

A szalicilsav előkezelés hatása a sóstressz akklimatizációra különös tekintettel a
glutation transzferázok szerepére paradicsom és lúdfű növényekben

Doktori (Ph.D.) értekezés

Horváth Edit

Témavezető:

Dr. Csiszár Jolán

egyetemi docens

Biológia Doktori Iskola

Növénybiológiai Tanszék

SZTE TTIK



Szeged

2015

Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke	4
1. Bevezető	6
2. Irodalmi áttekintés	8
2.1 A szalicilsav	8
2.1.1 Általános jellemzése	8
2.1.2 A SA fiziológiai hatásai	10
2.1.3 A SA által szabályozott jelátvitel	12
2.1.4 Az ABS és a SA kölcsönhatása	13
2.1.5 Az ABS és szerepe a sóstressz során	14
2.2 A sóstressz	15
2.2.1 Általános jellemzése, hatása a növények fejlődésére	15
2.2.2 Nem-enzimatis és enzimatis antioxidánsok szerepe a sóstressz válaszban	18
2.3 A glutation transzferázok	20
2.3.1 A GST-k általános jellemzése	20
2.3.2 A tau és phi csoportú <i>Arabidopsis thaliana</i> GST-k	23
2.3.3 GST-k szerepe a sóstresszben	24
2.4 A SA szerepe a sóstressz akklimatizációban és az edződés folyamatában	26
3. Célkitűzések	28
4. Anyagok és módszerek	30
4.1 Növénynevelési körülmények	30
4.1.1 Lúdfű (<i>Arabidopsis thaliana</i> , Col-0)	30
4.1.2 Paradicsom (<i>Solanum lycopersicum</i> Mill. L. cvar. Rio Fuego)	32
4.2 Elemtartalom meghatározás induktív csatolású plazma tömegspektrométerrel	33
4.3 Életképesség meghatározása és reaktív oxigénformák detektálása fluoreszcens mikroszkóppal	33
4.4 A H ₂ O ₂ tartalom kvantitatív meghatározása	34
4.5 A malondialdehid tartalom meghatározása	34
4.6 Az antioxidáns enzimek aktivitásának meghatározása	35
4.6.1 Szuperoxid-dizmutáz (SOD) (EC 1.15.1.1)	35
4.6.2 Kataláz (KAT) (EC 1.11.1.6)	35
4.6.3 Gvajakol peroxidáz (POD) (EC 1.11.1.7)	36
4.6.4 Glutation transzferáz (GST), glutation peroxidáz (GPOX) és dehidroaskorbát redukáz (DHAR) aktivitás meghatározása	36
4.7 Az abszcizin-aldehid oxidáz (AO) (EC 1.2.3.1) aktivitás mérése	37
4.8 Szekvencia keresés, filogenetikai és promóter analízis	37
4.9 RNS izolálás, cDNS átírás és QRT-PCR (kvantitatív valós idejű polimeráz láncreakció)	38
4.10 Statisztikai értékelés	39
5. Eredmények	40
5.1 Lúdfű növények növekedésében bekövetkező változások SA előkezelés és azt követő sóstressz hatására	40
5.2 Elemtartalom változása a SA előkezelést és a sóstresszt követően	41
5.3 ROS és H ₂ O ₂ tartalom SA előkezelt és sóstressznek kitett lúdfű növényekben	43
5.4 A lipidperoxidáció mértékének meghatározása SA előkezelt lúdfű növényekben sóstressz során	44
5.5 Az enzimatis antioxidánsok aktivitása SA előkezelés és sóstressz alatt	45
5.6 GST és GPOX aktivitásban bekövetkező változások lúdfű növényekben SA előkezelést követő sóstressz akklimatizáció során	47
5.7 <i>In silico</i> promóter régió vizsgálat	48
5.8 A kiválasztott <i>AtGST</i> gének expressziójában bekövetkező változások	48

5.9	GST gének mutációjának hatása a lúdfű csíranövények GST aktivitására, életképességére és gyökérnövekedésére	50
5.10	Paradicsom növények növekedésében bekövetkező változások SA előkezelés hatására sóstressz akklimatizáció során	53
5.11	SA előkezelés hatása paradicsom növények H ₂ O ₂ tartalmára sóstressz során	53
5.12	Paradicsom növények levelének és gyökerének GST, GPOX és DHAR aktivitása SA előkezelést követő sóstressz akklimatizáció során	54
5.13	Paradicsomban található GST gének filogenetikai csoportosítása és génexpressziójuk vizsgálata SA előkezelés és sóstressz során.....	56
5.14	Promóter régió <i>in silico</i> vizsgálata	60
5.15	AO aktivitás SA előkezelt és sóstressznek kitett paradicsom növényekben	60
5.16	ABS bioszintézis gének expressziója SA előkezelés és sóstressz során paradicsom növények levelében és gyökerében	61
6.	Eredmények értékelése	65
6.1	A hosszútávú SA előkezelés hatása a lúdfű és paradicsom növények sóstressz akklimatizációjára	65
6.2	GST mutáció hatása <i>Arabidopsis thaliana</i> rövidtávú sóstressz válaszára	71
7.	Összefoglalás	74
8.	Summary	77
9.	Felhasznált irodalom	80
10.	Publikációs lista	97
11.	Köszönetnyilvánítás	104
	Mellékletek	105

Rövidítések jegyzéke

ABAl	abszcizin-aldehyd
ABS	abszcizinsav
AO	aldehyd oxidáz
APX	aszorbát peroxidáz
Asc	aszorbinsav
BHT	butilált hidroxitoluol
BIT	benziszotiazol-3(2H)-on-1,1-dioxid
BITC	benzilizotiocianát (benzylisothiocyanate)
CCD	karotinod hasító dioxygenáz (carotenoid cleavage dioxygenase)
CDNB	1-klór-2,4-dinitrobenzol
CHP	kumén hidroperoxid
DHA	dehidroaszorbát
DHAR	dehidroaszorbát redukáz
DTT	ditiotritol
FAD	flavin-adenin-dinukleotid
FDA	fluoreszcein diacetát
FT	friss tömeg
GFP	zöld fluoreszcens fehérje (green fluorescent protein)
GPOX	glutathion peroxidáz
GR	glutathion redukáz, GSSG redukáz
GSH	redukált glutathion (γ -glutamil-ciszteinil-glicin)
GSSG	glutathion-diszulfid, oxidált glutathion
GST	glutathion transzferáz
H ₂ DCFDA	2'-7'-diklór-dihidro-fluoreszcein diacetát
HR	hiperszenzitiv reakció
ICP-MS	plazma indukciós tömeg spektrométer
KAT	kataláz
MAPK	mitogén aktivált protein kináz
MDA	malondialdehyd
MDHA	monodehidroaszorbát

MDHAR	monodehidroaszorbát redukáz
MES/KCl	2-N-morfolin-etánszulfonsav/kálium-klorid
MeSA	metil-szalicilát
MS	Murashige-Skoog tápsó
MTT	3(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólium-bromid
NahG	bakteriális szalicilát-hidroxiláz kódoló gén
NBT	tetrazólium kék (nitroblue tetrazolium chloride)
NCED	9-cisz-epoxikarotin dioxigenáz
NPR1	„non-expressor of pathogenesis-related genes 1”
PMSF	fenil-metil-szulfonil-fluorid
POD	gvajakol peroxidáz
PR	Patogén kapcsolt gének/fehérjék (Pathogene related genes/proteins)
PVPP	polivinil-polipirrolidon
QRT-PCR	kvantitatív valós idejű polimeráz láncreakció
ROS	„reactive oxygen species”, reaktív oxigénformák
SA	szalicilsav
SABP	szalicilsav-kötő protein (Salicylic acid-binding protein)
SAR	szisztémikus szerzet rezisztencia (<u>s</u> ystemic <u>a</u> cquired <u>r</u> esistance)
SOD	szuperoxid dizmutáz
SZT	száraz tömeg
TCA	triklórecetsav
TCHQD	tetraklórhidrokinon dehalogenáz
ZEP	zeaxantin epoxidáz

1. Bevezető

A növényeket a környezetükben számos stresszhatás érheti, amelyeket biotikus és abiotikus stresszorok idézhetnek elő. A sóstressz egyike a legjelentősebb abiotikus stresszoroknak, amely a növények csaknem minden fiziológiai és biokémiai folyamatára hatással van, csökkenti a növekedést és a terméshozamot, felgyorsult fejlődést, szenescenciát és a növény pusztulását okozza. A terméshozam csökkenés visszaszorítására több megoldás is létezik, amelyek egyike a nemesítés során a stressztűrőbb fajtákat szelektálása. Ahhoz, hogy a nemesítés hatékonyabb legyen a növények stressz ellenállóságának jobb megismerése nélkülözhetetlen, az akklimatizációban szerepet játszó folyamatok megértése és a stressztoleranciában fontos gének azonosítása szükséges. A növények stressztűrésének javítására a nemesítés mellett más módszereket is keresnek. A szalicilsav (SA) „priming” hatása már több mint 20 éve ismert és exogén alkalmazása ilyen alternatív megoldás lehet. A külsőleg alkalmazott SA sóstresszel szembeni ellenállóságot képes kiváltani, azonban bebizonyosodott, hogy ez a hatás függ a növények fejlődési stádiumától, a kezelés módjától és az alkalmazott koncentrációtól.

Korábbi kísérletek eredményeként a hidropónikus rendszerben alkalmazott SA előkezelés paradicsom növények (*Solanum lycopersicum*) sóstressz akklimatizációjára gyakorolt pozitív hatása, amelyben az abszcizinsav (ABS) szintjének változása is szerepet játszik, már ismert volt. Ezért paradicsom növényekben megvizsgáltuk az ABS bioszintézishez kapcsolódó gének expresszióját és az egyes enzimek aktivitását. Emellett munkánk során célul tűztük ki a széles koncentráció-tartományban és hosszútávú előkezelésben alkalmazott SA hatásainak vizsgálatát a genetikai modellként széles körben alkalmazott lúdfű (*Arabidopsis thaliana*) növényeken. A lúdfű modellnövényként lehetőséget kínál a folyamatok hátterének jobb megismeréséhez. Kísérleteinkhez kidolgoztunk egy hidropónikus rendszert és a másodlagosan alkalmazott sóstressz során vizsgáltuk a hosszútávú SA előkezelés hatását lúdfű növények növekedésére, ROS tartalmára és lipidperoxidációjára kifejtett hatását. Összehasonlítottuk az antioxidáns enzimek aktivitásában bekövetkező változásokat az előkezelés és a sóstressz során, a másodlagosan jelentkező oxidatív stressz káros hatásának kivédésében fontos glutation transzferáz (GST) enzimesalád GST és glutation peroxidáz aktivitását és az egyes *AtGST* gének expressziójában bekövetkező változásokat. Kiválasztottunk két *AtGST* mutáns lúdfű vonalat (*Atgstf9* és *Atgstu19*), hogy egyetlen *GST* gén mutációjának hatását

tanulmányozzuk rövidtávú SA- vagy NaCl kezelés hatására. Továbbá paradicsomban is vizsgáltuk a GST aktivitásában és expressziójában megfigyelt változások alapján a GST enzimcsaládot.

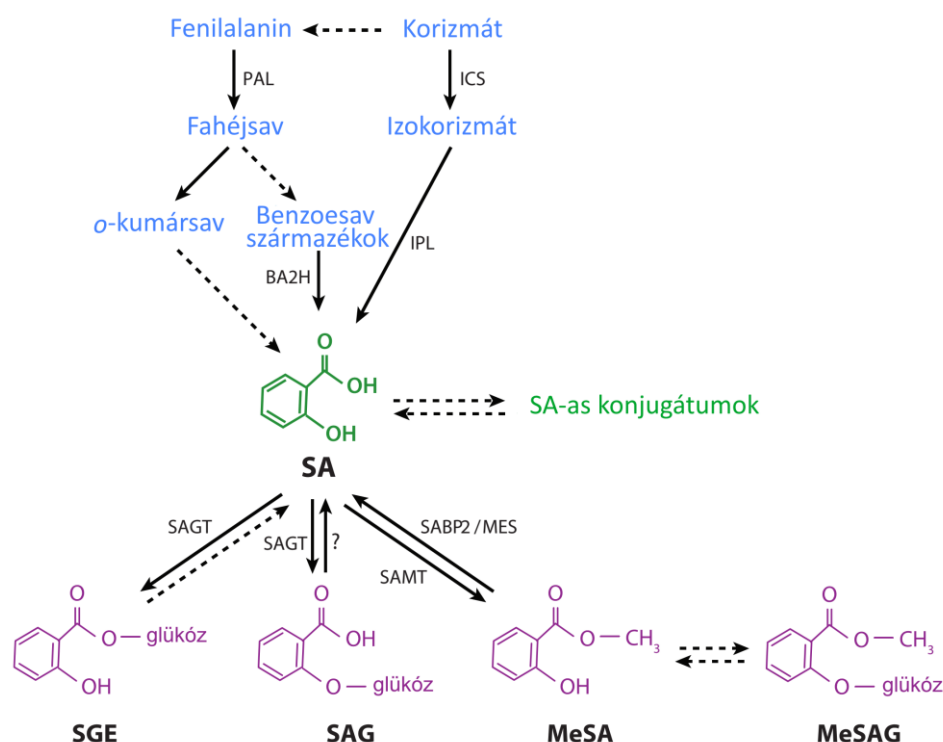
2. Irodalmi áttekintés

2.1 A szalicilsav

2.1.1 Általános jellemzése

A szalicilsav (SA), kémiai nevén *o*-hidroxibenzoésav egy természetesen előforduló fenolos vegyület, amely az egész növényvilágban elterjedt (Raskin 1992). A SA-at ugyan a talajban található mikroorganizmusok is képesek előállítani, de a növényekbe leggyakrabban nem a környezetből kerül, hanem a növényi szövetekben szintetizálódik. Bioszintézise két útvonalon történhet, és mindkét útvonal a korizmátból indul ki (1. ábra). A citoplazmatikus útvonalon a SA korizmisavból L-fenilalaninon keresztül szintetizálódik, míg a kloroplasztiszban végbemenő folyamat során a SA izokorizmáton keresztül, kétlépéses reakcióban alakul ki (Vlot és mtsai. 2009, Rivas-San Vicente és Plasencia 2011).

A különböző növényfajok SA tartalma igen eltérő lehet, akár egy adott családon belül is nagy különbségeket figyelhetünk meg. Például, amíg a *Solanaceae* családba tartozó dohány alacsony alap SA tartalommal rendelkezik (SA tartalom $<0,1 \mu\text{g g}^{-1}$ friss tömeg), addig a burgonya 1 g friss tömegre (FT) vonatkoztatva akár $10 \mu\text{g}$ SA-at is tartalmazhat, a paradicsom pedig $0,15 \mu\text{g}$ -ot. A modellnövényként fontos lúdfű (*Arabidopsis thaliana*) SA tartalma kontroll körülmények között $0,25 - 1 \mu\text{g g}^{-1}$ FT (Raskin 1992, Mandal és mtsai. 2009, Hayat és mtsai. 2010; Rivas-San Vicente és Plasencia 2011). Az endogén SA szint jelentősen megnövekedhet fertőzést követően paradicsomban *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* (Mandal és mtsai. 2009), dohány növényekben pedig dohány mozaik vírus hatására (Enyedi és mtsai. 1992).



1. ábra: A szalicilsav bioszintézis és metabolizmus sematikus ábrája Vlot és mtsai. (2009) alapján. (as: aminosav, BA2H: benzoésav-2-hidroxiláz, ICS: izokorizimát-szintáz, IPL: izokorizimát-piruvát-liáz, MES: metil-szalicilsav-észteráz, MeSA: metil-szalicilsav, PAL: fenilalanin-ammónia-liáz, MeSAG: metil-szalicilsav *O*- β -glükózid, SA: szalicilsav, SABP2: SA-kötő fehérje 2, SAG: szalicilsav *O*- β -glükózid, SAGT: szalicilsav-glükózil-transzferáz, SAMT: szalicilsav-metiltranszferáz, SGE: szalicilsav-glükóz-észter)

A SA megemelkedett szintje szorosan összefügg a patogénekkal szembeni ellenállóképesség növekedésével (Raskin 1992, Shirasu és mtsai. 1997, Vlot és mtsai. 2009). Szabályozza az „oxidatív robbanást”, amely a hiperszenzitív reakció (HR) során programozott sejthalálhoz vezet. A fertőzés helyén az ionáramokban és a reaktív oxigénformák (reactive oxygen species, ROS) mennyiségében kialakuló gyors változások jelátviteli kaszkádot indítanak el, aminek során transzkripciós faktorok aktiválásán keresztül indukálódnak a védekezésben fontos gének, köztük a SA szintéziséhez direkt vagy indirekt módon hozzájáruló fehérjék génjei (Dangl és Jones 2001, Métraux 2001, Ashraf és mtsai. 2010). A megemelkedett SA szint, mint fontos jelátviteli molekula a patogének által indukált lokális- és szisztémikus szerzett rezisztenciában (systemic acquired resistance, SAR) és a környezeti stresszorok elleni védekezésben is szerepet játszik (Shirasu és mtsai. 1997, Hayat és mtsai. 2010). A fertőzött

szervből a SA képes a floémen keresztül a nem fertőzött szervekbe eljutni (Métraux és mtsai. 1990, Rasmussen és mtsai. 1991). A transzport forma a metil-szalicilát (MeSA), amely egy inaktív prekursor (Vlot és mtsai. 2009). A SA-at a SA karboxil metiltranszferáz metilálhatja, és az így keletkezett MeSA fontos része a SAR kialakításának (Park és mtsai. 2007). A SA nagyobb része konjugátumként, glükozilált vagy metilált formában található a növényekben. A konjugációs reakcióban leggyakrabban a hidroxil csoport vesz részt és csak ritkább esetben a karboxil csoport (1. ábra). A SA glükoziltranszferáz enzim által a citoplazmában létrehozott SA glükozid a vakuólumba transzportálódik, ahol raktározódhat és szükség esetén visszaalakulhat SA-vá (Dean és Mills 2004).

