2.4. Eredményeink igazolták, hogy az általunk használt diploid fajok esetében az *enod12* hiánya nem befolyásolta a növények életképességet, sem a gyökérgümő kialakulását, illetve a nitrogénkötést. Ennek többféle magyarázata lehet. Feltételezhető, hogy az *enod12* szerepét ezekben a mutáns növényekben egy másik hidroxi-prolinban gazdag fehérje vette át, vagy az *enod12* gén csak bizonyos *Medicago* fajtáknál elengedhetetlen a gümőképződéshez, illetve a nirtogénkötéshez, míg az általunk használt diploid fajok esetében szerepe nem jelentős. Az sem kizárható, hogy az *enod12*-nek csak bizonyos, általunk nem vizsgált életkörülmények között kialakuló szimbiózis esetén fontos a kifejeződése *Medicago*-ban. (Csanádi és mtsai., 1994)

Lucernából izolált ciklin gének jellemzése.

3.1. A *CycIIIMs* az első teljes hosszúságú ciklin gén volt, amelyet *Medicago*-ból azonosítottak. A gén a

szekvenciája alapján az állati A- és B-típusú ciklinekhez mutatott hasonlóságot. A másik vizsgált ciklin génből (*CycSMs*) csak egy részleges szekvencia állt rendelkezésünkre a vizsgálatokhoz, amely ciklin box egy részét kódolja. A két ciklin erősen különbözött a ciklin box szekvenciában, ezért feltételeztük, hogy a két ciklin eltérő ciklin csoportokhoz tartozik. Az eltérő ciklin box szekvencia alapján feltételezhető volt, hogy a két ciklin valószínűleg eltérő CDK-hoz kapcsolódva, a sejtciklus eltérő fázisaiban fejti ki hatását. (Savouré és mtsai., 1995, Szécsi és mtsai., 1994)

3.2. Southern hibridizációval megállapítottuk, hogy mindkét gén egy-egy példányban található meg a diploid *M. truncatula* genomjában, míg a tetraploid *Medicago* fajták valószínűleg több kópiát tartalmaznak ezekből a ciklin génekből. A hibridizáló DNS darabok mérete különbözött a két ciklin esetében, ami megerősítette, hogy a *CycIIIMs* es a *CycSMs* egymástól eltérő ciklinek. (Savouré és mtsai., 1995, Szécsi és mtsai., 1994)

3.3. A *CycIIIMs* gén hidroxi-ureával részlegesen szinkronizált lucerna sejtkultúrában a G2-M átmeneti szakaszban fejeződött ki, majd a mitózis befejeződésével kifejeződése gyakorlatilag megszűnt. Ez a kifejeződési mintázat arra utal, hogy a *CycIIIMs* a mitotikus ciklinek családjába tartozik. A sejtciklustól függő szerepét megerősítette kifejeződésének mintázata lucerna külöböző szerveiben. (Savouré és mtsai., 1995)

3.4. A *CycSMs* gén a *CycIIIMs* génhez képest alacsonyabban fejeződött ki. Szinkronizált sejtekben kifejeződése rögtön a hidroxi-urea eltávolítása után kimutatható volt a sejtciklus S-, valamint a korai G2 fázisaiban. Bár kifejeződése a mitózis kezdetével csökkent, meglepő módon ezen az alacsonyabb szinten szinte minden fázisban megtalálható volt. Ez arra utal, hogy a CycSMs fehérje esetleg több CDK-val léphet kölcsönhatásba, és így részt vehet a sejtciklus eltérő fázisainak szabályozásában, bár döntő szerepe a sejtciklus S-fázisában, a DNS megkettőződése során lehet, és valószínűleg az A-típusú ciklinek közé tartozik. A *CycSMs* vizsgálata volt az első alkalom, hogy lucerna növényből S-fázisos ciklin került jellemzésre. (Szécsi és mtsai., 1994)

A lucerna *msc27* nevű génjének jellemzése

4.1. A szekveciaelemzési adatok alapján megállapítottuk, hogy az *msc27* génnel homológ gének több eukarióta szervezetben is megtalálhatók (növények, élesztők, emlősök, stb.), és feltehetően egy olyan életfontosságú fehérjét kódolnak, amely valamilyen, a létezéhez elengedhetetlen alapfunkció során játszik szerepet. A homológ fehérjék bizonyos tagjairól kimutatták, hogy homológiát mutatnak egy hisztamin-felszabadító faktorhoz, és maguk is képesek hisztamin felszabadítására. (Szécsi és mtsai., közlés előtt)

4.2. Southern hibridizációs kísérletben az *msc27*-ről kimutattuk, hogy a különböző lucerna fajták genomjában feltehetően több, kismértékben eltérő szekvenciájú gén található. Ez a

tény megerősíti azt a feltételezést, hogy ez a gén igen fontos feladatot lát el az élő szervezetben, és esetleges mutációja esetén egy másik, hasonló gén veheti át a szerepét. (Szécsi és mtsai., közlés előtt)

4.3. Northern hibridizációs kísérletek azt mutatták, hogy az *msc27* gén gyakorlatilag minden szövetben/szervben stabilan és erősen fejeződik ki. Kifejeződését a hormonkezelések nem befolyásolták nagyobb mértékben. Lucerna gümőkben és gyökerekben is közel azonos volt a kifejeződése, ami arra utal, hogy a Nod faktorok sem befolyásolják a kifejeződését. Erős és stabil kifejeződése a lapján az *msc27* gén Northern hibridizációs kísérletekben jól alkalmazható belső kontrollként az RNS minták minőségéből és mennyiségéből eredő kísérleti hibák kimutatására. (Szécsi és mtsai., közlés előtt)

