

OTKA PD72452

Futamidő: 2008-2014

Az általános rezisztencia felhasználása szőlőben az agrobaktériumos  
golyvásodás ellen

Zárójelentés

Szücsné Varga Gabriella

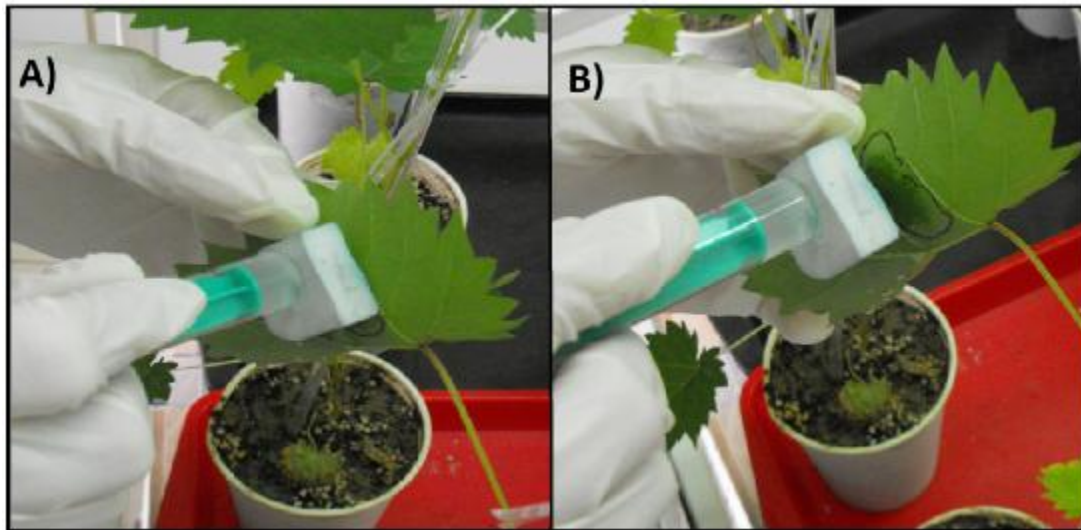
Kecskemét, 2014. március 31.

Az élővilágban egyedülálló a kapcsolat az agrobaktérium és a magasabb rendű növények között. A növény-mikróba interakció során a baktérium a saját génjeit és géntermékeit a növényi sejtbe integrálja. Az eredmény a máig is leghatékonyabb módja az ún. transzformáns növények előállításának. A fertőzést követően létrejön a genetikailag módosított sejt, mely tartalmazza és kifejezi a célgént, vagy megakadályozza egy célgén működését. Hatékonysága kiemelkedő, hiszen a vizsgált kétszikű fajok 60 %-át képes transzformálni, csak az egyszikű fajokon tapasztalható kisebb fogékonysági arány. Az érem másik oldalán azonban, amennyiben nem a biotechnológia előnyeit nézzük az agrobaktériumos fertőzésnek, súlyos növényi betegség alakul ki, a golyvásodás. A betegség tüneteként képződött tumor hiányos tápanyagszállítást idéz elő, aminek következtében el is pusztulhat a növény. A szőlőben súlyos károkat okoz világszerte a betegség, melynek szőlőtökébe való bejutása máig tisztázatlan. Legtöbbször a vegetatívan szaporított szőlő már fertőzött egyedéről begyűjtött szaporítóanyaggal terjed, illetve kerülhet a fiatal ültetvénybe. Az aktuális tématerületek között szerepel a további fertőzési lehetőségek (fonálférgek közvetítő szerepe, egyéb hatások a talajból) feltárása. A baktérium látens formában fennmarad a szőlőben, és a bekövetkező sérülések alkalmával (pl. téli fagyok, metszés és művelés során keletkező felszíni sérülések) elkezdődik a transzformációs folyamat, végén a tumorok kifejlődésével.

Az agrobaktériumos fertőzés azonban egy másik szempontból is egyedülálló. Ismert, hogy a növények is rendelkeznek védekező mechanizmusokkal. Az agrobaktériumok ezeket a védekezési mechanizmusokat elkerülik, elnyomják, sőt egyes elemeit saját fertőzési céljaikra fordítják. A növényi fehérjék funkcióit felhasználják a transzformáció során és manipulálják a növényi hormonszintet. Ennek a folyamatnak a részleteiben való megismerése és azokba való beavatkozás eredményezheti a golyvásodás betegséggel szemben ellenálló növényeket, illetve a transzformációra kevésbé fogékony fajok esetében a transzformációs hatékonyság növelését.