2.1.2 A SA fiziológiai hatásai

A SA hat a növények fejlődésére és más szervezetekkel történő kölcsönhatására (Raskin 1992). Számos fiziológiai és biokémiai folyamatot szabályoz, köztük a magok csírázását, a növekedést és produktivitást, a fotoszintézist, a vízháztartást és a szénésztercenciát (Rivas-San Vicente és Plasencia 2011). Részt vesz a sejt redox állapotának szabályozásában, az antioxidáns enzimek aktivitásának módosításán és az alternatív légzési útvonal indukcióján keresztül (Durner és mtsai. 1997, Slaymaker és mtsai. 2002, Moore és mtsai. 2002).

Megemelkedett endogén SA szinttel rendelkező lúdfű (*Arabidopsis thaliana*) mutánsokon végzett vizsgálatokkal bizonyították, hogy a magas SA koncentráció növelheti a növényekben az oxidatív stressz ellen védő enzimatis és nem-enzimatis antioxidánsok szintjét, azonban emelheti is a ROS mennyiségét. A SA túltermelő *snc1* (*suppressor of npr1-1 constitutive 1*), lúdfű mutánsok magasabb szuperoxid dizmutáz (SOD) és gvajakol peroxidáz (POD) aktivitás mellett alacsonyabb kataláz (KAT) aktivitással rendelkeztek kontroll körülmények között, és a megemelkedett oxidatív stressz jeleként nőtt a malondialdehid (MDA) szintjük (Hao és mtsai. 2012).

A SA-akkumuláló, állandóan aktivált védekezéssel rendelkező *dnd1* (*defence no death1*) lúdfű mutánsokban módosult a gének átírása: 49 gén represszáldott és 69, többségében a védekezésben szerepet játszó gén indukálódott a vad típusához képest. A *dnd1* növényekben az állandóan megemelkedett SA tartalom és az O₃ kezelés zavart okozott az apoplaztikus ROS jelátvitelben SA-függő és -független jelátviteli útvonalakon keresztül (Xu és Brosché 2014).

A szintén magas SA szintet mutató Cvi-0 lúdfű genotípusban a SA oxidatív robbanást és sejthalálhoz vezető útvonalat aktivált (Rao és Davis, 1999). A Cvi-0 genotípus alacsonyabb GSH/GSSG (redukált/oxidált glutation) és Asc/DHA (redukált/oxidált aszkorbát) arányt mutatott a Columbia (Col-0) ökotípussal összevetve és az enzimatis antioxiánsok (SOD, KAT, POD, aszkorbát peroxidáz – APX és glutation reduktáz – GR) aktivitása is alacsonyabb volt.

Az alacsony SA szinttel rendelkező *NahG* (bakteriális szalicilát-hidroxiáz kódoló gén) transzformáns vonalak viszont megemelkedett GSH/GSSG és Asc/DHA aránnyal rendelkeztek (Cao és mtsai. 2008). A lecsökkent SA tartalom a *sid2* (*SA induction deficient 2*) mutánsokban és a *NahG* vonalakban megemelte a POD aktivitását az *Arabidopsis* magok csírázása során (Lee és mtsai. 2010).

A SA antioxiánsokra gyakorolt hatását külsőleg alkalmazott SA segítségével is sokat vizsgálták, mert az változó lehet, és nagyban befolyásolja az alkalmazott koncentráció és az alkalmazás módja, a növényfaj és a növény fejlődési stádiuma (Horváth és mtsai. 2007, Pál és mtsai 2013). A SA kezelés KAT aktivitást gátló hatásáról többen beszámoltak (Srivastava és Dwivedi 1997, Senaratna és mtsai. 2000, Szepesi és mtsai. 2005, Tasgin és mtsai. 2006), viszont *Brassica napus* L. növényekben az aktivitása nem változott (Haddadchi és Gerrivani 2009), más tanulmányokban pedig SA kezelés hatására a KAT aktivitás megemelkedését írták le (Agarwal 2005a, Simaei 2011, Ahmad és mtsai. 2012). Paprikában (*Capsicum annuum* L.) az alacsonyabb koncentrációkban alkalmazott SA csökkentette, a magasabb koncentrációk növelték a KAT aktivitását (Mahdavian és mtsai. 2007). Ezek az eredmények alátámasztják, hogy az egy fajon belüli KAT aktivitás eltérő változását az alkalmazott SA koncentrációja is befolyásolja (Pál és mtsai. 2013, Tari és mtsai. 2015).

A külsőleg alkalmazott SA azonban más enzimek aktivitására is hat, így bizonyos esetekben a SA serkenti a SOD aktivitását, amely hozzájárul a hidrogén peroxid (H_2O_2) szint emelkedéséhez (Krantev és mtsai. 2008, Sahu és Sabat 2011). A H_2O_2 szintjének szabályozásában szerepet játszó másik enzim, a POD aktivitása több esetben megemelkedett külsőleg alkalmazott SA kezelés hatására (Ananieva és mtsai. 2004, Tasgin és mtsai. 2006, Mahdavian és mtsai. 2007, Ahmad és mtsai. 2012), emellett a SA kezelés növelte az APX, GR, monodehidroaszkorbát reduktáz (MDHAR) és dehidroaszkorbát reduktáz (DHAR) enzimek aktivitását (Dat és mtsai. 2000, Yoon és mtsai. 2004, Agarwal és mtsai. 2005a és 2005b, Mahdavian és mtsai. 2007, Krantev 2008). Ugyanakkor az alkalmazott SA

koncentrációtól függően több tanulmányban számoltak be az antioxidáns enzimek aktivitásának csökkenéséről is (Mahdvian és mtsai 2007, Sahu és Sabat 2011).

2.1.3 A SA által szabályozott jelátvitel

A SA receptorának azonosítására irányuló kísérletek eredményeként írták le az első SA-kötő fehérjét. A SA közvetlenül képes kölcsönhatásba lépni fehérjékkel és gátolni azok aktivitását. Az első szalicilsav-kötő fehérje (SABP - SA-binding protein), amelyet azonosítottak, a kataláz (KAT) volt, amelyről azonban később kiderült, hogy a SA csak bizonyos izoformák aktivitását gátolja (Horváth és mtsai. 2002). Részben ezzel magyarázható a KAT aktivitására gyakorolt változó hatás. A másik SA által gátolt enzim a dohány növényekben azonosított APX, amely szintén a H₂O₂ eliminálásában játszik szerepet (Vlot és mtsai. 2009). A legmagasabb SA-kötő affinitással a SABP2 fehérje – a MES – rendelkezik. SA által történő gátlása a fertőzött dohány növény szöveiben a MeSA felhalmozódását eredményezi, ami a SA nem fertőzött szövetekbe történő transzportját segíti elő (Forouhar és mtsai. 2005, Park és mtsai. 2007). A SABP3 fehérjét, amely a kloroplasztisban található szénsav-anhidráz, szintén dohány növényekben azonosították (Slaymaker és mtsai. 2002). Lúdfüben újabb fehérjét azonosítottak SABP-ként: az α -ketoglutarát dehidrogenáz E2 alegysége és a glutation transzferázok (GST-k), GSTF2, GSTF8, GSTF10 és GSTF11 is képesek SA-at kötni és a SA-val való kapcsolódásuk gátolja az enzimaktivitásukat (Tian és mtsai. 2012).

A SA jelátviteli útvonalakat tanulmányozva megállapították, hogy az egyik fő útvonal az oligomer NPR1 (non-expressor of pathogenesis-related genes 1) molekulák közötti diszulfid hidak redukciójával kapcsolatos. A keletkező monomerek képesek a sejtmagba transzlokálódni és aktiválni az NPR1-függő védekezési gének átírását (Mou és mtsai. 2003). Emellett a glutation mennyiségének ill. H₂O₂-általi oxidáltságának változásai aktiválhatják a SA-függő védekezési géneket NPR1-től függetlenül is (Han és mtsai. 2012). Feltehetően a SA jelátvitelben résztvevő transzkripciós faktorok, mint az NPR1, *TGA-doboz* és *as-1-szerű* (activation sequences-1-like) elemek a SA jelátvitel génexpresszió időbeni szabályozásának redox szenzoraiként működnek, míg az NPR1-független korai SA aktiválta gének termékei antioxidáns és detoxifikáló aktivitással rendelkezhetnek (Blanco és mtsai. 2009).

Az NPR1-függő útvonal mellett ismert a SA MAP kináz (mitogen activated protein kinase, MAPK) kaszkádon keresztüli jelátvitel is. A MAPK kaszkád, amely az eukariótákban elterjedt rendszer, szerepet játszik a SA és/vagy ROS jelátvitelében és a gének működésének szabályozásában (Miura és Tada 2014). Lúdfűben a SA jelátvitel pozitív szabályozói az AtMPK3 és AtMPK6, negatív szabályozója pedig az AtMPK4 (Colcombet és Hirt 2008).

A SA jelátvitelben kulcsfontosságú szerepet kapnak a ROS és a Ca^{2+} (Chen és Kuć 1999, Chen és mtsai. 2001, Kawano és mtsai 2004), emellett a H_2O_2 , a nitrogén monoxid és a kén-hidrogén (H_2S) mint másodlagos jelátvivők szintén részt vehetnek a SA-válasz kialakításában (Gémes és mtsai. 2011, Li és mtsai. 2015).

A SA hat más növényi növekedésszabályozó anyagok, mint az auxinok, a citokininek és az abszcizinsav (ABS) szintjére (Shakirova és mtsai. 2003, Bandurska és Stroiński 2005). A SA akkumuláló *siz1* (SIZ-type small ubiquitin related modifier (SUMO) E3 ligase) lúdfű mutánsokon végzett kísérletekben a SIZ1-et a sztómazáródás és a szárazságstressz negatív regulátoraként jellemezték (Miura és mtsai. 2013). A SA-válasz negatív szabályozóiként ismertek az ozmotikus- és sóstressz során indukálódó WRKY54 és WRKY70 transzkripciós faktorok. A *wrky54wrky70* mutánsok ozmotikus stresszel szembeni magasabb toleranciája a jobb vízmegtartásnak és a megemelkedett sztómazáródásnak volt köszönhető. A WRKY54 és WRKY70 transzkripciós faktorok negatív szabályozói lehetnek a SA bioszintézisének és az ABS szintnek is, és ezáltal indirekt módon a sztómazáródásnak (Li és mtsai. 2013).

2.1.4 Az ABS és a SA kölcsönhatása

A SA és az ABS kölcsönösen gátolják egymás bioszintézisét és jelátvitelét (Yasuda és mtsai. 2008). Ismert, hogy a mag fejlődése során szintetizálódó ABS befolyásolhatja a SA lebontását és szintézisét (Kanno és mtsai. 2010), azonban a SA szerepe az ABS szintézisében még nem teljesen tisztázott. Az ABS szintézisben és akkumulációban mutáns lúdfű növény, az *aba2-2* SA szintje legalább kétszerese a vad típusúénak, ami az ABS-nak a SA szintézis gátlásában vagy a lebontás serkentésében játszott szerepére utal (Kanno és mtsai. 2010). Ezen kívül a BIT (benzisothiazol-3(2H)-one1,1-dioxide) - egy a SAR-t kiváltó vegyület - által indukált SA akkumulációt megakadályozta a növények ABS-val történő előkezelése. A SAR aktiválása csökkentette az ABS bioszintézis gének expresszióját és a külsőleg alkalmazott ABS gátolta a SA jelátvitelt (Yasuda és mtsai. 2008).

A SA és az ABS jelátvitelében emellett pozitív visszacsatolást is megfigyeltek. A SA bioszintézis mutáns *sid2* lúdfű növényekben biotikus stressz során megfigyelhető az ABS szintjének csökkenése, ami a SA-nak az ABS akkumulációjának indukciójában betöltött szerepére utal (de Torres Zabala és mtsai. 2009). Emellett a *SID2* expressziója ABS jelenlétében megemelkedett lúdfű levelében (Seo és Park 2010). Ez alapján feltételezhető, hogy az ABS fejlődési stádiumtól függő- és szövetspecifikus módon indukálja a SA bioszintézisét. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a két növekedésszabályozó anyag egymás szintjét kölcsönösen képes növelni is.

2.1.5 Az ABS és szerepe a sóstressz során

Az ABS számos fejlődési és stressz folyamatban részt vesz (Guóth és mtsai. 2010). Az ABS bioszintézise szárazságstressz során először a gyökérben emelkedik meg, majd a xilémen keresztül transzportálódik a hajtásba, és mint hosszútávú kémiai jel működik (Davies és mtsai. 2005, Wilkinson és Davies 2002 és 2010).

Az ABS bioszintézise a C40-es karotinoidokból indul ki és pozitív visszacsatolással a saját bioszintézisét szabályozza (Xiong és Zhu 2003). Az első, kloroplasztisban lejátszódó reakciót a zeaxantin epoxidáz (ZEP) enzim katalizálja, ami a zeaxantint all-trans-violaxantinná alakítja át (Seo és Koshiba 2002). A sebességmeghatározó lépést, a violaxantin és neoxantin xantoxinná alakítását, a 9-cisz-epoxikarotinoid dioxigenáz (NCED) végzi (Thompson és mtsai. 2000, Ahrazem és mtsai. 2012). Az ezt követő lépések a citoszolban játszódnak le, ahol a xantoxin először abszcizin-aldehiddé (ABAld) alakul át, majd az ABAld-et az aldehid oxidázok (AO-k) ABS-vá alakítják (González-Guzman és mtsai. 2002, Schwatz és Zeevaart 2010). A molibdén hidroxilázok csoportjába tartozó AO-k széles szubsztrátspecifitással rendelkeznek, számos aldehid és aromás heterociklikus vegyület oxidatív hidroxilációját katalizálják. Az ABS ezen kívül ABAld-ből abszcizin-alkoholon keresztül is kialakulhat és a folyamathoz nem szükséges aktív aldehid oxidáz enzim (Cowan 2000).

Az NCED-szabályozta reakció, a neoxantin oxidatív hasítása sebességmeghatározó a levelekben, a nem fotoszintetikus szövetekben viszont, mint a magok és a gyökér, a ZEP szabályozhatja az ABS szintézisét (Xiong és Zhu 2003). Vízhány és magas sókoncentráció

hatására megemelkedik a ZEP és az NCED expressziója (Iuchi és mtsai. 2000, Mulholland és mtsai. 2003, Gallé és mtsai. 2013).

Barrero és mtsai. (2006) kimutatták ABS hiányos lúdfű mutánsokban, hogy ABS-függő ABS bioszintézis szabályozásán kívül ABS-független utak is léteznek növényekben. Megerősítették, hogy az NCED3 reagál leginkább a 300 mM NaCl kezelésre az ABS-hiányos *aba1-101*, *aba2-14*, *aba3-101* és *ao3-2* mutáns vonalakban, így a magas sókoncentráció indukálhatja az *ABA1*, *NCED3* és *AAO3* géneket lúdfűben ABS független úton is.

Az ABAld ABS-vá történő oxidációja egy másik lehetséges szabályozó pont az ABS szintézisében. A három ismert borsó (*Pisum sativum*) AO eltérő expressziós mintázatot mutatott ammónium- és só kezelés alatt fiatal, kifejtett és öregedő levelekben (Zdunek-Zastocka 2008). Az *AO3* gén által kódolt AOδ lúdfű magvakban és levélben az ABS szintézis utolsó lépéséért felelős (Seo és mtsai. 2000, 2004). Az eddig jellemzett AO-ok közül lúdfűben az *AO3* (Seo és mtsai. 2000), árpa gyökerében pedig az *AO2* és *AO3* (Omarov és mtsai. 2003) használnak hatékonyan ABAld-et szubsztrátként. Paradicsomban három AO gént (*TAO1*, *TAO2* és *TAO3*) és 2 AO szekvenciát (*TAO4* és *TAO5*) írtak le (Ori és mtsai. 1997). Ezek az AO gének mind a hajtásban mind a gyökérben kifejeződnek, de szerepük a fiziológiai folyamatokban eltérő lehet a növényekben (Min és mtsai. 2000). Az AO-k szerepét a sóstressz során több tanulmányban is leírták. Dohány kalluszokban 100 mM NaCl megemelte az *AO1* aktivitását és új izoenzim (*AO2*) megjelenését eredményezte (Csiszár és mtsai 2007). A dohány növényhez hasonlóan borsóban is kimutatták 50 és 100 mM NaCl kezelés során az *AO* aktivitás emelkedését (Zdunek és Lips 2001).

2.2 A sóstressz

2.2.1 Általános jellemzése, hatása a növények fejlődésére

Sóstresszről akkor beszélünk, amikor a talajoldatok sókoncentrációja meghaladja a növények számára optimális koncentrációtartományt. Sóstressz alatt leggyakrabban NaCl felhalmozódást értünk, amely visszafordíthatatlan károsodást okoz a terméshozamban, ezért fontos a növények sóstressz során fellépő védekezési folyamatainak megértése. A megemelkedett sókoncentráció összetett módon befolyásolja a növények növekedését és

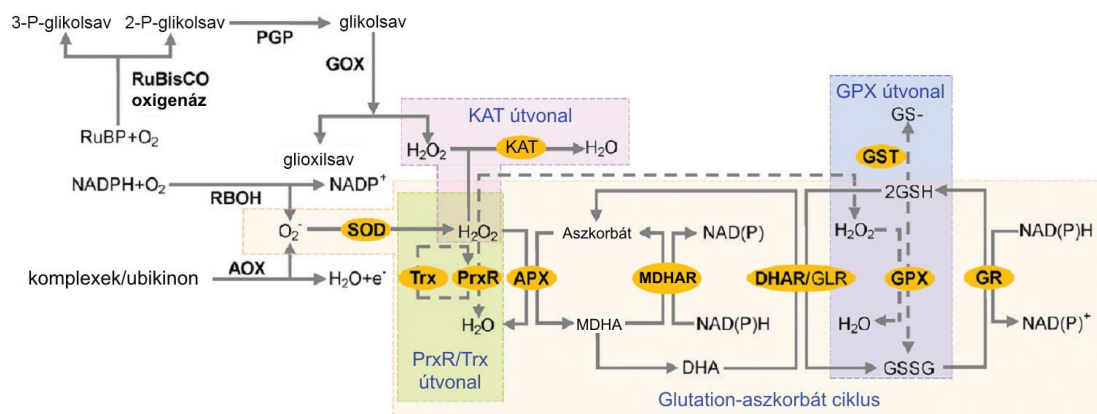
fejlődését. Elsősorban csökkenti a talaj vízpotenciálját és ozmotikus stresszt okoz, másrésről a Na^+ és Cl^- ionok többletben történő felvétele ionos stresszhez vezet

A sóstressz ionegyensúlyra gyakorolt hatása is többértű és a tápanyagelemek egyensúlyának felborítása mellett másodlagosan oxidatív stresszt is okoz (Zhu 2001, 2003, Munns 2005). A Na^+ ionok a nemszelektív kation csatornákon keresztül (NSCC, non-selective cation channel) bejutnak a sejtbe és ezáltal depolarizálják a membránt, aminek következtében nagymértékű K^+ kiáramlás jelentkezik a depolarizáció-aktivált kifelé rektifikáló K^+ (KOR, depolarization-activated outward-rectifying K^+ channel) csatornákon keresztül. Ezzel egyidőben a sóstressz a Ca^{2+} citoplazmában való akkumulációján, ezáltal a Ca^{2+} koncentráció megemelkedésén keresztül aktiválja a NADPH oxidázt, ami a ROS szint növekedéséhez vezet. Az így megemelkedett ROS további K^+ effluxot idéz elő ROS-aktiválható NSCC csatornákon keresztül (Shabala 2009). A Na^+ felhalmozódása a növényi sejtek citoplazmájában toxikus hatású, a fehérjék dehidratálódásához vezet, amelyek így elvesztik natív konformációjukat. Az abnormális K^+/Na^+ arány enzimeket inaktíválhat és gátolja a fehérjeszintézist éppen ezért megfelelő arányuk elengedhetetlen a növények túlélése szempontjából (Shabala 2009).

