**Fluoreszcenciás módszerek a növény-mikroba interakciók vizsgálatában**

Pál Vági1,2, Dániel G. Knapp1, Annamária Kósa1, Áron N. Horváth2, Erik Zajta1, Gábor M. Kovács1,2

1Eötvös Loránd Tudományegyetem, Növényszervezettani Tanszék, 1117 Budapest, Pázmány Péter sétány 1/c

2MTA ATK NÖVI, Növénykórtani Osztály, 2462 Martonvásár, Brunszvik u. 2.

A növények többségét egyszerre számos mikroba kolonizálhatja. Az ilyen együttélések egy része látszólag tünetmentes, de a patogének, endofitonok vagy különböző típusú mikorrhizaképző gombák jelentős ökológiai szereppel bírnak1.

A molekuláris diverzitásbecslő technikák az együttélő partnerek óriási változatosságát tárták fel2. Ezek a vizsgálatok elsősorban a sejtmagi riboszomális DNS-t célzó PCR módszereken alapulnak, és nem alkalmasak az együttélő partnerek specifikus vizualizálására, mennyiségük becslésére és az interakciók kialakulása- és működése dinamikájának vizsgálatára.

Az együttélő partnerek növényben történő, *in situ* megfigyelése általában nem könnyű feladat a növények, gombák és más együttélő partnerek sajátságai miatt. A vizsgálatokat akadályozhatja a növényi-, bakteriális- és gombasejtfal, a speciális metabolitok, és a növényi mintákban általánosan megfigyelhető erős autofluoreszcencia.

Az interakciók gombapartnereinek mikroszkópos vizsgálata többek között speciális sejtfalkomponensek jelölésén alapulhat3, de az ilyen módszerek alkalmatlanok több gombapartner szimultán azonosítására, azonban alkalmasak lehetnek az interakciók partnerei mennyiségének meghatározására.

Kísérleteznek fluoreszkáló proteineket expresszáló gombatörzsekkel is4, de ilyen esetekben le kell mondani a terepi minták vizsgálatáról, ráadásul az ilyen típusú kísérletek száma nagyon alacsony.

A fluoreszcens *in situ* hibridizációs (FISH) technikák alkalmasnak bizonyultak több gombapartner növényben történő egyidejű vizualizálására és azonosítására5. Ehhez egy hagyományos FISH-protokollt számos pontján szükséges módosítnai. Hasonló formájában a FISH alkalmazható az endofiton- és egyéb gombákat kolonizáló bakteriális partnerek megjelenítésére és azonosítására is.

1. Porras-Alfaro, A. & Bayman, P. Hidden fungi, emergent properties: endophytes and microbiomes. *Annu. Rev. Phytopathol.* **49**, 291–315 (2011)

2. Hibbett, D.S., Ohman, A. & Kirk, P.M. Fungal ecology catches fire. *New Phytol.* **184**, 279–282 (2009)

3. Hoch, H.C. *et al.* Two new fluorescent dyes applicable for visualization of fungal cell walls. *Mycologia* **97**, 580–588 (2005)

4. Lorang, J.M. *et al.* Green fluorescent protein is lighting up fungal biology. *Appl. Environ. Microbiol.* **67**, 1987–1994 (2001)

5. Vági, P. *et al.* Simultaneous specific in planta visualization of root-colonizing fungi using fluorescence in situ hybridization (FISH). *Mycorrhiza* **24**, 259–66. (2014)