A pályázat elsődleges célja az volt, hogy bizonyítsuk az általános rezisztencia (Basal Resistance, BR; PAMP-Triggered Immunity, PTI) működését szőlőben. Számos adat van az általános rezisztenciához kapcsolható reakciókról modellnövényeken. Az PTI elicitorai a behatóló mikroorganizmusok felületi molekuláris mintázatai, pl. flagellin, oligoszaharidok, lipopoliszaharid, peptidoglikán, transzkripció elongációs faktor kisebb egységei stb., melyek felismerése a növényi sejt falban lévő receptorok által közvetített. A hővel előlt baktérium szuszpenzió összességében tartalmazza ezeket az elicitorokat, így alkalmazható PTI indukciós kísérletekben. A rövid indukciós időt követően reaktív oxigénformák felhalmozódása, kallóz beépülés és sejt falvastagodás, sejtsuszpenzióban a tápoldat alkalinizációja és számos receptor, jelátviteli illetve patogenezishez kapcsolt (pathogenesis related, PR) gén aktivációja továbbá PR fehérjék, pl. PR1, kitináz,  $\beta$ -1,3-glükánáz termelődése a PTI jellemzője. Tünete pedig a PTI védelme alatt álló levél területen a hiperszenzitív reakció elmaradása. A PTI elicitorok által kiváltott hatásokat lúdfű, dohány, paradicsom, rizs, *Medicago truncatula*, *Nicotiana benthamiana* modellnövényeken vizsgálták legtöbbször. A szőlőn, mint gazdaságilag jelentős növényfajon eddig sejtsuszpenzióban vizsgálták a laminarin (sárgásmoszatból kivont molekula) és flagellin elicitor által kiváltott reakciókat (Aziz et al, 2003; Chang and Nick, 2012). A szőlő levélszerkezetéből adódóan az infiltráció intakt növényen speciális feltételek mellett is nehezen kivitelezhető. A vákuumos infiltrációt megelőzően a levelet ultrahangos vízfürdőben szükséges előkészíteni illetve a levél éren bemetszést kell végezni. A vákuumos infiltrációval nincs lehetőség a levéllemez egyes területein elkülönített fertőzés végrehajtására, illetve precízen felülfertőzni az előkezelt területet, a megelőző lépések pedig az eredményeket befolyásoló stresszválaszokat is kiválthatnak. Mivel korábbi munkáink során alkalmazott és elfogadott BR kimutatási rendszerhez (HR-gátlás teszt) (Burgyán and Klement, 1979) ez a kísérleti beállítás elengedhetetlen, ezért szőlőre adaptáltunk egy fecskendővel elvégezhető

infiltrálási módszert (1. ábra). Több szőlőfajtán kipróbáltuk pozitív eredménnyel a módszer hatékonyságát.

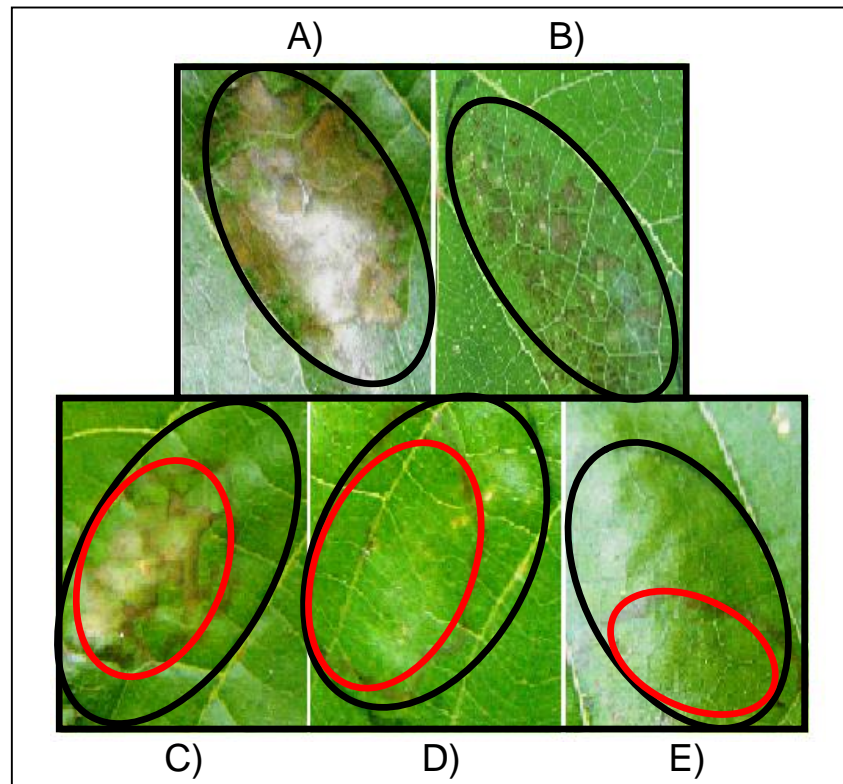


1. ábra. A szőlőlevél érkezeinek infiltrálása, fecskendőre rögzített radírgumi injektorral. **A)** infiltrálás folyamata; **B)** szuszpenzióval telített levélszövet rész (sötétzöld árnyalat)