A megnövekedett külső sókoncentráció másik hatása az ozmotikus stressz (Munns és Tester 2008). Az ozmotikus egyensúly szabályozása ezért rendkívül fontos a növények vízháztartásának fenntartásában (Zhao és mtsai. 2009). Az ozmotikus homeosztázis megőrzése történhet szervesen ozmotikumok (pl. K^+) koncentrációjával, azonban még fontosabb lehet az ún. kompatibilis ozmotikumok szintézise, amelyek olyan szerves oldott anyagokat jelentenek mint pl. a cukrok, a prolin vagy a glicinbetain. A kompatibilis ozmotikumok közös jellemzője, hogy magas koncentrációban sem zavarják meg a sejtek biokémiai folyamatait és biztosítják az enzimek aktivitását is sóstressz során (Zhao és mtsai. 2009).

A sóstressz harmadik hatása az oxidatív stressz, amit a fokozott ROS produkció okoz (Miller és mtsai. 2010). Sóstressz során megemelkedik az olyan reaktív oxigénformák szintje, mint a szuperoxid gyökanion ($\text{O}_2^{\bullet-}$), a H_2O_2 és a hidroxilgyök (OH^{\bullet}), amely magas koncentrációban a sejtek számára végzetes lehet mivel a membránlipidekben, proteinekben és nukleinsavakban oxidatív károsodást okoznak és a redox homeosztázist megváltoztatják (Hasegawa és mtsai. 2000, Foyer és Noctor 2009). A megemelkedett ROS szintet okozhatja a fotoszintetikus elektron transzportlánc megszakítása, a peroxiszmákban termelődő H_2O_2 , a megemelkedett

A növények összetett, a só-válaszra jellemző jelátvitelt és metabolikus folyamatokat alakítottak ki sejt-, szerv- és egyed szintjén, hogy a sóstresszel szemben eredményesen védekezzenek. Zhang és mtsai. (2012) 34 növényfajon végzett proteomikai vizsgálat adatai alapján arra a következtetésre jutottak, hogy a sóstressz válaszában résztvevő proteinek többsége (1501), indukciót mutat és csak kisebb számú protein (856) kifejeződése csökken. Ezért általánosságban elmondható, hogy a sóstressz válasz ill. a sótolerancia kialakulására nagyobb mértékben jellemző a megemelkedett fehérje kifejeződés és anyagcsere aktivitás (Zhang és mtsai. 2012). Glikofita és halofita növényeket összehasonlítva azt is megállapították, hogy a sóstressz válasz során a halofiták olyan specifikus anyagcserével rendelkeznek, amely hatékonyabbá teszi a fotoszintézisüket és energia metabolizmusukat, a ROS eliminálását, az ion homeosztázis fenntartását valamint a kompatibilis ozmotikumok termelését, az antioxidáns enzimek és hormonok indukcióját és a sejtstruktúra módosítását (Zhang és mtsai. 2012) (2. ábra).



17

A sótolerancia tehát komplex jelenség, számos géncsalád együttes működését foglalja magába, amelyek termékei különböző funkciókat látnak el (Abogadallah 2010). Ezek közé tartoznak a sztómákon keresztüli vízvesztés szabályozása, az ionok kizárása, az anyagcsere és az ozmotikumok, valamint az antioxidáns mechanizmusok aktiválása (Zhu 2001, Parida és Das 2005, Miller és mtsai. 2010).

A többlet ROS elleni védekezés elsődleges elemei a nem-enzimatisz antioxidánsok (aszorbát, glutation, karotinoidok, tokoferolok) és az antioxidáns enzimek, amelyek szerepet játszanak a ROS eliminálásában (SOD, KAT, POD, APX) és a sejt redox állapotának fenntartásában (pl. GR, DHAR, MDHAR). A megemelkedett antioxidáns kapacitás gyakran a magasabb stressz - köztük a sóstressz - tolerancia jele (Joseph és Jini 2011), azonban a ROS a különböző stresszorok elleni válasz jelátvitelében is fontos szerepet tölthet be. A ROS-ok jelentőségét különböző stresszhatások elleni tolerancia növelésében, és a rezisztencia kialakításában már többen leírták (Dat és mtsai. 2000, Mittler és mtsai. 2004, Van Breusegem és mtsai. 2008, Jaspers és Kangasjarvi 2010). A magas antioxidáns enzimaktivitást megfigyelték a sótolerancia és a sóstresszel szembeni érzékenység kapcsán egyaránt (Abogadallah 2010).

2.2.2 Nem-enzimatisz és enzimatisz antioxidánsok szerepe a sóstressz válaszban

A növények egyik fő nem-enzimatisz antioxidánsa az aszorbinsav, amely semlegesíti a reaktív oxigénformákat és ezáltal hozzájárul a fotoszintetikus funkciók fenntartásához. Az aszorbinsav többnyire redukált formában (Asc) van jelen a sejtekben, és oxidált formájának (DHA) megemelkedett szintje a stressz tünete lehet. Az aszorbinsav alapvető feladata a növények védekezésében az anyagcsere folyamatok védelme a megemelkedett H_2O_2 szinttel és más oxigén származékokkal, mint pl. a 1O_2 , $O_2^{\cdot-}$ és OH^{\cdot} szemben (2. ábra). Emellett képes a tokoferolt regenerálni, így biztosítva a membránok védelmét. A H_2O_2 átalakításában fontos szerepet játszik az APX, ami két aszorbát molekula felhasználásával alakítja vízzé a H_2O_2 -ot miközben monodehidroaszorbátot (MDHA) képez az Asc-ból (Foyer és Noctor 2009). Az MDHA két módon redukálódhat, spontán módon DHA-tá és Asc-tá alakulhat vagy a MDHAR alakítja át Asc-tá (2. ábra). Vital és mtsai. (2008) kimutatták, hogy az APX aktivitása 2 óra NaCl és parakvát kezelés hatására megemelkedett gyapot kallusokban. Az OsAPXa vagy OsAPXb szekvenciákat túltermelő, transzgenikus *Arabidopsis* növények pedig megemelkedett sóstressz toleranciát mutattak (Lu és mtsai. 2007). Az *Arabidopsis*

AtMDHAR1 gén túltermeltetése dohány növényekben növelte az ózonnal, sóval és polietilén glikollal szembeni toleranciát. A magasabb toleranciát a megemelkedett MDHAR aktivitás következtében akkumulálódó Asc eredményezhette (Eltayeb és mtsai. 2007).

A DHA redukálásáért felelős enzim a DHAR az Asc regenerálása során elektrondonorként redukált glutationt (GSH) használ, ilyen módon összekapcsolja az aszkorbát-glutation ciklust. A GSH egy tripeptid, ami a legtöbb növényi sejtben a legfőbb, nem protein eredetű tiol csoport forrása. A GSH az Asc-hoz hasonlóan nagyobb mennyiségben fordul elő redukált állapotában normál körülmények között. Antioxidáns hatását több módon fejtheti ki. A GSH magas redukációs potenciállal rendelkezik a cisztein csoportnak köszönhetően, így képes a H_2O_2 csapdázására és más ROS, mint a $O_2^{\cdot-}$ és OH^{\cdot} , nem-enzimatis reakción keresztül kioltására (Noctor és mtsai. 2011). Másik antioxidáns mechanizmus során enzimatis úton regenerálja a DHA-ot (aszkorbát-glutation ciklus). Emellett nem-enzimatis úton is képes a DHA redukációjára, miközben oxidálódik és oxidált glutation keletkezik (GSSG). A keletkező GSSG-t a GR enzim alakítja újra GSH-ná. A GR katalizálja az aszkorbát-glutation ciklus utolsó, egyben sebesség-meghatározó lépését, ami szerepet játszik a magas GSH/GSSG arány fenntartásában és ez által hozzájárul az aszkorbát regenerálásához (Noctor és mtsai. 2002). A GR enzim aktivitása sóstressz során megemelkedett gyapot kallusokban (Vital és mtsai. 2008), emellett só szenzitív kukoricában a sókoncentráció növekedésével és *Plantago*-ban só kezelés hatására a GR aktivitás csökkenését írták le (de Azevedo Neto és mtsai 2006, Sekmen és mtsai. 2007).

Számos sószenzitív és sótoleráns genotípus összehasonlító vizsgálata kapcsolta a sótoleranciát a megemelkedett antioxidáns enzimaktivitáshoz (Shalata és mtsai. 2001, Mittova és mtsai. 2002, Sumithra és mtsai. 2006, Sekmen és mtsai. 2007). Amíg néhány tanulmányban egyes antioxidánsok túltermeltetése javította a sótoleranciát (Eltayeb 2007, Prashant 2008), más tanulmányok nem találtak egyértelmű összefüggést a sótolerancia és a megemelkedett antioxidáns aktivitás között (Kim 2004). A felmerülő ellentmondások arra vezethetők vissza, hogy a növények sótoleranciájának különbözősége nem csak ROS-t kioltó képességükben keresendő. A H_2O_2 -detoxifikáló enzimek feladata sokkal inkább az, hogy kontrollálják a H_2O_2 sejten belüli koncentrációját és nem pedig a teljes eltávolítása (Abogadallah 2010).

Az egyes enzimek funkciója is különbözhet. A KAT a POD-nál kisebb affinitással rendelkezik H_2O_2 -vel szemben, így a KAT vélhetően a nagy koncentrációban keletkezett,

többlett H_2O_2 eltávolításában, a POD viszont a H_2O_2 szintjének finom szabályozásában vehet részt (Willekens és mtsai 1997, Noctor és Foyer 1998, Mittler 2002).

Más általános és specifikus szereppel rendelkező fehérjék, mint a GST-k is szerepet játszanak a sóstressz során másodlagosan jelentkező oxidatív stressz hatására képződő citotoxikus anyagok, köztük a lipid peroxidok eliminálásában (Mittler 2002, Jaleel és mtsai. 2009, Potters és mtsai. 2010). A GST-k szerepét a sóstressz válaszban cDNS és protein szinten is leírták (Seki és mtsai. 2002, Ndimba és mtsai. 2005).

2.3 A glutation transzferázok

2.3.1 A GST-k általános jellemzése

A GST-k az élővilágban széleskörűen elterjedt enzimek, megtalálhatóak a baktériumokban, gombákban, rovarokban, emlősökben és a magasabb rendű növényekben egyaránt (Droog 1997). A növényi GST-k diverz, számos funkcióval rendelkező enzimesoportot alkotnak, amelyek katalitikus reakcióik során szubsztrátként GSH-t (γ -Glu-Cys-Gly) használnak.

A GST-eket 7 szolubilis (phi- GSTF, lambda- GSTL, tau- GSTU, théta- GSTT, zéta- GSTZ, dehidroaszorbátreduktáz- DHAR és a tetraklórhidrokinon dehalogenáz- TCHQD) és egy membránhoz kötött (mikroszómális) csoportba sorolták (Edwards és Dixon 2005). Újabban szerkezeti hasonlóságuk miatt az eukarióta transzlációs elongációs faktor 1B γ -alegységét is a növényi GST-k családjába sorolják (Lan és mtsai. 2009, Liu és mtsai 2013).

A GST-k egy, az N-terminális végen lévő GSH-kötő doménnel („G-site”) (Edwards és mtsai. 2000) és egy alfa helikális szerkezetű, C-terminálison található szubsztrátkötő hellyel („H-site”) rendelkeznek. A két domén között található variábilis összekötő régió 5-10 aminosavból áll (Dixon és mtsai. 2002a). A „H-site” hidrofób természetű és a szubsztrátok és ligandok változatos csoportját képes kötni (Dixon és Edwards 2010). A GST-k molekulatömege 25-27 kDa, leggyakrabban homo- és heterodimer formában aktívak. Ez alól kivételt képeznek a lambda és a DHAR csoportok tagjai, amelyek monomer formában aktívak, emellett a katalitikus helyükön szerin helyett ciszteint tartalmaznak (Edwards és Dixon 2005).

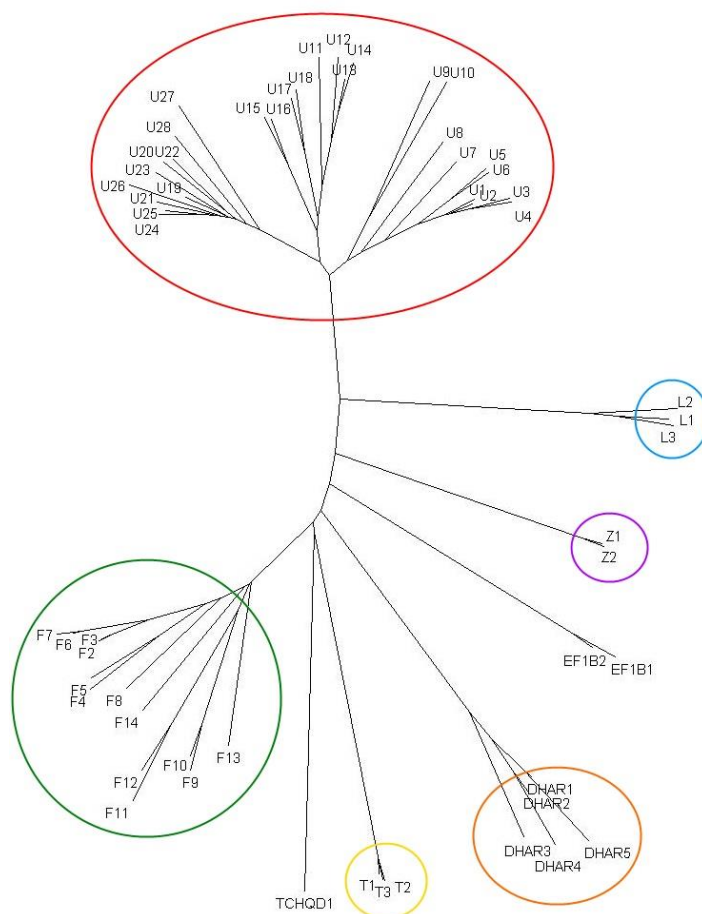
A GST-k szerepét a sejtre káros vegyületek detoxifikálásában és a szövetek oxidatív károsodás elleni védelmében, valamint a másodlagos anyagcseretermékek, pl. a flavonoid

származékok, metabolizmusában és biokémiai reakcióiban már több évtizede leírták (Marrs 1996, Droog 1997). GST-tútermelő transzgenikus növényekben szignifikáns oxidatív stressztolerancia növekedést mutattak ki (Roxas és mtsai. 2000, Zhao és Zhang 2006, Ji és mtsai. 2010). A GST-k enzimatis reakcióik mellett nem-enzimatis, szállító fehérje funkciót is betöltenek és közreműködnek az antociánok vakuólumba történő transzportjában (Kitamura és mtsai. 2004). A GST-k rendelkeznek egy harmadik kötőhellyel is („L-site”), ami a nem-szubsztrát ligandok kötőhelyéül szolgál. A GST-k ezen funkciójuk révén részt vehetnek hormonok (auxinok, citokinin, gibberellinek) sejten belüli raktározásában és transzportjában (Marrs 1996). Így egyes GST-k fontos szerepet töltenek be a hormonok metabolizmusában vagy hatásában és szabályozó szerepük van a növekedésben és fejlődésben. Számos növényi hormon, köztük az auxin, etilén, abszcizinsav, jázmonsav és szalicilsav indukálhatja őket (Cummins és mtsai. 1999, Edwards és mtsai. 2000, Kilili és mtsai. 2004). Szerepük lehet a programozott sejthalál szabályozásában is. Kampranis és mtsai. (2000) az emlős pro-apoptotikus Bax protein alkalmazásával azonosítottak paradicsomban egy tau csoportba tartozó GST-t a Bax-indukálta sejthalál kivédésében szerepet játszó gének között. Ez a „Bax-inhibitor GST” (BI-GST, SIGSTU24) GSH-konjugáló és glutation peroxidáz aktivitást mutatott. Kimutatták továbbá, hogy az élesztőben történő expressziója megemelte a H₂O₂-indukált stressz rezisztenciát, helyreállította a mitokondriális membrán potenciált és a GSH mennyiséget normál szintre állította vissza. További 5 paradicsom GSTU (LeGSTU1-5) fehérjét azonosítottak, amelyek a BI-GST-vel heterodimereket alkottak és ezek a fehérjék képesek voltak kivédeni a pro-oxidánsok indukálta sejthalált élesztő sejtekben (Kilili és mtsai. 2004).