4.4. *In situ* hibridizációs kísérletekkel kimutattuk, hogy az *msc27* gén, mind a fiatal, mind az idős gyökérgümőkben elsősorban az inváziós zónában fejeződik ki. Vagyis a lucerna gyökérgümőn belül nagyobb eltérések mutathatók ki a termelődő *msc27* mRNS mennyiségében. Ez az eredmény, amely rámutat az *msc27* génnek a mRNS átíródás szintjén történő szabályozására, nem volt kimutatható Northern hibridizációval, ami kihangsúlyozza az *in situ* hibridizációs technika jelentőségét és szükségességét a különböző gének kifejeződésének vizsgálatakor. Az *msc27* térbeli kifejeződése arra utal, hogy lucerna gyökérgümőben a sejtdifferenciáció, illetve a fertőzési folyamat során játszhat szerepet. (Szécsi és mtsai., közlés előtt)

A dolgozatban bemutatott és megvitatott eredmények rámutatnak arra, hogy a *Medicago* és a *Rhizobium* között kialakuló szimbiózis igen bonyolult és sok lépésben szabályozott folyamat, amely feltárása csak a molekuláris biológiai, sejtbiológiai és genetikai módszerek együttes alkalmazásával lehetséges. A terület intenzíven tanulmányozott, aminek köszönhető en egyre több információ áll rendelkezésünkre a szimbiózis kialakulásáról, a gümőképződésről, a nitrogénkötés folyamatáról, valamint ezek szabályozásáról. Ezek az ismeretek hasznosak lehetnek a továbbiakban egy hatékonyabb, és környezetkímélőbb mezőgazdasági termelés kialakításához. Ezen túlmenően a gümő fejlődés egyes lépéseinek tanulmányozása közelebb vihet minket annak megismeréséhez is, hogy miképpen történik az egyes sejtek differenciációja a különböző funkciókra az osztódó sejtekből.

Az értekezés tárgyköréhez tartozó publikációk listája

Bauer, P, Crespi, M.D., **Szécsi, J.**, Allison, L.A., Schultze, M., Ratet, P., Kondorosi, É. and Kondorosi, Á. (1994). Alfalfa *enod12* genes are differentially regulated during nodule development by Nod factors and *Rhizobium* invasion. Plant Physiology 105: 585-592

Csanádi, Gy., **Szécsi, J.**, Kaló, P., Kiss, P., Endre, G., Kondorosi, Á., Kondoros,É. and Kiss, Gy.B. (1994). *ENOD12,* an early nodulin gene, is not required for nodule formation and efficient nitrogen fixation in alfalfa. Plant Cell 6, 201-213.

Szécsi, J., Savouré, A., Fehér, A., Dedeoglu, D., Györgyey,J., Brown, S., Dudits, D., Kondorosi, Á. and Kondorosi, É. (1994). Isolation and characterization of *Medicago* cyclin genes. In: Proceedings of the 1st Europeen Nitrogen Fixation Conference, Eds. Kiss G.B. and Endre G., Officina press, Szeged, Hungary, pp. 331.

Savouré, A., Fehér, A., Kaló, P., Petrovics, Gy., Csanádi, Gy., **Szécsi, J.**, Kiss, Gy.B., Brown, S., Kondorosi, Á. and Kondorosi, É. (1995). Isolation of a full-lenght mitotic cyclin cDNA clone *CycIIIMs* from *Medicago sativa:* Chromosomal mapping and expression. Plant Mol. Biol. 27, 1059-1070.

Egyéb publikációk

Grosskopf, E., Ha, D.T.C., Wingender, R., Röehring, H., **Szécsi, J.**, Kondorosi, É., Shell, J. and Kondorosi, Á. (1993) Enhanced level of chalcon synthase in alfalfa nodules induced by a fix negative mutant of *Rhizobium meliloti*. Mol. Plant-Microbe Interact. 6, 173-181.

Kondorosi, É., Hoffman, B., Endre, G., Bögre, L., Koncz, Cs., Dudits, D., **Szécsi, J.**, Kiss, G.B. and Kondorosi, A. (1993) Involvement of hormones in nodule initiation: auxin sensitivity and hormone balance affect nodulation of *Medicago*. In: New Horizons in Nitrogen Fixation, Eds. Palatios R., Mora J. and Newton W.E., Kluver, Dordrecht, pp. 357.

Szécsi, J., Ding, X.S., Lim, C.O., Bendahmane, M., Cho, M.J., Nelson, R.S. and Beachy, R.N. Development of tobacco mosaic virus infection sites in *Nicotiana benthamiana*. Mol. Plant-Microbe Interact. (elfogadva).

Szécsi, J., Ding, X.S., Lim, C.O., Bendahmane, M., Cho, M.J., Nelson, R.S. and Beachy, R.N. (1998) Development of tobacco mosaic virus infection sites in *Nicotiana benthamiana*. 17th Annual Meeting of American Society for Virology, Vancouver, BC, Kanada. (poszter)

Bendahmane, M., Duncan, B.S., **Szécsi, J.**, Olson, A. and Beachy, R.N. (1998) Molecular and structural studies of CP-MR to TMV. Evidence of interference of the transgenic CP with

viral disassembly. 17th Annual Meeting of American Society for Virology, Vancouver, BC, Kanada.
(előadás)