A modellnövényeken felállított kimutatási rendszerben egy első, BR-t kiváltó kezelést követően 6-24 órával ugyanazon a területen végzett hiperszenzitív reakciót indukáló fertőzésnek nem lesz levélszöveti nekrotikus tünete. A szőlőn inkompatibilis *Pseudomonas* törzsek HR-t indukálnak, mely szöveti elhalással jár. A szőlő levelét hővel előlt *Pseudomonas* szuszpenzióval vagy flagellin elicitorral előkezelve, ugyanazon a levélrészén végzett élő *Pseudomonas* fertőzés nem eredményezett HR elhalást. A szőlőben bizonyítottuk és egyes tulajdonságaiban jellemeztük a PTI működését. Indukciós ideje szőlőben legalább 8 óra. Kialakulását befolyásolja a környezet hőmérséklete, megbízható működése szőlőben 25-28 C°-os hőmérsékleti tartományban igazolt. A felülfertőzés elleni védelem nem lokalizálódik szigorúan az előkezelt területre, mivel 24 órával az előkezelést követően az előkezelt levélérköztől távolabb is kimutatható HR-rel szembeni teljes vagy részleges védelem (rövidtávú szisztemizálódó hatás). A szisztemikus szerzett rezisztenciától eltér rövidebb indukciós idejével (SAR indukció minimum 48 óra, általában 1 hét) illetve a szisztemizálódás távolságával (SAR kimutathatósága másik, felsőbb levélemeleteken történik) (Conrath, 2006).

A kutatás gyakorlati érvényesíthetőségét a PTI *Agrobacterium* fertőzésre gyakorolt hatása jelenti. *Agrobacterium vitis* (szőlőn elsődlegesen felelős a golyvásodás betegségért) és *Agrobacterium tumefaciens* szőlő levélbe infiltrálását követően nem képződnek tumorok az erekkel sűrűn átszőtt levéllemezen. Tünetmentesnek mégsem mondható a fertőzés, mivel nekrotikus elhalás jelenik meg az infiltrált levéllemezen egy héttel a fertőzést követően (2. ábra). A nekrotizálódást, mint az agrobaktériumos fertőzés tünetét korábban már leírták szőlőben (Burr and Otten, 1999; Deng et al., 1995). Az egy hét során mért *A. vitis* baktériumszám egy kezdeti 24 óránál bekövetkező enyhe csökkenést követően folyamatosan emelkedett a kiindulási baktériumszám 1,5-2-szeresére, majd 72 órát követően (feltételezhetően a nekrotizálódás szövetbeli hatásaira) drasztikusan csökkent a kiindulási szint alá. 24 órával a flagellin előkezelés után a szőlőlevélbe infiltrált agrobaktériumszám 72 óráig hasonló mértékben növekedett, majd a kiindulási szint alá csökkent. Azonban ez a csökkenés nekrotikus elhalás nélkül történt, vagyis nem a növényi sejtelhalás okozta a baktériumsejtek csökkenését (mint például a hiperszenzitív reakció esetében), hanem a flagellinnel kiváltott védekezési válasz. Amennyiben a PTI-t hővel előlt baktériummal indukáltuk, majd *A. vitis* infiltrálást követően

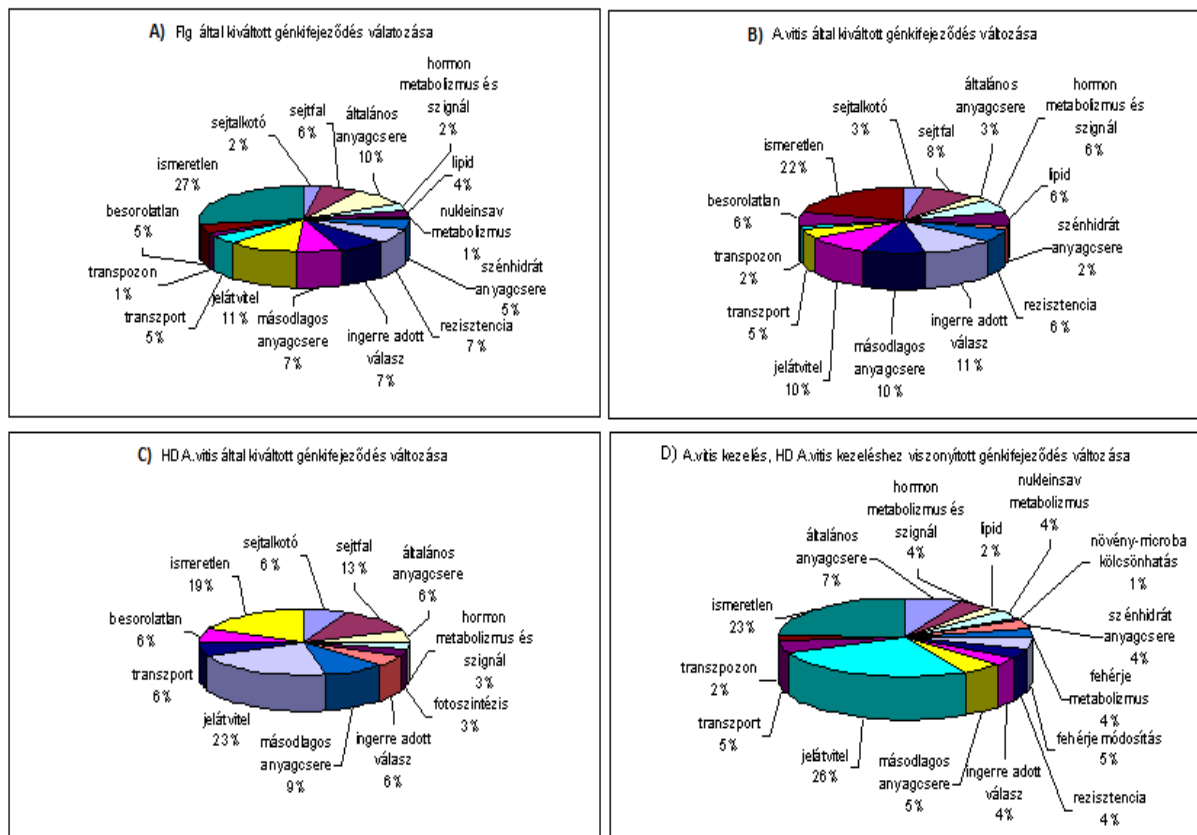
mértük a baktérium szaporodást, a mérési idő alatt emelkedett a baktériumszám, de flagellin kezelés, vagy nekrotikus hatás által negatívan befolyásolt baktériumszám alatt maradván, szintén levélszöveti elhalás nélkül. A PTI tehát negatív hatást gyakorolt szőlőben az agrobaktérium levélszövetbeni szaporodására szöveti elhalás nélkül. A PTI ugyanilyen baktérium szaporodás gátló hatással volt szőlőben mutáns és vad típusú *Pseudomonas*okra is.