A GST-eket leginkább a genetikai modellnövényként jól ismert lúdfűben jellemezték. Lúdfűben 57 GST szekvencia ismert, amelyet 9, különböző számú taggal rendelkező csoportra oszthatunk. A 3. ábra mutatja a 28 GSTU, 13 GSTF, 3 GSTT, 2 GSTZ, 3 GSTL, 4 DHAR, 2 eukarióta elongációs faktor 1B γ alegységeket és egy TCHQD szekvencia felhasználásával készült filogenetikai törzsfát. A törzsfa nem tartalmazza a mikroszómális GST-t.

A zöld fluoreszcens fehérje (GFP, green fluorescent protein) GST szekvenciához kapcsolásával végzett széleskörű lokalizációs vizsgálatokból kiderült, hogy a theta csoport minden tagja a peroxiszómában lokalizálódik (Dixon és mtsai. 2009). A vizsgált phi (F2, F6, F8, F9 és F12) és tau csoportba tartozó (U2, U7, U9, U11, U19 és U28) fehérjék nagy része a

citoplazmában lokalizálódott, azonban a GFP-GSTF2 és a GFP-GSTU19 ko-lokalizációt mutatott a sejtmaggal, a GFP-GSTU12 pedig csak a sejtmagban adott jelet. Továbbá a nagyon egyedi szekvencia-motívumokat tartalmazó GSTL2 a citoszolban és a peroxiszómában is megtalálható volt, míg a TCHQD a plazmamembránban lokalizálódott (Dixon és mtsai. 2009).



3. ábra: Lúdfű GST-k filogenetikai törzsfája. A különböző csoportokat a következőképpen jelöltük: tau – U; phi – F; tetraklórhidrokinon dehalogenáz – TCHQD; théta – T; dehidroszkorbátreduktáz – DHAR; elongációs faktor 1B γ -alegysége – EF1B; zéta – Z; lambda – L.

A GST-k szubsztrát specifitását a mérések során leggyakrabban használt xenobiotikummal, a 1-klór-2,4-dinitrobenzollal (CDNB) vizsgálva megállapították, hogy ezt a szubsztrátot alkalmazva a legtöbb GST rendelkezik GSH-konjugáló aktivitással (Dixon és mtsai. 2009). A théta csoportba tartozó GST-k kumén hidroperoxiddal (CHP) és zsírsav hidroperoxidokkal

szemben is magas GSH-függő peroxidáz aktivitással rendelkeznek és *in vivo* az oxidatív stressz során keletkezett szerves hidroperoxidok redukcióját végzik (Dixon és mtsai. 1998). A zéta csoportú GST-k GSH függő izomerázok, szerepet játszanak a tirozin degradációban, ahol GSH-függő módon a maleilacetecetsav fumarilacetáttá történő átalakítását végzik (Basantani és Sirvastava 2007). A DHAR és a lambda csoportba tartozó GST-k tiol transzferázok vagy oxidoreduktázok. Amíg a DHAR izoenzimek a dehidroaszorbát redukcióját katalizálják, addig a lambda csoportba tartozó GST-k kis molekulák, pl. S-glutathionált fenolos vegyületek redukcióját végzik (Dixon és mtsai. 2002b, 2010).

2.3.2 A tau és phi csoportú *Arabidopsis thaliana* GST-k

A növény-specifikus tau (GSTU) és phi (GSTF) GST csoportokat, amelyek gyakran stressz indukálhatóak, citotoxikus és xenobiotikus detoxifikáló aktivitással rendelkeznek és szerepet játszanak a védekező mechanizmusokhoz kapcsolódó másodlagos anyagcserében (Dixon és mtsai. 2002a, Dixon és Edwards 2010). Mindkét csoportban találunk magas glutathion konjugációs- és glutathion-függő peroxidáz aktivitással rendelkező tagokat (Dixon és mtsai. 2009). Az ide sorolható GST-k génduplikációk sorozatán mentek keresztül, és így a legtöbb taggal (28, ill. 13) rendelkező csoportokat alkotják (Edwards és mtsai. 2010).

A tau csoportba tartozó GST-k tanulmányozását megnehezíti az enzimszám mérete. Az AtGSTU-k 3 kládot alkotnak (3. ábra), ennek az elkülönülésnek a funkcionális jelentősége egyelőre ismeretlen. Az első kládba az U1-től U10-ig terjedő GST-k tartoznak, azonban ezek a szekvenciák kevésbé vizsgáltak (Dixon és Edwards 2010). A második kládba tartozó GST-k (*AtGSTU11*-től *AtGSTU18*-ig) közül az *AtGSTU17* az egyik legjobban ismert. Jiang és mtsai. (2010) eredményei alapján az *AtGSTU17* a phyA-szabályozás alatt álló fotomorfogenezisben vesz részt, és a növényi hormonokkal együtt a glutathion homeosztázis változtatásán keresztül szerepe van a lúdfű fejlődésének szabályozásában. Chen és mtsai. (2012) *Arabidopsis Atgtu17* null-mutánsban megemelkedett sótoleranciát mutattak ki, amely a mutáns növények megemelkedett GSH és abszcizinsav szintjével volt kapcsolatban. Az *AtGSTU17* glutathion homeosztázisban betöltött szerepe kihat a redox állapot és a stresszválasz gének szabályozására és feltehetően a stressz jelátvitel negatív szabályozójaként funkcionál (Chen és mtsai. 2012). A harmadik kládba tartozó szekvenciák (*AtGSTU19-AtGSTU28*) közül az *AtGSTU19* egyike a leginkább tanulmányozott GST-knek. Expresszióját indukálják herbicid antidótumok (DeRidder és mtsai. 2002) és a szárazság stressz is (Bianchi és mtsai. 2002). Az

AtGSTU20 túltermeltetése és csökkent expressziója esetén is a távoli vörös fénnel szembeni érzékenység csökkenését észlelték (Chen és mtsai, 2007). Az *AtGSTU24* és *AtGSTU26* GST-k génexpressziója xenobiotikumok hatására magas indukciót mutattak (Mezzari és mtsai. 2005, Nutricati és mtsai. 2006), proteomikai analízis eredményeként pedig az *AtGSTU27* szalicilsav általi indukciója volt kimutatható (Gruhler és mtsai. 2005). Az *AtGSTU25* és *AtGSTU28* magas aktivitással rendelkeznek CDNB-vel szemben és az *AtGSTU25* CHP-vel szemben is magas aktivitást mutat. Mindkettő rövid láncú zsírsav-glutation termékeket köt, de míg az *AtGSTU25* hidroxilált, addig az *AtGSTU28* nem hidroxilált zsírsavakat (Dixon és Edwards 2009, Dixon és mtsai. 2009).

Lúdfüben 13 phi csoportba tartozó GST szekvencia ismert, amelyek számozása az *AtGSTF2*-től *AtGSTF14*-ig tart (Dixon és Edwards 2010). (Az eredetileg *AtGSTF1*-ként elnevezett szekvenciát a genom szekvenálás után nem tudták azonosítani.) Közülük kiemelhető az *AtGSTF2*, amelynek transzkripciója indukálódik oxidatív stressz és növényi hormonok hatására (Mang és mtsai. 2004, Gong és mtsai. 2005), és emellett ligandin funkciójának köszönhetően a flavonoidok eloszlását szabályozza (Smith és mtsai. 2003). Az *AtGSTF6* és *AtGSTF7* indukciót mutatnak stressz során (Lieberherr és mtsai. 2003), és az *AtGSTF7* SA hatására indukálódik mRNS- és fehérje szinten egyaránt (Sappl és mtsai. 2004). Az *AtGSTF8* egyike a legjelentősebb lúdfű GST-knek, ami ugyan kloroplasztisz target szekvenciát hordoz az N-terminálisán, de nagyobb mértékben található a citoplazmában, mivel a target peptid gyakran lehasad a fehérje érése során (Thatcher és mtsai. 2007). Amíg az *AtGSTF8* expressziója H₂O₂ és fitohormonok hatására indukálódik, addig az *AtGSTF9* állandó magas expresszióval jellemezhető gén (Wagner és mtsai. 2002, Sappl és mtsai. 2004).

2.3.3 GST-k szerepe a sóstresszben

A GST gének expresszióját és protein szintjét a növekedésszabályozók és stresszfaktorok - beleértve az eltérő koncentrációban és időtartamig alkalmazott SA és a NaCl kezeléseket - képesek befolyásolni (Wagner és mtsai. 2002, Sappl és mtsai. 2004 és 2009, Zhang és mtsai. 2012). A GST-k részt vesznek a növények sóstressz akklimatizációjában, aminek során stresszválaszra specifikus izoenzimek aktiválódnak.

Termesztett paradicsomon (*Solanum lycopersicum*) és vad típusú rokon faján (*S. pennellii*) végzett kísérletben megfigyelték, hogy a sókezelés különböző módon hatott a két növényfajra.

A vad típusú növényfaj képes volt viaszorítani a sókezelés hatására jelentkező oxidatív stresszt, így nem növekedett meg a H_2O_2 - és lipid peroxidok szintje a kloroplasztisban, ellentétben a *S. lycopersicum*-mal, ami károsodott a fellépő oxidatív stressz hatására. A *S. pennellii* kloroplasztisában antioxidánsok csoportja indukálódott sóstressz alatt, ezek között voltak a SOD, APX, MDHAR, GST, foszfolipid hidroperoxid glutation peroxidáz (GPX) és POD enzimek (Mittova és mtsai. 2002). A sótoleráns vad paradicsom (*Solanum pimpinellifolium* 'PI365967') és egy sószenzitív nemesített fajta (*Solanum lycopersicum* cv. 'Moneymaker') transzkriptomikai összehasonlítása a toleráns genotípusban számos GST magasabb szintű expresszióját mutatta ki (Sun és mtsai. 2010). Ezen felül számos sóstressz hatására indukálódó GST gént csak a szenzitív fajtában azonosítottak. A szerzők azt a következtetést vonták le, hogy ezek a gének a nemesítés során veszthették el magas expresszálságukat, azonban só hatására képesek indukálódni és a toleráns vad típusúéhoz hasonló transzkriptum szintet elérni. A különböző csoportokba tartozó GST-k szerepe a paradicsom növények sóstressz akklimatizációjában azonban még nem ismert.

Rizs növényeken alkalmazott sóstressz során a lambda GST családba tartozó *OsGSTL1* repressziója volt megfigyelhető, míg az *OsGSTL2* és *OsGSTL3* expressziója nem változott (Kumar és mtsai. 2013). Sóstressz és abszcizinsav hatására rizs gyökerében az *OsGSTU3* gyors indukcióját tapasztalták, míg az *OsGSTU4* később fejeződött ki és csak sóstressz hatására (Moons 2003). Az *OsGSTU4* gént *Arabidopsis* transzgenikus vonalakban túltermeltetve megemelkedett só- és oxidatív stressz toleranciát figyeltek meg, és a transzgenikus növényekben jellemző volt számos, a stresszválaszban és a sejt detoxifikálásában szerepet játszó gén indukciója (Sharma és mtsai. 2014).

Dohány GST transzformánsokon végzett kísérletekben bizonyították, hogy a GST gének túltermeltetése elősegítheti a sóstressz tolerancia kialakulását. *Salicornia brachiata* *SbGSTU* és szója (*Glycine soja*) *GsGSTU* génjének túltermelése magasabb csírázási arányt és jobb növekedést eredményezett sóstressz során a vad típusához képest (Jha és mtsai. 2011). Ezen felül megfigyelték, hogy a GST túltermelő dohány transzformánsok módosult antioxidáns aktivitással rendelkeztek. A megemelkedett GST aktivitás mellett nőtt a GR, APX, DHAR és MDHAR aktivitás, valamint megváltozott az Asc és GSH szintje, ezáltal csökkentve az oxidatív károsodást a növényekben (Roxas és mtsai. 2000, Le Martret és mtsai. 2011).

2.4 A SA szerepe a sóstressz akklimatizációban és az edződés folyamatában

A SA számos fiziológia folyamatot befolyásol, nem csak azokat, amelyek szorosan a biotikus stresszhez, hanem az abiotikus stressz akklimatizációhoz kapcsolódóakat is (Horváth és mtsai. 2007, Hayat és mtsai. 2010, Joseph és mtsai. 2010). Ezzel együtt a biotikus és abiotikus stressz során gyakran fellépő oxidatív stressz válaszbán is szerepet játszik (Shirasu és mtsai. 1997). Külsőleg alkalmazva a SA-at megfigyelték a SA védő hatását, amennyiben egy átmeneti oxidatív stresszt követően indukálta az antioxidáns védekező rendszert és egyes stabilizáló anyagok szintézisét (Szepesi és mtsai. 2009, Poór és mtsai. 2011, Tari és mtsai. 2015). Ezek a változások teszik lehetővé, hogy a SA-at, mint „hardening” (általánosabban elfogadott néven „priming”) molekulát alkalmazzák az oxidatív károsodás csökkentésének érdekében (Pál és mtsai. 2013). A sejtek összetett enzimikus és nem-enzimikus antioxidánsokból álló rendszert fejlesztettek ki, amelynek segítségével kioltják a stresszfolyamatok során keletkező ROS-t (Ahmad és mtsai. 2010, Kocsy és mtsai. 2011). A SA kezelés csökkentette a sóstressz okozta károsodásokat az antioxidáns kapacitás erősítése révén (Szepesi és mtsai. 2008, Palma és mtsai. 2009, Khan és mtsai. 2010, Rivas-San Vicente és Plasencia 2011, Syeed és mtsai. 2011, Tari és mtsai. 2015).

A külsőleg megfelelő koncentrációban alkalmazott SA hatékonyan indukálja a „priming”-ot (kémiai edződés), ami lehetővé teszi a gyorsabb és hatékonyabb stressz választ egy későbbi stressz esetén, ezáltal védelmet biztosít számos abiotikus stresszel szemben is (Horváth és mtsai. 2007) többek között elősegíti a sóstressz akklimatizációt (Tari és mtsai. 2002). Számos növényfajban, így a lúdfűben (Lee és Park 2010, Jayakannan és mtsai. 2013), paradicsomban (Tari és mtsai. 2002, Stevens és mtsai. 2006), tehénbabban (Khan és mtsai. 2010), kukoricában (Gunes és mtsai. 2007), árpában (El-Tayeb 2005), napraforgóban (Noreen és mtsai. 2009) és mustárban (Syed és mtsai. 2011) leírták, hogy a SA védelmet nyújt a sóstressz során fellépő károsodások ellen. A SA paradicsom növényekben nagy számban aktiválta a gének átírását már a sóstressz korai szakaszában (Ouyang és mtsai. 2007).

Vigna radiata L. és paradicsom növényekben a SA kezelés sóstressz során hatékonyabb fotoszintézist és növekedést eredményezett és elősegítette a növények ozmotikus adaptációját (Stevens és mtsai. 2006, Szepesi és mtsai. 2009, Poór és mtsai. 2011, Khan és mtsai. 2014). *Vigna radiata* L. esetében lecsökkentette az etilén szintjét, hozzájárulva a hatékonyabb fotoszintézishez és az oxidatív stressz csökkentéséhez (Khan és mtsai. 2014). A külsőleg alkalmazott SA kezelés segítette a növények sóstressz rezisztenciájának kialakulását azáltal is,

hogy megemelte az ABS tartalmat, ami a stressz kivédésében fontos reakciókat indukált, megemelte a karotinoidok és poliaminok szintjét, ami a ROS szint szabályozásához járult hozzá (Shakirova és mtsai. 2003, Szepesi és mtsai. 2009).

A megemelkedett (*snc1*) vagy csökkent (*NahG*) endogén SA tartalommal rendelkező mutáns vagy transzgenikus lúdfű vonalakkal kapott eredmények alapján a SA feltételezhetően közvetlenül hozzájárul a NaCl-indukálta növekedés csökkentéséhez és a metabolismus felborulásához (Hao és mtsai. 2012). Asensi-Fabado és mtsai. (2011) kísérleteikben az *aba3* mutánsban az ABS hiánya megváltoztatta a növények növekedését és SA szintjét, ami a mérsékelt sóstressz tűrést segítette elő. A növekedés gátlása, mintegy szükséges rossz járult hozzá a stressz toleranciához, és ezáltal optimalizálta a növény a hormonszintjeit.

A SA sóstresszben betöltött szerepével kapcsolatban még mindig vannak ellentmondások. Hao és mtsai. (2012) megállapították, hogy a SA-hiány vagy a jelátvitel akadályozása *Arabidopsis* növényekben elősegítette a sós környezethez történő adaptációt, a SA bioszintézisben károsodott *sid2 Arabidopsis* mutánsok viszont hiperszenzitívnek bizonyultak a sóstresszel szemben (Alonso-Ramirez és mtsai. 2009).

A *sid2* mutánsok csírázása érzékenyebb volt a magas sókoncentrációra a vad típushoz és a *NahG* vonalhoz képest is, és alacsonyabb POD aktivitással rendelkeztek sóstressz alatt. A *NahG* egy bakteriális szalicilát-hidroxiláz, amely a SA-t antioxidáns hatással rendelkező pirokatechinné alakítja. A *NahG* vonalakban az antioxidáns hatású pirokatechin megemelkedett szintje magyarázata lehet a sóstressz során mutatott jobb csírázásnak a *sid2* mutánsokhoz képest. Lúdfű *NahG* növényekben a megemelkedett sótoleranciát a SA tartalom csökkenéséhez (Borsani és mtsai. 2001) és a magasabb össz-glutation és össz-aszkorbát tartalomhoz kapcsolták (Cao és mtsai 2008). A *NahG* növények magasabb GR és DHAR aktivitása szintén elősegíthette a jobb stressztűrést. A magas SA tartalmú Cvi-0 növények viszont stressz körülmények között csökkent sóstressz toleranciát mutattak (Cao és mtsai. 2008). Lee és mtsai. (2010) ezzel szemben igazolták, hogy a SA nem esszenciális a csírázás folyamatában, de elősegíti az *Arabidopsis* növények csírázását sóstressz során, valószínűleg az oxidatív stressz csökkentésén keresztül.

3. Célkitűzések

A lúdfű (*Arabidopsis thaliana*) a legjelentősebb genetikai modellnövény, amelyet gyakran alkalmaznak a kétszikűekben lejátszódó folyamatok tanulmányozására és leírására. A külsőleg alkalmazott SA kezelések „priming” hatásával már több évtizede foglalkoznak, azonban számos kérdés megválaszolatlan maradt. A korábban, paradicsom (*Solanum lycopersicum* Mill. L. cvar. Rio Fuego) növényeken kidolgozott hidropónikus rendszert alapul véve (Tari és mtsai. 2002, Szepesi és mtsai. 2009), lúdfű növényeket több héten keresztül kezeltünk különböző koncentrációban SA-val, hogy egy olyan rendszert hozzunk létre, amelyben a SA-indukált „priming” folyamatát egy másodlagosan alkalmazott stresszválaszban, jelen esetben a sóstressz válaszban, tanulmányozhatjuk. Paradicsom növényekkel szemben, ahol 3 hét előkezelést követően alkalmazott 1 hét 100 mM NaCl hatását vizsgálták, lúdfűben 2 hét SA előkezelés bizonyult megfelelőnek a „priming” kiváltásához, a másodlagosan alkalmazott sókezelés káros hatásának enyhítéséhez.

Munkánk során a széles koncentrációintervallumban alkalmazott SA előkezelés hatását vizsgáltuk *Arabidopsis thaliana* L. és *Solanum lycopersicum* L. Mill. cvar. Rio fuego növényeken sóstressz alatt.

A dolgozatban a következő kérdésekre kerestünk választ:

Arabidopsis thaliana L. növényen végzett hosszútávú kísérletekben:

1. Hogyan hatnak a különböző SA koncentrációk a lúdfű növények növekedésére és egyéb fiziológiai paramétereire? Hogyan befolyásolja a több hétig tartó előkezelés a később alkalmazott sóstresszre adott választ? Milyen változásokat idéz elő a SA az enzimatisz antioxidánsok aktivitásában és milyen módon befolyásolja a sóstressz választ?
2. Melyek azok a SA koncentrációk, amelyek sikeresen indukálják a „priming”-ot a növényekben és milyen fiziológiai változásokkal hozható összefüggésbe a sikeresebb akklimatizáció?

3. Hogyan változnak a GST és GPOX aktivitások az előkezelések és a másodlagosan alkalmazott sóstressz hatására? Van-e összefüggés a növények GST aktivitásában mért változások és a kiválasztott GST gének expressziója között?

Arabidopsis thaliana L. GST mutáns növényeken végzett rövid távú kísérletekben:

4. Kihatással van-e egyetlen GST mutációja a növények életképességére és GST aktivitására kontroll, NaCl- és SA kezelés során? Milyen fenotípusos változást idézhet elő egyetlen GST gén mutációja a magas só- és SA kezelések során?

Solanum lycopersicum Mill. L. cvar. Rio Fuego növényeken végzett kísérletekben:

5. Milyen változásokat idéz elő a SA „priming” a paradicsom növények GST és GPOX aktivitásában? Van-e összefüggés az aktivitásban mért különbségek és a GST gének kifejeződése között?
6. Az ABS szintjében megfigyelt változások magyarázhatóak-e az AO aktivitásának és az ABS bioszintézis gének kifejeződésének különbségeivel?
7. Milyen hasonlóság illetve különbség van a két vizsgált növényfaj esetében a SA előkezeléssel indukált priming jelenségben, sóstressz akklimatizációban?
8. Találunk-e összefüggést a vizsgált GST gének expressziójának változása és az 5' végi szabályozó régióban lévő *cis*-elemek között? Mennyire hasonlóak a vizsgált szabályozó elemek az ortológ szekvenciákban?

4. Anyagok és módszerek

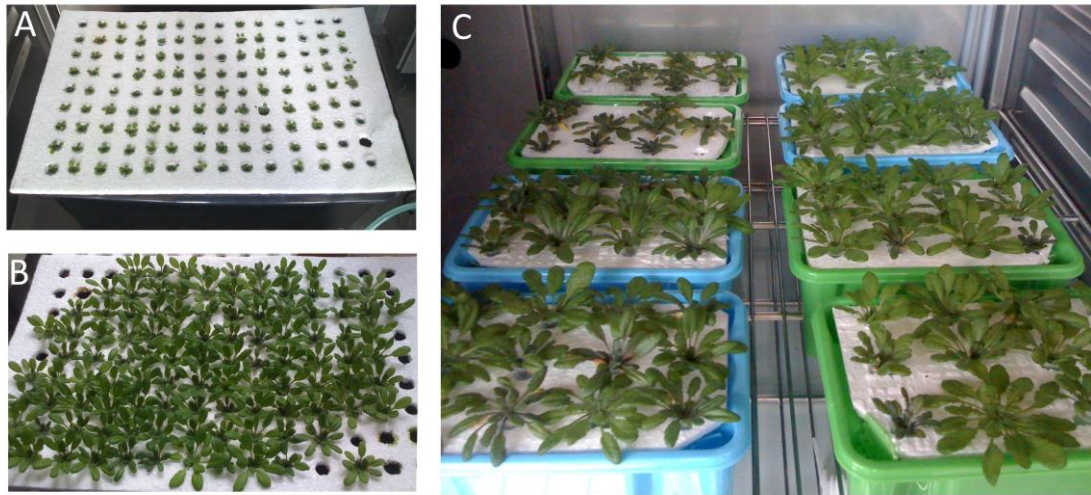
4.1 Növénynevelési körülmények

4.1.1 Lúdfű (*Arabidopsis thaliana*, Col-0)

4.1.1.1 Növények nevelése és kezelése a hosszútávú kísérletek során

A lúdfű (*Arabidopsis thaliana* L. Col-0) növényeket hidropónikus kultúrában neveltük. Ehhez a magokat sterilizáltuk, aminek a menete következő volt: 1 percig tartó 70%-os etanolos mosást 10 perc 2%-os Domestosban történő áztatás követt, amit 5 egymást követő steril vizes mosással távolítottunk el a steril magokról. A steril magokat egy éjszakán keresztül 4 °C-on tartottuk, majd vágott végű Eppendorf csövekbe öntött táptalajra ültettük (4. ábra). A növények 10 literes edényekben (4. ábra), Hoagland tápoldatban nőttek, aminek az összetétele: 5 mM $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 5 mM KNO_3 , 1 mM KH_2PO_4 , 2 mM MgSO_4 , 1 μM Fe-EDTA, 0,0475 μM H_2BO_3 , 14,48 μM MnCl_2 , 0,8148 μM ZnCl_2 , 0,3731 μM CuCl_2 , 0,001213 μM Na_2MoO_4 , pH=5,8. A nevelés kontrollált körülményeit növénynevelő kamra segítségével biztosítottuk (Fitoclima S 600 PLH, Aralab, Portugal), ahol 21 °C-os állandó hőmérsékleten, 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fényintenzitáson, 10/14 fény/sötét periódusban és 70% relatív páratartalom mellett növekedtek a növények a kísérlet teljes ideje alatt. Öt héten keresztül kontroll körülmények között neveltük a növények és a tápoldat cseréje hetente történt (4. ábra). A szalicilsav kezelés hatásának vizsgálatához az 5 hetes lúdfű növényeket kisebb (1 literes) edényekbe helyeztük (4. ábra), amibe a tápoldatot adott koncentrációjú, 10^{-9} – 10^{-4} M SA oldattal egészítettük ki és a tápoldatot hetente kétszer cseréltük. A 10^{-4} M SA kezelés nagymértékben gátolta a növények növekedését, így ezt a koncentrációt nem alkalmaztuk a hosszútávú kísérleteink során (1. melléklet).

A 10^{-9} – 10^{-5} M SA előkezelés sóstressz válaszban betöltött szerepének vizsgálatához 2 hét SA kezelést követően a tápoldatot 100 mM NaCl-dal egészítettük ki, egy héten keresztül. A mintavétel 3 héttel a SA előkezelés és 1 héttel a sókezelés megkezdése után történt. A mérésekhez a növények gyökerét és jól kifejtett levelét használtuk. Minden kísérletet legalább kétszer ismételtünk meg és a méréseket három párhuzamossal végeztük.

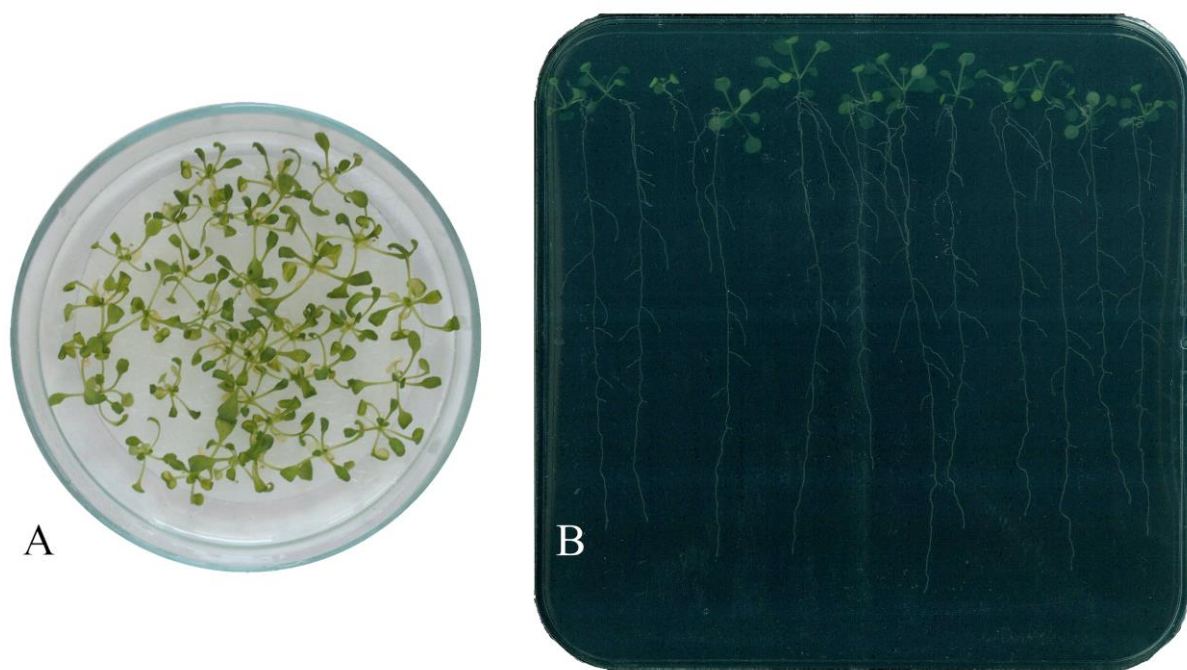


4. ábra: A lúdfű növények nevelési körülményei a hosszútávú kísérletek során. A magokat táptalajt tartalmazó, vágott végű Eppendorfbokban csíráztattuk (A) és 5 hetes korukig Hoagland tápoldatban neveltük (B). A SA előkezelés és az azt követő 100 mM NaCl kezelés kisebb (1 literes) nevelőedényekbe áthelyezve történt (C).

4.1.1.2 Rövidtávú kísérletek nevelési és kezelési körülményei

Kísérleteinket 14 napos vad típusú és GST mutáns lúdfű növényekkel végeztük. A magok sterilizése a hosszútávú kísérletekben leírtak szerint történt. A sterilizést követően a magokat szilárd $\frac{1}{2}$ erősségű Murashige-Skoog (MS) táptalajra ültettük ki (Murashige és Skoog, 1962), amely tartalmazott 1% szacharózt, 0,8% agart (w/v) és Gamborg B5 vitaminnal kiegészített MS tápsót. A táptalaj pH-ját 5,7-5,8-ra állítottuk be. A növényeket 2 hétig neveltük kontroll körülmények között 21 °C-on, $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fényintenzitáson 10/14 fény/sötét periódusban és 60% relatív páratartalom mellett, majd 48 órára áthelyeztük őket 150 mM NaCl-dal vagy 10^{-5} M SA-val kiegészített $\frac{1}{2}$ erősségű MS táptalajra (5. ábra). A mintavétel 2 nap elteltével történt, a gyökeret és a hajtást nem választottuk szét.

A gyökérnövekedés méréséhez a csíranövényeket a felületi sterilizést követően $\frac{1}{2}$ MS táptalajon neveltük 4 napon keresztül, ezután helyeztük át a növényeket 150 mM NaCl-dal vagy 10^{-5} M SA-val kiegészített $\frac{1}{2}$ MS táptalajra, szögletes Petri-csészékbe (5. ábra). A növekedést függőlegesen elhelyezett Petri-csészékben, az áthelyezéstől számított 14 napon keresztül követtük nyomon, majd fényképfelvétel készítése után számítógépes programmal végeztük a kiértékelést. A gyökök hosszát ImageJ szoftver segítségével határoztuk meg.



5. ábra: Lúdfű növények nevelési körülményei rövidtávú Petri-csészés kísérletek során. A csíranövényeket. A lúdfű csíranövényeket 2 hetes korukban helyeztük át NaCl- vagy SA tartalmú táptalajokra (A). A gyökérnövekedés vizsgálatához 4 napos csíranövényeket helyeztünk szögletes Petri-csészébe, kontroll ($\frac{1}{2}$ MS), NaCl ill. SA tartalmú táptalajokra (B).

4.1.2 Paradicsom (*Solanum lycopersicum* Mill. L. cvar. Rio Fuego)

Kísérleteink során *Solanum lycopersicum* Mill. L. cvar. Rio Fuego paradicsom növényeket használtunk fel. A növények nevelése és kezelése Szepesi és mtsai. (2009) cikkében leírtak alapján történt. A csíráztatás 3 napon keresztül sötétben, 26 °C-on történt. Ezt követően a növények két hetes korukig perlitben majd vízkultúrában, üvegházi körülmények között növekedtek. A tápoldat összetétele a következő volt: 2 mM $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 1 mM MgSO_4 , 0,5 mM KH_2PO_4 , 0,5 mM Na_2HPO_4 , 0,5 mM KCl és a mikroelemek (10^{-6} M MnSO_4 , $5 \cdot 10^{-7}$ M ZnSO_4 , 10^{-7} M CuSO_4 , 10^{-7} M $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$, 10^{-5} M H_3BO_4), $2 \cdot 10^{-5}$ M Fe-EDTA, pH=5,8. A növényeket 12 órás nappali és 12 órás éjszakai periódus, $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fényintenzitás és 55-60%-os relatív páratartalom mellett neveltük. A SA kezelést a növények 4 hetes korától 8 hetes koráig végeztük 10^{-7} és 10^{-4} M SA oldatokkal. A sókezelés 7 hetes paradicsom növényeken történt 3 hét SA előkezelést követően. A mintákat a 100 mM NaCl alkalmazásának megkezdése után 7 nappal vettük (6. ábra). A mérésekre a gyökereket és a csúcshoz legközelebb eső, már kifejtett leveleket használtuk.



6. ábra: Nyolc hetes paradicsom növények 3 hét SA előkezelést és egy hét 100 mM NaCl kezelést követően.

4.2 Elemtartalom meghatározás induktív csatolású plazma tömegspektrométerrel

A 8 hetes vad típusú *Arabidopsis thaliana* (Col-0) növények elemtartalom meghatározása a tanszékünkön található induktív csatolású plazma tömegspektrométer (ICP-MS, Thermo Scientific XSeries II, Asheville, USA) segítségével történt, a gyökérből és a levelekből elkülönítve végeztünk elemanalízist. A 72 órás 70 °C-on történő szárítás után salétromsavat (65%, w/v) és hidrogénperoxidot (30%, w/v) adtunk a mintákhoz, ezt követően pedig egy mikrohullámú roncsoló (MarsXpress CEM, Matthews, USA) segítségével 200°C-on, 1600 W teljesítmény mellett, 15 percen keresztül roncsoltuk a növényi részeket. A lehűtött mintákat ezután megfelelő mértékben hígítottuk desztillált vízzel, majd az ICP-MS készülékkel meghatároztuk az elemtartalmakat. Az adatokat mg g^{-1} száraz tömeg (SZT) mértékegységben fejeztük ki.

4.3 Életképesség meghatározása és reaktív oxigénformák detektálása fluoreszcens mikroszkóppal

Fluoreszcein diacetát (FDA) festéket alkalmaztunk a sejtek életképességének meghatározására lúdfű csíranövényekben. Az FDA egy membrán permeábilis fluorofór, amit a sejten belüli észterázok alakítanak fluoreszkáló formává. Csak azok a sejtek mutatnak fluoreszcenciát, melyekben az észterázok jól működnek, vagyis az FDA az élő sejteket festi meg (Gémes és mtsai. 2011). A csíranövényeket sötétben, szobahőmérsékleten, 2 ml 10 μM festékkoldatban inkubáltuk 30 percen keresztül, majd 20 perc alatt 4-szer mostuk 2-(N-morfolin)-etánszulfonsav/kálium klorid (MES/KCl, 10 mM/50 mM, pH 6,15) pufferrel. Az

így előkészített mintákat nagy felbontású digitális kamerával felszerelt (AxioCam HR, HQ CCD kamera, 1300x1030 dpi, Carl Zeiss, Jéna, Németország) mikroszkóppal vizsgáltuk, a Zeiss Axiovert 200M típusú fluoreszcens mikroszkóp 10-es filterjét használtuk a méréshez (exc.: 450-490 nm, em.: 515-565 nm), és a pixel intenzitásokat a gyökérben (150 µm-rel a csúcstól 80 µm átmérőjű körökben) és sziklevélben (600 µm átmérőjű körökben) egyaránt meghatároztuk.

A ROS *in situ* detektálására a H₂DCFDA (2'-7'-diklorodihidrofluoreszcein diacetát) festéket alkalmaztuk 8 hetes lúdfű növényekben. A gyökércsúcsokat és a 10 mm átmérőjű hajtás korongokat 15 percen keresztül festettük 37 °C -on, 10 µM H₂DCFDA oldattal, Pető és mtsai. (2013) alapján. A festés után 20 percen belül négyszer mostuk a mintákat MES/KCl pufferrel (10 mM/50 mM, pH 6,15), majd mikroszkópos tárgylemezre helyeztük őket. Az így előkészített mintákat nagy felbontású digitális kamerával felszerelt (AxioCam HR, HQ CCD kamera, 1300x1030 dpi, Carl Zeiss, Jéna, Németország), Zeiss Axiovert 200M típusú fluoreszcens mikroszkóppal vizsgáltuk, a 10-es filterjét használtuk a méréshez. A H₂DCFDA-val festett minták esetében a ROS zöld fluoreszcenciájának alapján az AxioVision Rel. 4.6 nevű szoftver segítségével mértük a pixel intenzitást a gyökércsúcsokban 300 µm-rel a csúcstól, 200 µm átmérőjű körökben és a hajtás korongokban 600 µm átmérőjű körökben. A körök átmérőjét nem változtattuk a mérések során.