2. ábra. A PTI hatása az *Agrobacterium* által indukált nektrózisra. **A)** *A. vitis* által indukált sejtelhalás (196 hpi); **B)** *A. tumefaciens* által indukált sejtelhalás (196 hpi); **C)** víz előkezelés utáni 24h-s *A. vitis* felülfertőzést követő sejtelhalás (196 hpi); **D)** HD *Ps. s. pv. pisi* előkezelés utáni 24h-s *A. vitis* felülfertőzést követő nektrózis-gátlás (196 hpi); **E)** HD *Ps. s. pv. pisi* előkezelés utáni 24h-s *A. tumefaciens* felülfertőzést követő nektrózis-gátlás (196 hpi).

A szőlő agrobaktériumos golyvásodással szemben nincs hatékony védekezési eljárás. A PTI azonban negatívan avatkozott be *Pseudomonas* és *Agrobacterium* fertőzés folyamataiba. A szőlő génállományának elérhetősége génchip-eken mára megadja azt a lehetőséget, hogy a vizsgálni kívánt növényi tulajdonság genetikai hátterét összességében és komplexitásában is tanulmányozhassuk. Mivel az *Agrobacterium* fertőzés során bekövetkező növényi génválaszok ismerete sok hiányossággal bír és eredményeink igazolták, hogy a PTI alkalmas lehet az agrobaktériumos fertőzés megakadályozására, megvalósítottuk a szőlő-*A. vitis*-PTI-lokális szisztémikus hatás mátrixának molekuláris analízisét. A mátrix tagjai önmagukban is ily módon eddig nem tanulmányozott növénykórtani folyamatok, így együtt azonban hatalmas adatmennyiséggel szolgálták célunk megvalósítását. Ezen interakciók során az ioncserélt vizes kezeléshez hasonlítottuk az egyes induktorok által kiváltott reakciót. 12 órával (lokális szisztémikus mintáknál 24 órával) a szőlőlevél infiltrációt követően összesen 742 gén kifejeződésében mutattunk ki szignifikáns eltérést. A 3. ábrán szemléltetjük a modulálódott gének funkció szerinti csoportosítását. Jelentésünkben azokat az

eredményeket mutatjuk be, amely gének vagy géncsoportokat a modellnövényekben vizsgált PTI során kiemelten vizsgálunk. Külön fókuszálunk azokra a génekre, melyek kifejeződését a PTI induktorok aktiválták, de az élő *A. vitis* gátolta.