4.4 A H₂O₂ tartalom kvantitatív meghatározása

A H₂O₂ tartalmakat spektrofotometriásan határoztuk meg, a SA-, illetve a sókezelt hajtás és gyökér mintákban Velikova (2000) módszere alapján. A friss növényi anyagot (400 mg) 750 µl 0,1%-os triklórecetsavban (TCA) homogenizáltuk, majd centrifugálás után (10 000 g, 20 perc, 4 °C) 0,25 ml felülúszóhoz hozzáadtunk 0,25 ml foszfát puffert (10 mM, pH=7,0) és 0,5 ml kálium-jodid (1 M) oldatot. A reakciótermék mérését 10 perc inkubálást követően 390 nm-en végeztük 10 mM foszfát pufferrel szemben. A H₂O₂ tartalmakat, 0,1-5 µmol ml⁻¹ H₂O₂ koncentrációssal készített kalibrációs görbe segítségével állapítottuk meg.

4.5 A malondialdehid tartalom meghatározása

A malondialdehid (MDA) a lipidek peroxidációjának terméke, mennyiségét tiobarbitursavval való reakciója alapján lehet meghatározni. E szerint a módszer szerint az MDA mellett a stresszhatásra megjelenő reaktív aldehidek is detektálhatóak (Ederli és mtsai. 1997). Az MDA

meghatározásához 100 mg gyökér vagy hajtás mintát homogenizáltunk 1 ml 0,1 % TCA-val; a további lipidperoxidáció megakadályozására 100 µl 4 % butilált hidroxitoluolt (BHT) adtunk az extraktumhoz. 4 °C -on, 10 000 g-n történő, 20 perces centrifugálás után a felülúszó 0,25 ml-éhez 1 ml 0,5 % tiobarbitursavat adtunk, amelyet 20 % TCA-ban oldottunk fel, majd 30 percig inkubáltuk 96 °C-os vízfürdőben. Az abszorbanciát 532 nm-nél mértük, amit a 600 nm-nél mért nem-specifikus értékkel korrigáltunk. Az MDA koncentrációt $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ extinkciós koefficienssel számoltuk.

4.6 Az antioxidáns enzimek aktivitásának meghatározása

Az antioxidáns enzimek aktivitásának meghatározásához minden esetben 200 mg növényi gyökér vagy hajtás szövetet homogenizáltunk jégen 1 ml extrakciós pufferben, amely 100 mM foszfát pufferben (pH 7,0), 1 mM fenilmetilszulfonil-fluoridot (PMSF) és 1% polivinil-polipirrolidont (PVPP) tartalmazott. Ezt követően 20 percig centrifugáltuk a mintákat 4 °C-on, 10 000 g-n és a felülúszót használtuk az enzimaktivitás mérésére.

4.6.1 Szuperoxid-dizmutáz (SOD) (EC 1.15.1.1)

A SOD aktivitást az NBT riboflavin jelenlétében történő fotokémiai redukciójának gátlása alapján határoztuk meg (Dhindsa és mtsai, 1981). Az 1 ml reakcióelegy 25-25 µl enzimkivonatot, 50 mM tetrazólium kéket (NBT) és 0,2 mM riboflavint tartalmazott. A 15 perc után keletkezett formazán extinkcióját 560 nm-en mértük. Egy enzimegység (U) azt az enzimmennyiséget jelenti, amely az NBT redukciójának 50 %-os gátlását okozza fény jelenlétében. Az enzimaktivitást U g^{-1} friss tömeg (FT) egységben adtuk meg.

4.6.2 Kataláz (KAT) (EC 1.11.1.6)

A KAT aktivitását a H_2O_2 lebontásának nyomon követésével határoztuk meg 240 nm hullámhosszon spektrofotométerrel, az 1. és 2. perc között mért extinkcióváltozás alapján. Hajtásban 100 µl, gyökérben 10-szeresére hígított mintából, 5 µl enzimkivonat, 50 mM, pH 7,0 foszfát puffert ill. 1 %-os H_2O_2 -ot tartalmazó, 1 ml térfogatú reakcióelegyben mértük. Egy U az az enzimmennyiség, amely 1 µmol H_2O_2 lebontását katalizálja 1 perc alatt (Upadhyaya és mtsai. 1985).

4.6.3 Gvajakol peroxidáz (POD) (EC 1.11.1.7)

A POD aktivitásának meghatározására 470 nm hullámhosszon, a gvajakol oxidációja során történő abszorbancia növekedés detektálásával történt. $\epsilon_{470} = 26.6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. A hajtás esetében 25 μl , gyökérnél pedig 10-szeresére hígított mintából 5 μl fehérjekivonatot, 1 %-os gvajakolt, 50 mM, pH 7,0 foszfát puffert 1,5 ml végtérfogatban tartalmazó elegyben a reakciót 1 %-os H_2O_2 oldat hozzáadásával indítottuk. A mért abszorpció 1 perc alatti növekedéséből számítottuk az enzimaktivitást. Egy U-nak azt az enzimmennyiséget tekintettük, amely 1 μmol tetragvajakol képződését katalizálta 1 perc alatt (Upadhaya és mtsai, 1985).

4.6.4 Glutation transzferáz (GST), glutation peroxidáz (GPOX) és dehidroaskorbát reduktáz (DHAR) aktivitás meghatározása

A GST aktivitást (EC 2.5.1.18) egy mesterséges szubsztrát, az 1-klór-2,4-dinitrobenzol (CDNB) segítségével határoztuk meg spektrofotometriás méréssel (Habig és mtsai. 1974). A reakcióelegy végtérfogata 1 ml volt, 100 mM foszfát pufferhez (pH 6,5) mértünk 3 μM redukált glutationt (GSH) és a reakciót 1 μM CDBN hozzáadásával indítottuk el. A 340 nm-en mért extinkció változásból az 1. és 2. perc közötti értékek felhasználásával számoltunk. $\epsilon_{340} = 6,22 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, egy U az az enzimmennyiség, amely 1 perc alatt 1 μmol konjugált terméket képez. Az enzim aktivitását 1 g FT-re vonatkoztatva adtuk meg ($\text{U g}^{-1} \text{ FT}$).

A glutation peroxidáz (EC. 1.11.1.9) aktivitást Awasthi és munkatársai (1975) által kidolgozott módszer alapján végeztük, kumén hidroperoxid (CHP) szubsztráttal (Csiszár és mtsai. 2004). A reakcióelegy 4 mM GSH-t, 0,2 mM NADPH-t, 1 U élesztő extraktumból tisztított GR enzimet, 100 μl enzimkivonatot, 0,25 mM CHP-t és 100 mM foszfát puffert (pH 7,0) tartalmazott 1 ml végtérfogatban. A reakciót CHP hozzáadásával indítottuk, az extinkciót 340 nm-en mértük GSH-t és NADPH-t nem tartalmazó mintával szemben, a számoláshoz a 3. és 4. perc közötti értékeket használtuk fel. A nem-specifikus NADPH oxidáció figyelembe vételéhez az extinkció különbséget meghatároztuk CHP nélkül is. $\epsilon_{340} = 6,22 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, az egy perc alatt fogyott NADPH-t μmol -ban megadva fejeztük ki az enzimegységet (U), az enzim működését 1 g friss tömegre vonatkoztattuk ($\text{U g}^{-1} \text{ FT}$).

DHAR (EC. 1.8.5.1) aktivitását Edwards és Dixon (2005) alapján végeztük el. A reakcióelegyben 100 mM foszfát pufferhez (pH 6,5) mértünk 0,5 mM dehidroaskorbátot és a reakciót 5 mM redukált glutationnal indítottuk. A 265 nm-en mért extinkció változásból az 1.

és 2. perc közötti értékek felhasználásával számoltunk. $\epsilon_{265} = 14,0 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, az egy perc alatt keletkezett aszkorbátot μmol -ban megadva fejeztük ki az enzimegységet (U), az enzim működését 1 g friss tömegre vonatkoztattuk ($\text{U g}^{-1} \text{ FT}$).

4.7 Az abszcizin-aldehid oxidáz (AO) (EC 1.2.3.1) aktivitás mérése

Aldehid oxidáz (AO) aktivitás detektálása poliakrilamid gélelektroforézissel (PAGE) történt. A méréshez 2 ml extraháló elegyben (összetétele: 1 mM EDTA, 5 mM GSH, 5 μM FAD, 1 mM DTT-ditiotreitol, 0,5 mM L-cisztein, 250 mM Tris puffer pH 7,5, 40 μM $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 0,1 mM PMSF, 8 μM antipain) dörzsöltük el a mintákat (1g) és centrifugálást követően (10 perc, 10 000 g) a felülúszót használtuk a méréshez. A fehérjetartalom meghatározása után (Bradford 1976) a hajtásból 300 μg , a gyökérből 100 μg fehérje és tizedmennyiségű brómfenolkék festéket tartalmazó szacharózos mintafelvívó puffer (50 % szacharóz, 0,1 % brómfenolkék) került felvitelre zsebenként a poliakrilamid (5 és 7,5 % szeparáló és stacking) gélre. Szubsztrátként 1 mg ml^{-1} 2-naftaldehidet használtunk 0,1 mM fenazin metosulfátot és 1 mM MTT-t (3[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólium-bromid) tartalmazó, 0,1 M Tris-HCl pufferben (pH 8,5). A keletkező színreakció kvantifikálását KODAK Elektroforézis Dokumentációs és Analízis Rendszer (EDAS) 290 felhasználásával, KODAK 1D Image Analysis szoftver (Eastman Kodak Company, 2000-2001) segítségével végeztük (Sagi és mtsai. 1998).

4.8 Szekvencia keresés, filogenetikai és promóter analízis

A paradicsom GST (*SlGST*), ZEP (*SlZEP*), NCED (*SlNCED*), CCD (*SlCCD*) és AO (*SlAO*) szekvenciákat *in silico* a SOL Genomics Network (SGN) adatbázisában (<http://solgenomics.net>), a lúdfű GST (*AtGST*), NCED (*AtNCED*) és CCD (*AtCCD*) szekvenciákat pedig a The Arabidopsis Information Resource (TAIR) adatbázisában (<https://www.arabidopsis.org>) azonosítottuk. Az *SlGST*-ként számon tartott nukleinsav és fehérje szekvenciákat az SGN adatbázis kereső felületének segítségével kigyűjtöttük. A rendelkezésre álló aminosav szekvenciákat, amelyek feltehetően különböző GST fehérjéket kódolnak ClustalW szoftver segítségével illesztettük (EMBL-EBI/ClustalW, Thompson és mtsai. 1994). Ezt követően egy 200 aminosavból álló régió felhasználásával, amely tartalmazta az irodalomból ismert konzervatív régiókat és doméneket, rokonsági fát hoztunk létre Neighbour-Joining módszerrel, a MEGA5 és Dendroscope3 programokkal (Tamura és

mtsai. 2011; Huson és mtsai. 2007). A további vizsgálatok céljából kiválasztott szekvenciák start kodon előtti 1,5 kbp hosszú szakaszán *cis*-ható elemeket kerestünk a PlantCARE (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) adatbázisban.

Az SINCED és SICCD szekvenciákból álló törzsfa elkészítése során az SIGST szekvenciákhoz hasonló módon jártunk el, amelyek esetében azonban a teljes aminosav szekvencia hosszt felhasználtuk a rokonsági fa létrehozásához.

4.9 RNS izolálás, cDNS átírás és QRT-PCR (kvantitatív valós idejű polimeráz láncreakció)

Az össz növényi RNS preparálást 100 mg kiindulási anyagból, Chomczynski és Sacchi (1987) szerint végeztük, Csiszár és mtsai. (2014) alapján. Az RNS minták genomi DNS szennyezettségétől való megtisztításához DNáz (Thermoscientific) kezelést végeztünk, majd a tisztított RNS mintából összesen 1 µg-ot MMLV reverz transzkriptázzal (Thermoscientific) cDNS-sé alakítottunk random hexamer primerek (Biotium) segítségével, a reakciót 20 µl végtérfogatban végeztük, a gyártó (Thermoscientific) utasításait követve. Az így kapott cDNS-t használtuk a továbbiakban a QRT-PCR reakciókhoz a vizsgált gének kifejeződésének nyomon követésére. A kiválasztott génekre az oligonukleotidokat a Primer 3 szoftver (<http://frodo.wi.mit.edu/>) segítségével terveztük, a primereket táblázatban foglaltuk össze (2. és 3. mellékletek). A szintetizált cDNS-eket 1: 20 arányban hígítottuk nukleáz mentes vízzel. A reakcióelegy 20 µl végtérfogat volt, amiben az egyes oligonukleotidok 150 µM végkoncentrációban voltak jelen, valamint 9 µl a hígított cDNS-ből és 10 µl a 2x SYBR Green PCR Master Mixből. Minden reakció esetében legalább három párhuzamos mérést végeztünk. A kvantitatív RT-PCR-t BioRad (Hercules, California) Real-Time PCR Detektorral végeztük. A reakció 10 perces 90 °C-os hevítéssel kezdődött, majd 41 ciklus következett az alábbi paraméterekkel: 95 °C-on 15 másodperc és 60 °C-on 1 perc. A SYBRGreen festék fluoreszcencia intenzitását a ciklusok során minden amplifikációs lépés után detektáltuk Opticon Monitor szoftver segítségével (BioRad, Hercules, California). A PCR lefutását követően a termék specifikusságát olvadási görbe detektálásával ellenőriztük: 55 °C-tól 90 °C-ig (0,2 °C 0,2 s⁻¹). Az adatok analíziséhez a 2^{-ΔΔCt} módszert alkalmaztuk (Livak és Schmittgen, 2001). A referenciagének paradicsom esetében a glicerinaldehid-3-foszfát dehidrogenáz (GAPDH) és elongációs faktor 1 α alegysége (EF 1-α) voltak (Lovdal és Lillo 2009, Orellana és mtsai. 2010) (3. melléklet). Az *SIGST*-k, *SIZEP*, *SINCED*, *SICCD*-k és *SIAO*-k expressziójában bekövetkező változások szemléltetésére a relatív transzkript szintet a

kontroll mintákban génenként egynek tekintettük. A lúdfűből történt mérésekhez referencia génekként a 18S rRNS (*At3g41768* és *At2g01010*) és az aktin2 (*At3g18780*) géneket alkalmaztuk (Masclaux-Daubresse és mtsai. 2007, Papdi és mtsai. 2008) (2. melléklet). Az aktin2 stabil expressziót mutatott a kísérleteinkben, ezért a későbbi normalizáláshoz ezt használtuk. Az AtGST-k expressziójának szemléltetésére génenként egynek tekintettük a kontroll növényekben mért relatív transzkripciós szinteket és ehhez viszonyítottunk.

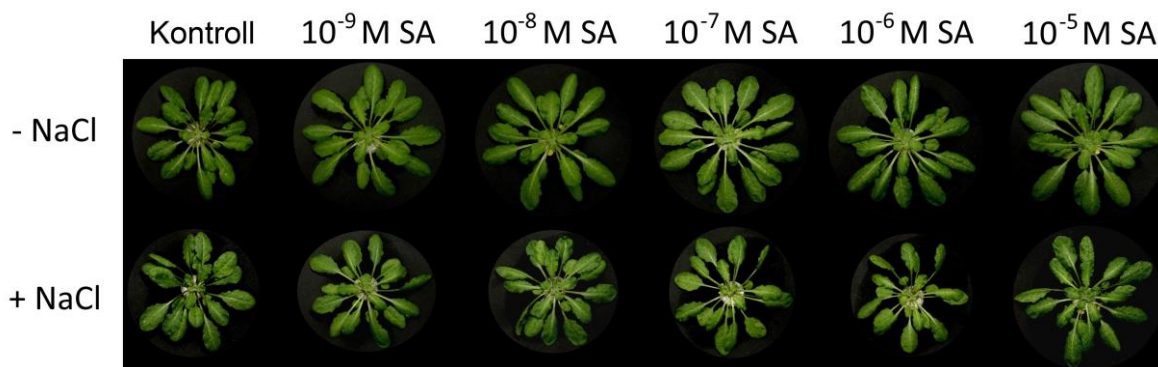
4.10 Statisztikai értékelés

A kísérleteket minimum két biológiai ismételtsben végeztük el, legalább 3-3 (növekedés esetében 12, ROS és H₂O₂ esetében 10) párhuzamos méréssel. A dolgozatban bemutatott adatok egy reprezentatív kísérlet adataiból számított átlag értékek a hozzá tartozó szórással (standard deviancia, \pm SD vagy standard error, \pm SE). A vizsgálati eredmények matematikai-statisztikai feldolgozását és kiértékelését a SigmaPlot 11.0 (Systat Software Inc, USA) szoftverrel végeztük. A kontrolltól való szignifikáns különbségeket a varianciaanalízist követően a Duncan teszt alkalmazásával állapítottuk meg. A Duncan teszt alkalmazásakor a különböző betűvel jelölt oszlopok szignifikánsan különböznek egymástól $P \leq 0,05$ valószínűségi szinten.

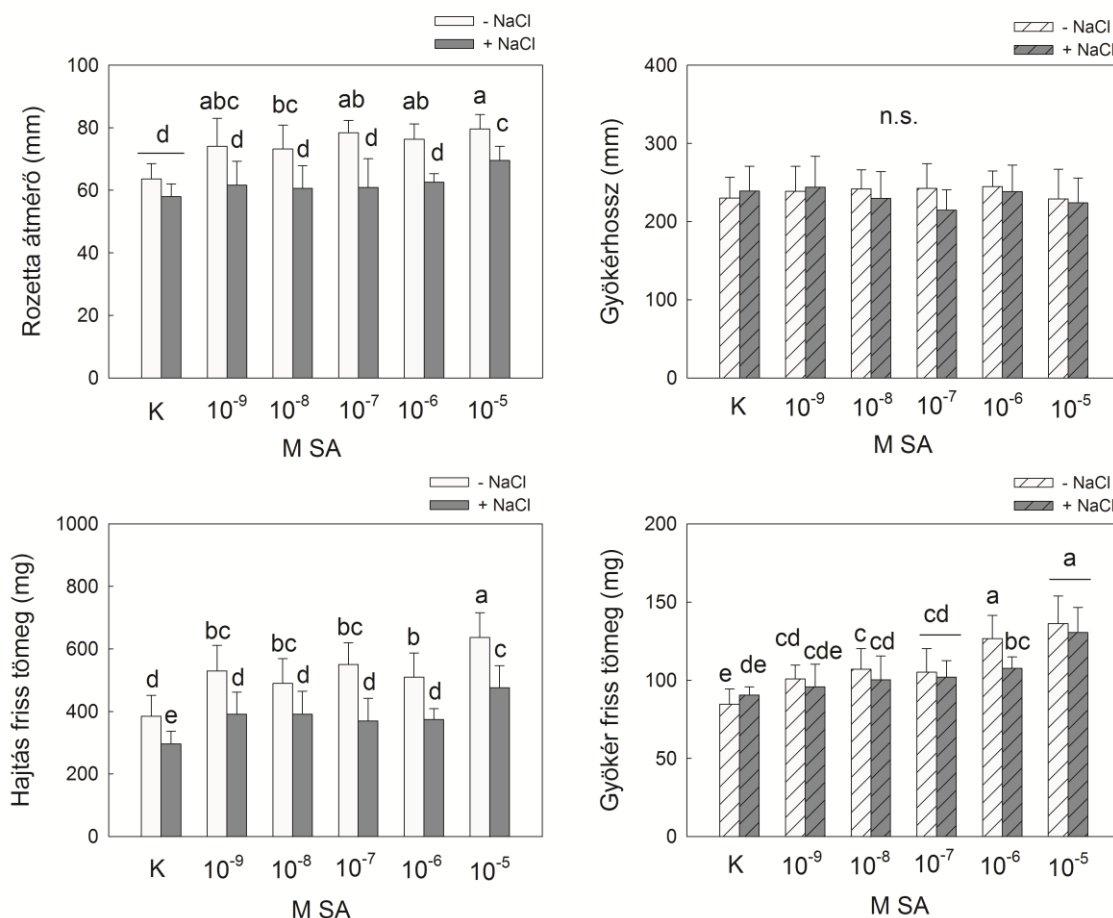
5. Eredmények

5.1 Lúdfű növények növekedésében bekövetkező változások SA előkezelés és azt követő sóstressz hatására

A hidropónikus kultúrában nőtt 5 hetes növények 10^{-9} – 10^{-5} M szalicilsavval történő kezelése 3 hét után szignifikánsan növelte a lúdfű növények rozetta átmérőjét, hajtás- és gyökértömegét, a gyökerek hosszában azonban nem idézett elő szignifikáns változást (7. és 8. ábrák). A sóstressz, amelyet 100 mM NaCl tápoldathoz történő hozzáadásával idéztünk elő 2 hét SA előkezelést követően 7 hetes növényeken, egy hét elteltével jelentősen csökkentette a növények hajtástömegét és kismértékben a rozetta átmérőjét, azonban gyökér hosszban és -tömegben nem idézett elő szignifikáns változást. Az alkalmazott sóstressz a vizsgált növekedési paraméterekben csökkenést idézett elő 2 hét SA előkezelést követően is, viszont ezeknél a növényeknél a kontrollnál magasabb hajtás- és gyökértömeget mértünk. Egy hétig tartó sókezelés után a 10^{-5} M SA-val előkezelt növények rendelkeztek a legnagyobb rozettával és legmagasabb hajtás- és gyökértömeggel, ami arra utal, hogy ezeknek a növényeknek a növekedése és stressztolarenciája is pozitívan változott (8. ábra).



7. ábra: Nyolc hetes, tölevélrózsás lúdfű növények két hét SA kezelés (10^{-5} - 10^{-9} M) és egy hét só (100 mM NaCl) kezelést követően. A „- NaCl” jelölés a csak SA-kezelt, a „+ NaCl” jelölés a SA előkezelést követő só kezelést jelenti.



8. ábra: Nyolc hetes lúdfű növények rozetta átmérőjének, gyökér hosszának, hajtás- és gyökér tömegének változása a két hét SA előkezelést követően alkalmazott egy hét 100 mM NaCl kezelés hatására. (- NaCl: nem sókezelt minták; + NaCl: 100 mM NaCl - dal kiváltott sóstressznek kitett növények; K: kontroll; M SA: a szalicilsav koncentrációja mol l⁻¹-ben kifejezve). A különböző betűvel jelölt oszlopok szignifikánsan különböznek egymástól P≤0,05 valószínűségi szinten Duncan teszt alapján. (Átlag±SD, n=12)

5.2 Elemtartalom változása a SA előkezelést és a sóstresszt követően

Nyolc hetes lúdfű növények K- és Na tartalma már SA előkezelés hatására módosult. Levélben minden SA kezelés lecsökkentette a K szintjét, gyökérben viszont csak a 10⁻⁵ M SA kezelés hatására csökkent a szövetek K tartalma. A Na tartalom koncentrációtól függő módon változott. Levélben a 10⁻⁹-10⁻⁷ M SA kezelések csökkentették a Na tartalmat, 10⁻⁶ és 10⁻⁵ M SA kezelések pedig növelték azt. Gyökérben a fordítottja volt megfigyelhető: az alacsonyabb koncentrációk elősegítették a Na felvételét, a magasabb koncentrációk viszont kis mértékben csökkentették a Na szintet. 100 mM NaCl kezelés hatására a K tartalom lecsökkent levélben

és gyökérben is, emellett a Na akkumulálódott mindkét szervben. A SA előkezelés a levélben és a gyökérben különböző módon hatott. A SA előkezelés hatására kisebb mértékű volt a levélben a K tartalom csökkenése, sőt a 10^{-5} M SA előkezelés a kontrollhoz képest magasabb K szintet eredményezett levelekben. A SA előkezelt növények levelében sóstressz hatására a kontrollhoz viszonyítva nagyobb mértékű Na halmozódott fel. Gyökérben a K tartalom a SA előkezelés után magasabb volt a sóstresszt követően főként a 10^{-6} és 10^{-5} M SA koncentrációk esetében, ahol ezzel párhuzamosan a Na tartalom alacsonyabb maradt. A 10^{-9} - 10^{-7} M SA előkezelések után viszont magasabb Na tartalmat mértünk a növények gyökerében sóstresszt követően (1. és 2. táblázat).

1. táblázat: A 10^{-9} - 10^{-5} M SA előkezelés hatása lúdfű növények levelének K és Na tartalmára, mg g^{-1} száraz tömegre (SZT) vonatkoztatva (átlag \pm SD). A különböző betűvel jelölt oszlopok szignifikánsan különböznek egymástól $P \leq 0,05$ valószínűségi szinten Duncan teszt alapján.

Levél					
SA (M)	K (mg g^{-1} SZT)		Na (mg g^{-1} SZT)		
	- NaCl	+ NaCl	- NaCl	+ NaCl	
K	52,95 \pm 3,42 ^a	35,22 \pm 2,03 ^{ef}	0,18 \pm 0,00 ^e	35,14 \pm 0,91 ^c	
10^{-9}	42,94 \pm 3,20 ^{cd}	32,57 \pm 0,49 ^f	0,08 \pm 0,01 ^e	35,56 \pm 2,29 ^c	
10^{-8}	45,40 \pm 1,79 ^{bc}	32,56 \pm 1,04 ^f	0,09 \pm 0,00 ^e	30,41 \pm 0,78 ^d	
10^{-7}	47,58 \pm 4,25 ^b	32,98 \pm 2,63 ^f	0,09 \pm 0,00 ^e	60,95 \pm 0,02 ^a	
10^{-6}	46,89 \pm 2,85 ^{bc}	34,20 \pm 1,62 ^{ef}	0,37 \pm 0,01 ^e	39,88 \pm 2,03 ^b	
10^{-5}	21,40 \pm 0,25 ^g	38,73 \pm 0,96 ^{de}	0,24 \pm 0,00 ^e	40,45 \pm 2,32 ^b	

2. táblázat: A 10^{-9} - 10^{-5} M SA előkezelés hatása lúdfű növények gyökérzetének K és Na tartalmára, mg g^{-1} száraz tömegre (SZT) vonatkoztatva (átlag \pm SD). A különböző betűvel jelölt oszlopok szignifikánsan különböznek egymástól $P \leq 0,05$ valószínűségi szinten Duncan teszt alapján.

Gyökér					
SA (M)	K (mg g^{-1} SZT)		Na (mg g^{-1} SZT)		
	- NaCl	+ NaCl	- NaCl	+ NaCl	
K	62,00 \pm 4,27 ^{cd}	46,16 \pm 4,13 ^f	0,79 \pm 0,06 ^e	18,31 \pm 1,26 ^b	
10^{-9}	76,57 \pm 2,66 ^a	49,33 \pm 0,55 ^{ef}	1,57 \pm 0,02 ^{de}	20,51 \pm 0,38 ^a	
10^{-8}	70,30 \pm 0,83 ^{ab}	51,73 \pm 0,15 ^{ef}	2,44 \pm 0,00 ^d	20,65 \pm 0,51 ^a	
10^{-7}	76,44 \pm 8,28 ^a	49,42 \pm 0,51 ^{ef}	0,62 \pm 0,07 ^e	20,97 \pm 0,72 ^a	
10^{-6}	65,76 \pm 4,01 ^{bc}	56,32 \pm 1,84 ^{de}	0,65 \pm 0,08 ^e	16,78 \pm 0,65 ^c	
10^{-5}	45,37 \pm 1,23 ^f	54,27 \pm 0,13 ^e	0,65 \pm 0,04 ^e	16,62 \pm 0,60 ^c	

A K/Na aránya nagymértékben lecsökkent sóstressz után mind a kontroll, mind az SA-előkeelt növényekben, azonban 10^{-6} és 10^{-5} M SA előkezelés a kontrollnál magasabb K/Na arányt eredményezett a növények gyökerében (3. táblázat).

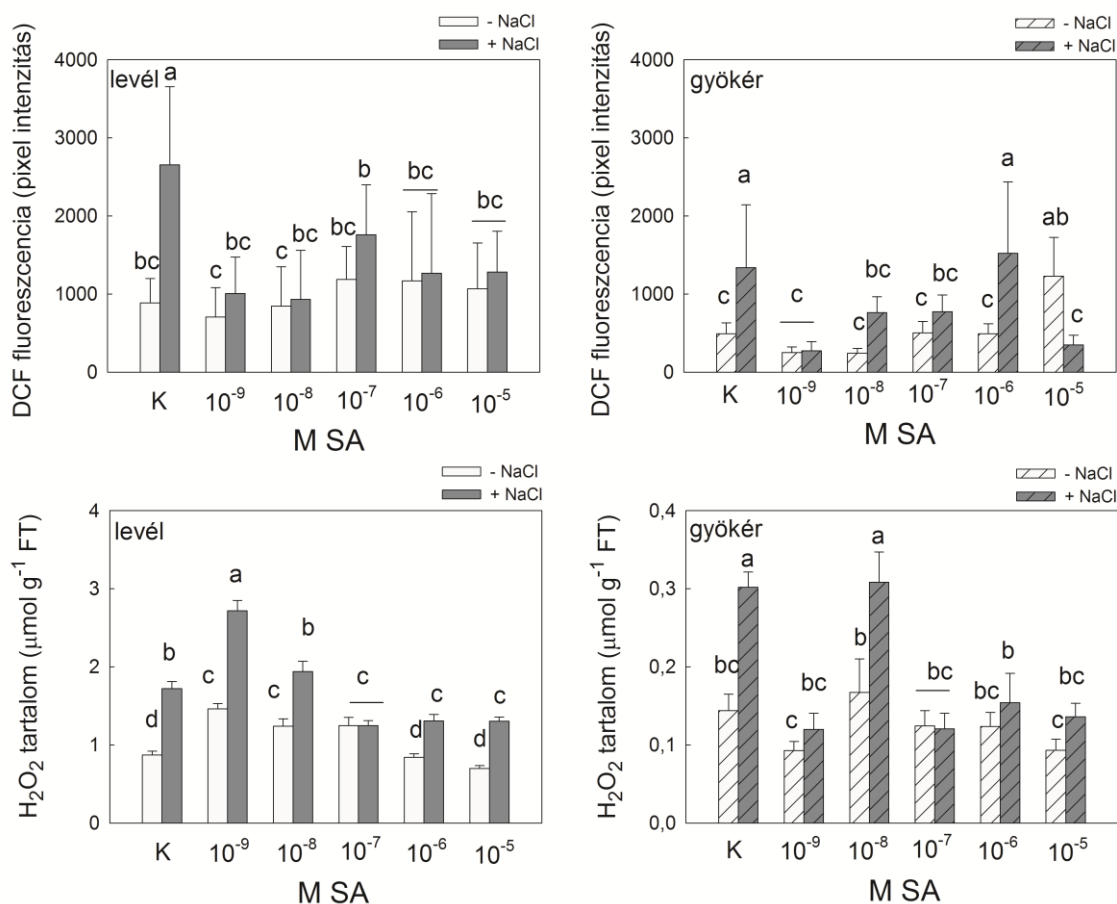
3. táblázat: A K/Na arány változása 10^{-9} - 10^{-5} M SA-val előkeelt lúdfű növényekben 1 hetes, 100 mM NaCl kezelést követően. Az adatokat az elemtartalmak átlagaiból számítottuk.

SA (M)	K/Na			
	Levél		Gyökér	
	- NaCl	+NaCl	- NaCl	+NaCl
K	280,08	1,00	78,18	2,52
10^{-9}	502,73	0,92	48,69	2,41
10^{-8}	482,65	1,07	28,80	2,50
10^{-7}	503,21	0,54	122,33	2,36
10^{-6}	124,34	0,86	99,95	3,36
10^{-5}	87,12	0,96	69,00	3,26

5.3 ROS és H₂O₂ tartalom SA előkeelt és sóstressznek kitett lúdfű növényekben

A reaktív oxigénformák szintjét H₂DCFDA festéssel határoztuk meg. A SA előkeelt minták levelében és gyökércsúcsában a DCF fluoreszcencia nem mutatott szignifikáns eltérést 8 hetes növényeknél. Sókezelés hatására mindkét vizsgált szervben szignifikánsan magasabb volt a mikroszkóposan kimutatható ROS szintje, ez az emelkedés viszont nem volt megfigyelhető a SA-val előkeelt növényekben; kivételt képez a 10^{-6} M SA előkezelést kapott növények gyökércsúcsa, amelyben a kontrolléhoz hasonló ROS szintet detektáltunk (9. ábra).

A teljes levél vagy gyökér felhasználásával, fotometriás módszerrel meghatározott H₂O₂ tartalom esetében a 10^{-9} - 10^{-7} M SA előkezelés hatására a növények levelében szignifikáns emelkedést mutattunk ki, míg a gyökerekben az összesen 3 hét SA kezelés minden alkalmazott koncentrációban kontrollhoz hasonló szintet eredményezett. Egy hetes, 100 mM NaCl kezelés szignifikánsan növelte a H₂O₂ mennyiségét a 8 hetes lúdfű növényekben, amely a 10^{-9} és 10^{-8} M SA előkezelés esetén még fokozottabb volt. A magasabb koncentrációjú, 10^{-7} - 10^{-5} M SA-val előkeelt növények viszont a sókeelt kontrollhoz képest alacsonyabb H₂O₂ szintet mutattak (9. ábra).

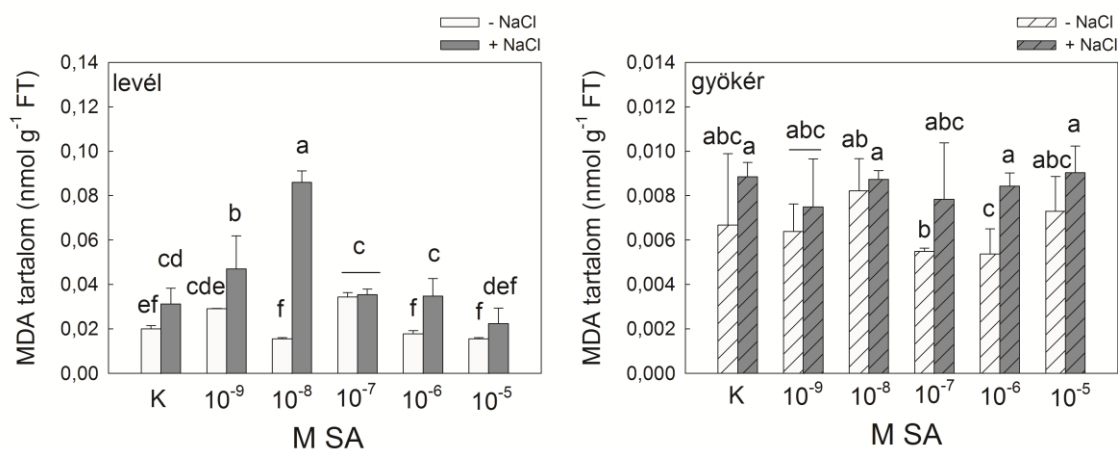


9. ábra: Nyolc hetes lúdfű növények reaktív oxigénforma (ROS) és H₂O₂ tartalma két hét SA előkezelés és egy hét sóstressz hatására. A ROS szintjét H₂DCFDA festést követően, a DCF fluoreszcencia pixelintenzitás változásának mérésével detektáltuk levél korongokban és a gyökércsúcsban. A H₂O₂ szint méréséhez a teljes levelet vagy gyökeret használtuk fel. Az x tengely feliratainak magyarázatát lásd a 8. ábránál. A különböző betűvel jelölt oszlopok szignifikánsan különböznek egymástól P≤0,05 valószínűségi szinten Duncan teszt alapján.