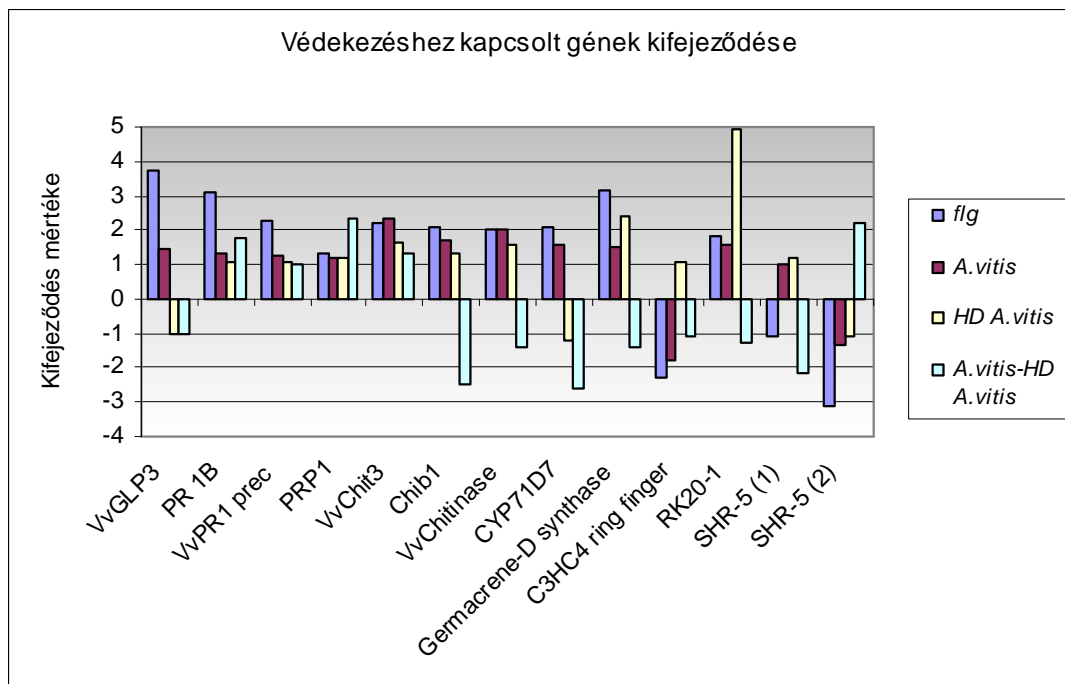


3. ábra Kezelések által kiváltott génkifejeződés változása, a gének funkció alapján besorolt csoportjainak arányai szerint (A, B, C ábra). Az élő *A. vitis* által kiváltott génextpressziós változás funkció szerinti arányai az elölt *A. vitis* hatására megváltozott génkifejeződéshez viszonyítva (D ábra). Flg hatására 84 db gén, *A. vitis* hatására 62 db gén, HD *A. vitis* hatására 32 db gén expressziója változott szignifikánsan. Az *A. vitis* hatására megváltozott kifejeződésű gének száma a HD *A. vitis* hatására megváltozott kifejeződést mutató génekhez képest: 83 db.

A modulálódási arányok legszembetűnőbb eredménye – mivel kísérleteinkben a hővel elölt baktérium egyenértékű PTI aktivitását tekintve pl. a flg22 elicitorral –, hogy a hővel elölt *A. vitis* és a flg22 szinte teljesen eltérő génállományt modulált. Ezzel szemben a flg22 és az élő *A. vitis* kezelés nagyon hasonló génkészlet indukcióját illetve gátlódását eredményezte. Közismert, hogy az agrobaktériumok flagellinje nem indukált PTI reakciókat (Zipfel et al., 2006). A legvalószínűbb általános elicitor agrobaktériumban az EF-Tu elongációs faktor (Pitzschke and Hirt, 2010), szignifikáns modulálódását azonban nem túl magas mértékben indukálták a vizsgált kezelések. Az elicitor receptorok közül érdemes kiemelni a XA21 receptort, melyet a rizsben írtak le és jellemeztek. Az XA21 receptor hővel elölt *A. vitis* kezelés során 3,8-szeres kifejeződést mutatott, míg az élő baktérium gátolta a receptor kifejeződését. A szőlőben baktérium rezisztencia szempontjából így kettős jelentőségű, mivel aktiválója az avrXa21 szekvenciája a Pierce betegség kórokozójában, a *Xylella fastidiosaban* is konzervált (Newman et al., 2013).

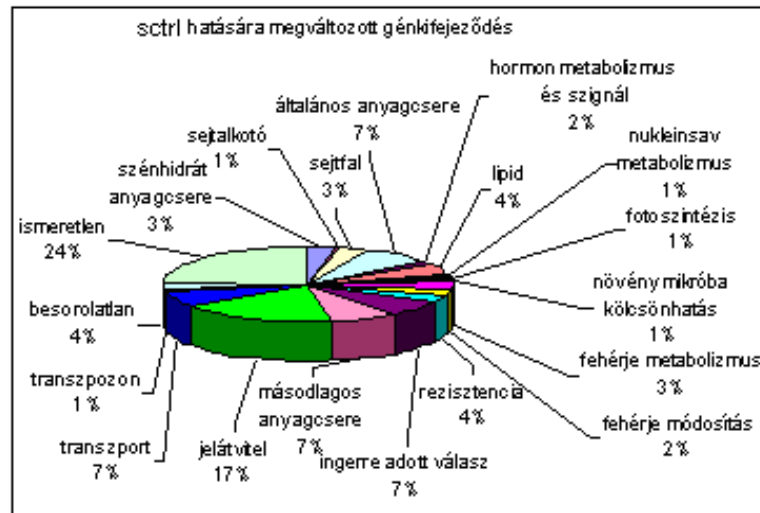
A vizsgálati időpontban, 12 órával az infiltrálást követően, már nem csak receptorokról és jelátviteli útvonalakban szereplő gének modulációjáról kaptunk eredményt, hanem a növényi védekezéshez

kapcsolt fehérjék génjeinek kifejeződése is jellemző volt. A védekezéshez kapcsolt gének a rezisztencia, az ingerre adott válasz és a növény-mikróba kölcsönhatás csoportokba sorolva, a modulált gének 13,3 %-át adták, továbbá más funkciójú csoportba tartozó gének is korrelálnak védekezési reakciókkal (pl: *VvGLP3*: szénhidrát anyagcsere (Godfrey et al., 2007), és *germakrén-D szintáz*: másodlagos anyagcsere, terpenoid bioszintézis (Tholl, 2006)). A patogenezishez kapcsolt fehérjék közül a *PR1* (és prekuzora) és kitináz fehérjéket kódoló gének (*VvChit3*, *Chib1*, *VvChitinase*) expressziója változott jelentősen a különböző kezelések hatására. flg22 kezelés következtében ezeknek a géneknek az átíródása a legtöbb esetben aktiválódott. Az élő *A. vitis* szintén aktiválódást váltott ki a *VvChit3* és a *VvChitinase* gének esetében. A *Chib1* gén gátlódott az élő baktérium hatására, az elölt baktériumhoz képest. A *germakrén-D szintáz*t kódoló gén átíródása jelentősen növekedett flg22 és HD *A. vitis* hatására, míg élő *A. vitis* kezelés után nem detektáltunk változást. A dohányban védekezéshez kapcsolt (Jeong et al., 2008) *CYP71D7* transzkripciós faktort kódoló gén homológja mellett, hogy aktiválódott flg22 hatására, represszálódott az élő baktériumkezelésnél, az elölt baktériummal történő kezeléshez viszonyítva. A PR fehérjék egy új csoportjának sorolják a lipázokat. Szőlőben lisztharmat fertőzés során vizsgálták aktivációjukat (Szalontai et al., 2012). Szőlőben két lipáz mutatott erős génkifejeződést mind flagellin, mind élő *A. vitis* kezelést követően. A 4. ábrán összefoglalóan emeljük ki a funkciójukban a védekezéshez kapcsolható géneket.



4. ábra. Védekezésben szerepet játszó gének kifejeződési szintje flg22 elicitor, *A. vitis* és HD *A. vitis* kezelés hatására, illetve az élő *A. vitis* által kiváltott expresszió változása az elölt *A. vitis* következtében megjelenő változáshoz viszonyítva. Szignifikancia szint:  $\geq 2$  és  $-2 \leq$ . *VvGLP3*: germin-szerű fehérje 3 (*Vitis vinifera*); *PR 1B*: patogenezishez kapcsolt fehérje 1B; *VvPR1prec*: patogenezishez kapcsolt fehérje 1 prekuzora (*Vitis vinifera*); *PRP1*: patogenezishez kapcsolt fehérje 1 prekuzora; *VvChit3*: kitináz 3 (*Vitis vinifera*); *Chib1*: savas endokitináz; *VvChitinase*: kitináz (*Vitis vinifera*); *CYP71D7* homológ: transzkripciós faktor; *C3HC4 ring finger*: C3HC4 típusú zink ujj fehérje; *RK20-1*: receptor kináz; *SHR5 (1)* és *(2)*: receptor-szerű kináz.

A kutatás során megfigyelt lokálisan szisztémizálódó hatás hátterében is jelentős génkészlet változások állnak. A korábban bemutatott tüneteket először kísérleti hibaként jelöltük. Az array analízis azonban rávilágított, hogy PTI-t kifejező levélterületek szomszédságában lévő, de indukciós kezelés nélküli levélszövetben, 24 órával később milyen nagy mértékű a génkifejeződésbeli változás. 15-60-szoros génaktivációt is leírtunk a szisztémikus hatás alatt. Az aktiváció erősségét a flagellin és *A. vitis* által legmagasabb mértékben (7,4 és 6,5-szeresen) aktivált katalitikus funkciójú gén tükrében tartjuk jelentősnek. Megemlítendő, hogy ugyanez a gén a szisztémikus hatás alatt 36-szoros aktivációt mutatott. Az igen jelentősen aktiválódott gének az elsődleges és másodlagos anyagcsere, jelátvitel, a rezisztencia és ingerre adott válasz funkciójú génkészlet tagjai.

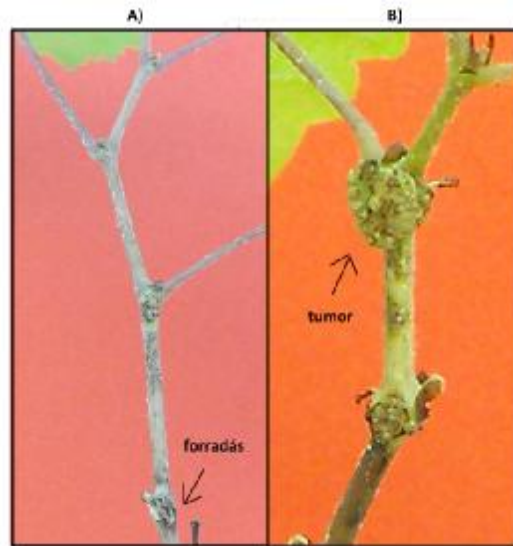


5. ábra A lokálisan szisztémizálódó, rövid távú hatás (sctrl) alatt bekövetkező génexpressziós változások ábrázolása, a gének funkciója alapján besorolt csoportok szerinti arányokban.

Az *Agrobacterium* saját fertőzési rendszerének kiegészítéseként használja és módosítja a növényi védekezési rendszert. Szőlőben a szisztémizálódó hatás, a flagellin által aktivált és az élő *A. vitis* által gátolt gének közös halmazában keresendők azok a kulcsfontosságú gének, melyek funkcióját, rezisztenciában betöltött szerepét csendesítéssel tudjuk igazolni. A közös halmazból az előzőekben kiemelt géneket valós idejű PCR módszerrel vizsgáltuk. Természetesen az array és valós idejű PCR eredmények nem összevethetőek, de a PCR során több mintavételi időpontot, kezelést is vizsgálhatunk. A katalitikus funkciójú génre indítószekvenciát tervezve kimutattuk, hogy mind a flagellin, mind az *A. vitis* erős indukciót váltott ki a gén átíródására 15 órával az infiltrálást követően. A *CHIT3* gén esetében is megerősítést kaptunk az array eredményekre. Valós idejű PCR-rel visszaigazoltuk a *CHIB1*, *SHR5*, *germakrén D-szintáz* gének flagellin, *A. vitis*, továbbá hővel előlt *Pseudomonas* infiltrációt követően. A kutatás eredményeként kiemelt géneket tovább visszük géncsökkentési konstrukcióban történő funkcionális genomikai területre.

Az üvegházi körülmények között végzett tumorindukáló fertőzéseket a golyvásodással szemben ellenálló *Vitis vinifera* cv. 'Kövidinka' és a fogékony 'Arany sárféher' fajták keresztezéséből származó magoncpopuláción végeztük. Az *A. vitis* AT1 és az *A. vitis* S4 törzssel való fertőzést követően minden magoncon képződött tumor, tehát ezeket pozitív kontrollként értékeltük. Az *A. vitis* AB3 törzssel történő fertőzést követően az egyedek döntő többségében tumorindukálódást tapasztaltunk, de a 15-ös és a 21-es egyedek esetében nem alakult ki tumor, tehát ezek az egyedek ellenállóbbnak bizonyultak.

Az *A. tumefaciens* A348 baktérium 80 %-ban nem okozott tumort a szőlő növényeken. Az *A. vitis* Tm4 és az *A. tumefaciens* C58 törzsek esetében, egyazon magoncból származó több egyed vizsgálata során egyaránt tapasztaltunk tumorosodást és negatív eredményt is. A 15-ös egyed ebből a szempontból is kiemelendő, az *A. vitis* Tm4 törzssel szemben ellenállóságot mutatott, nem alakult ki tumor egyik fertőzési kísérletnél sem.



6. ábra. A tumorindukáló fertőzéssel szemben ellenálló (A) és fogékony (B) egyed. A fertőzés után 6 héttel az ellenálló egyeden kialakul a sebzés következtében a forradás, míg a fogékony egyeden a tumor.

Az átlagtól eltérő fogékonyságot mutató egyedeket az 1. táblázatban mutatjuk be. Hasonlóan a 15-ös egyedhez, a 14-es egyed, az átlagtól eltérően, nem mutatott fogékonyságot az *A. vitis* AB3 és Tm4 törzsek által okozott tumorosodásra. A 67-es és a 98-as számú egyedek az *A. tumefaciens* törzsekkel szemben ellenállónak bizonyultak, viszont az *A. vitis* törzsekkel történő fertőzés eredményeképpen tumorok képződtek. Az *Agrobacterium*ra fogékony és rezisztens fajták keresztezéséből származó egyedek különböző mértékben hordozták magukban a baktériummal szembeni védekezésre szolgáló tulajdonságokat. A magoncpopulációból származó egyedek rezisztenciájának ismerete a különböző *Agrobacterium* törzsekkel szemben, lehetőséget nyit a hagyományos nemesítés számára is. Array és PCR eredményeink, amik összefoglalják az élő és elölt *A. vitis* által kiváltott transzkripciós változásokat, megalapozzák a magoncpopuláció kiemelt egyedeinek további vizsgálatait. Ezzel párhuzamosan a tumorindukáló fertőzésekkel szemben ellenállónak bizonyult egyedek teljes fehérje extraktum vizsgálata a közeljövő elsődleges feladatai közt szerepel.



## 1. táblázat:

Az ellenálló és fogékony fajták keresztezéséből származó magoncpopuláció egyes egyedeinek tumorosodásra való hajlama, különböző baktérium törzsekkel történő fertőzések esetén (+ tumorosodás; - nem alakult ki tumor; N: nincs adat).

Egyed	Baktériumtörzs					
	<i>Agrobacterium vitis</i>				<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	
	AB3	Tm4	S4	AT1	A348	C58
10	+	—	+	+	N	—
14	—	—	+	+	N	N
15	—	—	+	+	N	N
21	—	+	+	+	N	+
39	+	+	+	+	N	N
67	+	N	+	+	—	—
98	N	N	+	+	—	—
127	N	—	+	+	N	+
130	+	—	+	+	—	—
189	+	—	+	+	N	—

### A projekt utóélete:

A kutatási futamidő alatt lehetőségünk nyílt a szőlő általános védekezésének aprólékos vizsgálatára és tulajdonságainak, molekuláris hátterének leírására, bemutatására. A projekt eredményeinek egyes részeiből a Budapesti Corvinus Egyetem Növénybiotechnológus mester szakán a pályázatra alkalmazott egyetemi hallgató a 2013. év legjobb dolgozata és diplomavédésével díjazott munkát állított össze. A futamidő végeztével azonban a kutatás nem áll le. Az OTKA által finanszírozott posztdoktori projekt témáját, az agrobaktérium rezisztencia kutatását az újjászervezett minisztériumi kutatóhálózat (Nemzeti Agrárkutatási és Innovációs Központ, NAIK) befogadta, így további lehetőség van a beszámolóban is említett hátralévő kísérletek, elemzések elvégzésére és a gyakorlatba való adaptálására. Mivel egy kutatást nem csak a számos eredmény és diagram tesz értékesé, ezért eredményeink publikálása folyamatosan történik. Előző részjelentésünkben már előjeleztük, és itt ismét kérjük a Tisztelt Zsűri Bizottságot, hogy a projektet, eredményeinket és a publikációs tevékenységet az újraértékelési kérelem tükrében szíveskedjen értékelni.

## Felhasznált irodalom:

- Aziz, A., Poinssot, B., Daire, X., Adrian, M., Bézier, A., Lambert, B., Joubert, J-M., Pugin, A., 2003. Laminarin elicits defense responses in grapevine and induces protection against *Botrytis cinerea* and *Plasmopara viticola*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* Vol. 16, No. 12, pp 1118-1128.
- Burgyán J., Klement Z., 1979. Early induced selective inhibition of incompatible bacteria in tobacco plants. *Phytopathologica Mediterranea*, Vol.18, pp 153-161.
- Burr, T.J., Otten, L., 1999. Crown gall of grape : biology and disease management. *Annual Review of Phytopathology* Vol. 37, pp 53-80.
- Chang, X., Nick, P., 2012. Defence signalling triggered by flg22 and harpin is integrated into a different stilbene output in *Vitis* cells. *PLoS ONE*, Vol. 7, Issue 7, e460446
- Conrath, U., 2006. Systemic acquired resistance. *Plant Signaling and Behavior* Vol. 1 , pp 179-184.
- Deng, W., Pu, X-A., Goodman, R.N., Gordon, M.P., Nester, E.W., 1995. T-DNA genes responsible for inducing a necrotic response on grape vines. *Molecular Plant –Microbe Interactions* Vol. 8, No. 4, pp 538-548.
- Godfrey, D., Able, A.J., Dry, I.B., 2007. Induction of grapevine germin-like protein (VvGLP3) gene is closely linked to the site of *Erysiphe necator* infection: a possible role in defense? *Molecular Plant-Microbe Interactions* Vol.20, No.9, pp 1112-1125.
- Jeong, J.A., Yoo, S.J., Yang, D.H., Shin, S.H., Lee, M.C., Cho, B.H., Yang, K-Y., 2008. Transgenic rice plants expressing an active tobacco mitogen-activated protein kinase kinase induce multiple defense response. *Journal of Plant Pathology* Vol. 24, pp 375-383.
- Newman, M. A., Sundelin, T., Nielsen, J. T. and Erbs, C. 2013, MAMP (microbe-associated molecular pattern) triggered immunity in plants. *Front Plant Sci*, 4 (139): 1-14.
- Pitzschke, A. and Hirt, H. 2010, New insights into an old story: *Agrobacterium* induced tumour formation in plants by plant transformation. *EMBO J* 29: 1021-1032.
- Szalontai, B., Stranczinger, SZ., Palfalvi, G., Mauch-Mani, B. and Jakab, G. 2012, The taxon-specific paralogs of grapevine PRLIP genes are highly induced upon powdery mildew infection. *J Plant Phys*, 169: 1767-1775.
- Tholl, D., 2006. Terpene synthases and the regulation, diversity and biological roles of terpene metabolism. *Current Opinion in Plant Biology* Vol: 9, pp 1-8.
- Zipfel, C., Kunze, G., Chinchilla, D., Caniard, A., Jones, J.D.G., Boller, T., Felix, G., 2006,. Perception of the bacterial PAMP EF-Tu by receptor EFR restricts *Agrobacterium*-mediated transformation. *Cell* Vol. 125, pp. 749-760.