5.4 A lipidperoxidáció mértékének meghatározása SA előkezelt lúdfű növényekben sóstressz során

A növények károsodásának meghatározásához vizsgáltuk a 8 hetes lúdfű növényekben a lipidperoxidáció mértékét jelző malondialdehid tartalom alakulását. A SA előkezelt növényekben az MDA tartalom nem tért el szignifikánsan a kontrollban mérttől (10. ábra). Sókezelés hatására levélben az MDA tartalom szignifikáns emelkedést mutatott, ami 10⁻⁹ és 10⁻⁸ M SA előkezelés hatására még tovább emelkedett. Magasabb koncentrációjú (10⁻⁷-10⁻⁵ M) SA előkezelések nem okoztak további növekedést a lipidperoxidációban. Gyökérben ez a

tendencia nem volt megfigyelhető, ugyanis sem a sóstressz, sem a SA előkezelés nem emelte szignifikánsan a mért MDA tartalmakat (10. ábra).



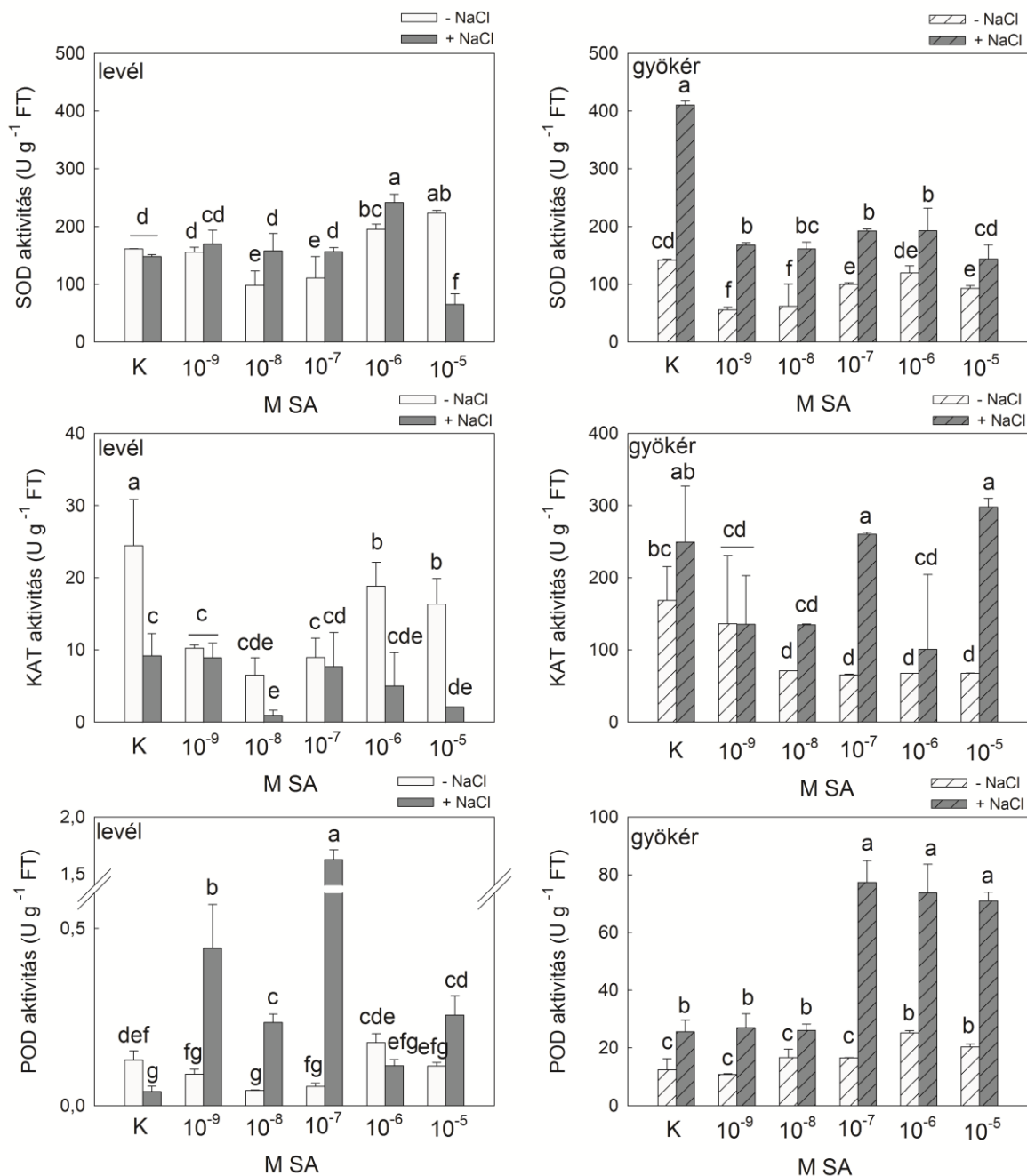
10. ábra: Malondialdehyd (MDA) tartalom lúdfű növények levelében és gyökerében SA előkezelést és sóstresszt követően (Átlag±SD vagy SE, n=3). Az x tengely feliratainak magyarázatát lásd a 8. ábránál. A különböző betűvel jelölt oszlopok szignifikánsan különböznek egymástól $P \leq 0,05$ valószínűségi szinten Duncan teszt alapján.

5.5 Az enzimatisz antioxiidánsok aktivitása SA előkezelés és sóstressz alatt

Három antioxiidáns enzim, a szuperoxid-dizmutáz (SOD), kataláz (KAT) és gvajakol peroxidáz (POD) aktivitását vizsgáltuk SA előkezelésnek majd 100 mM NaCl kezelésnek kitett 8 hetes lúdfű növények levelében és gyökerében. Általánosságban elmondható, hogy az összesen 3 hét SA előkezelés nem idézett elő szignifikáns változást a SOD és POD aktivitásokban, kivételt képeznek ez alól a 10^{-6} és 10^{-5} M SA-kezelt növények, amelyeknek hajtásában a SOD, gyökerében pedig a POD aktivitása emelkedett meg az előkezelés hatására. A KAT aktivitása szignifikánsan lecsökkent mind hajtásban mind gyökérben az összes alkalmazott SA előkezelés hatására (11. ábra).

Egy hét sóstressz hatására mindhárom vizsgált enzim aktivitása szignifikánsan megemelkedett a gyökérben és lecsökkent a levélben. A SA előkezelés módosította a lúdfű növények sóstresszre adott válaszát. A SOD aktivitás a SA előkezelt növények gyökerében kontroll értéket mutatott, hajtásukban viszont 10^{-6} M SA jelenlétében megemelkedett, 10^{-5} M SA hatására pedig lecsökkent sóstressz során. A 100 mM NaCl kezelés lecsökkentette a KAT aktivitását a SA előkezelt lúdfű növények hajtásában, gyökérben azonban kontroll szintet

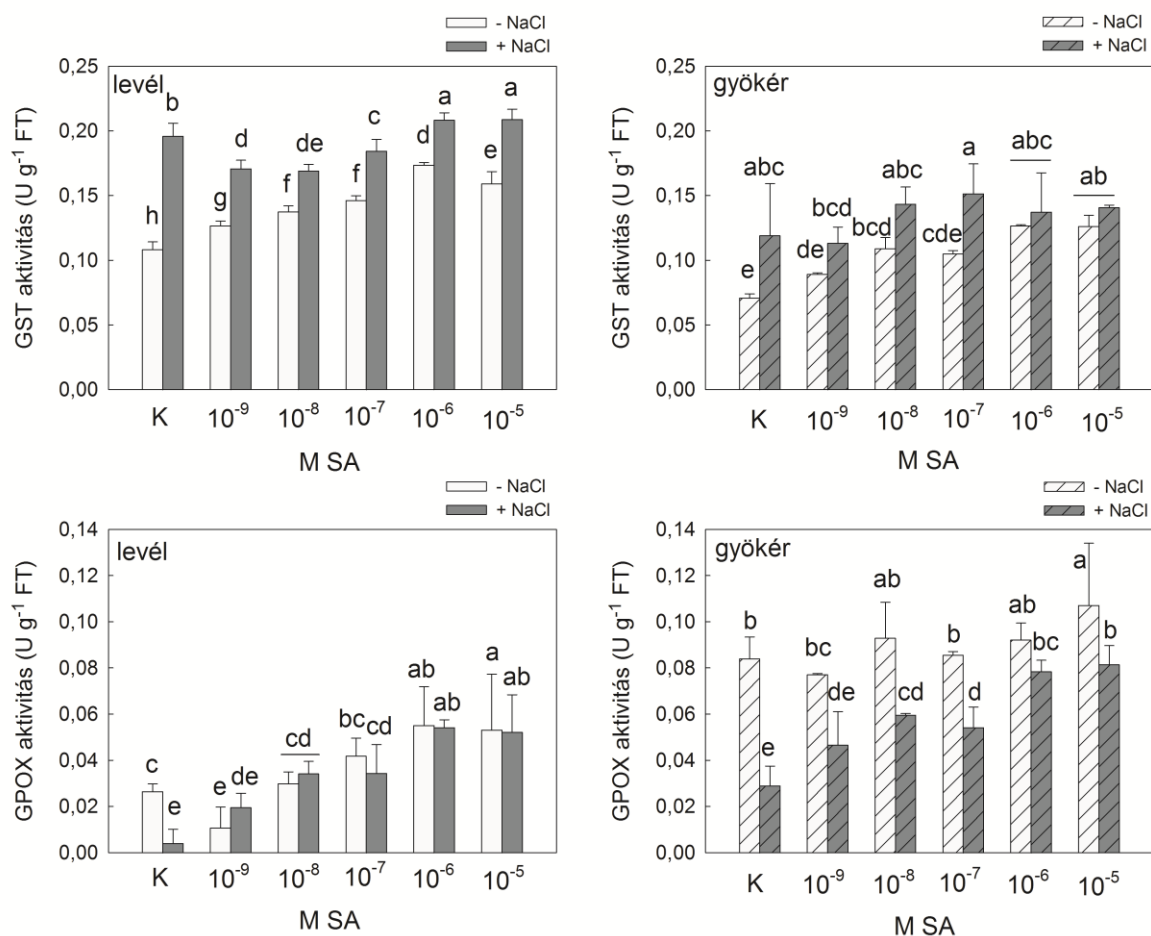
mutatott vagy szignifikánsan megemelkedett az aktivitása. Amíg hajtásban a POD aktivitása az összes, előkezelésként alkalmazott SA koncentráció hatására nőtt, addig gyökérben csak a 10^{-7} - 10^{-5} M SA előkezelések emelték meg szignifikánsan azt egy hét sóstressz után (11. ábra).



11. ábra: 10^{-9} - 10^{-5} M SA előkezelés hatása lúdfű növények levelének és gyökerének SOD, KAT és POD aktivitására 1 hetes, 100 mM NaCl kezelést követően (átlag \pm SD, n=3). Az x tengely feliratainak magyarázatát lásd a 8. ábránál. A különböző betűvel jelölt oszlopok szignifikánsan különböznek egymástól $P \leq 0,05$ valószínűségi szinten Duncan teszt alapján.

5.6 GST és GPOX aktivitásban bekövetkező változások lúdfű növényekben SA előkezelést követő sóstressz akklimatizáció során

A GST enzim aktivitása koncentrációfüggő módon megemelkedett 3 hét SA előkezelés hatására lúdfű növények levelében és gyökerében. A GPOX aktivitása levélben szintén koncentrációfüggő módon nőtt, gyökérben viszont csak a legmagasabb, 10^{-5} M SA kezelés hatására mutatott szignifikáns indukciót (12. ábra).



12. ábra: 10^{-9} - 10^{-5} M SA előkezelés hatása lúdfű növények levelének és gyökerének GST és GPOX aktivitására 1 hetes, 100 mM NaCl kezelést követően (átlag \pm SD, n=3). Az x tengely feliratainak magyarázatát lásd a 8. ábránál. A különböző betűvel jelölt oszlopok szignifikánsan különböznek egymástól $P \leq 0,05$ valószínűségi szinten Duncan teszt alapján.

Sókezelés hatására a GST aktivitása megemelkedett a kontrollhoz képest, azonban a GPOX aktivitása szignifikáns csökkenést mutatott mind levélben, mind gyökérben. SA előkezelés fokozta a GST aktivitásban bekövetkező emelkedést az egy hét sóstressz során és a 10^{-6} ill.

10^{-5} M SA előkezelés hatására szignifikánsan magasabb volt a GST aktivitás a csak sókezelt kontrollhoz képest. A SA előkezelés levélben megakadályozta a sóstressz által indukált GPOX aktivitás csökkenését, 10^{-6} és 10^{-5} M SA előkezelés pedig szignifikánsan megemelte a kezeletlen kontrollhoz képest a GPOX aktivitását sókezelés után is. Gyökérben a két legmagasabb SA koncentráció (10^{-6} és 10^{-5} M SA) hatására kontroll szintű GPOX aktivitást mértünk egy hét sóstresszt követően (12. ábra).

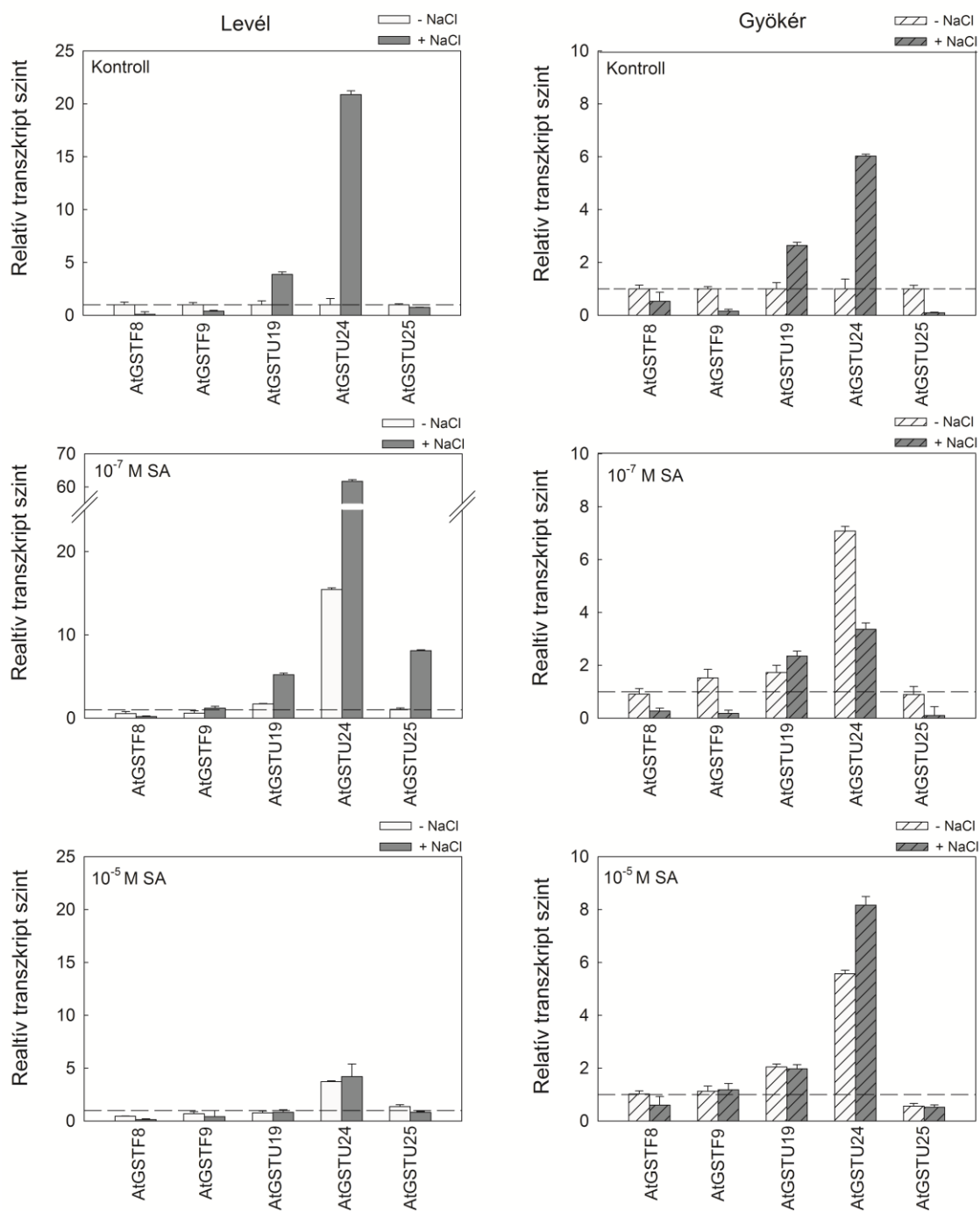
5.7 *In silico* promóter régió vizsgálat

A kiválasztott lúdfű GST gének 5' szabályozó régiójában található *cis*-ható elemek (*cis*-acting elements) vizsgálatát *in silico*, a start kodon előtti 1500 bp felhasználásával végeztük el a PlantCARE adatbázis segítségével (Lescot és mtsai. 2002). Eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy a SA-válaszban résztvevő *TCA-elem*, csak az *AtGSTF8*, *AtGSTF9* és *AtGSTU25* gének promóter régiójában volt jelen (4. melléklet). A védekezésben fontos elemek közül a *TC-gazdag ismétlődések* minden vizsgált szabályozó régióban megtalálható, viszont csak az *AtGSTU19* és *AtGSTU24* gének promóter régiójában volt jelen több (3-3) kópiában. A SAR-ban szerepet játszó *TGACG-motívum* szintén jelen volt minden vizsgált szabályozó régióban, legnagyobb számban az *AtGSTF8*, *AtGSTF9* és *AtGSTU25* gének promóterében. A vizsgált génszakaszokon számos más szabályozó elemet is azonosítottunk, köztük a szárazság indukálható MYB kötő helyet, az *MBS motívumot*, és az ABS indukálhatóságért felelős *ABRE* elemet. A vizsgált *SIGST*-k 5' upstream régiójában még számos fényválasz elem található, ami a különböző jelátviteli utak összetett kölcsönhatására utal. A vizsgált gének 5' régiójának főbb nukleotid motívumainak listája és a hozzájuk tartozó leírás a 4. mellékletben találhatóak.

5.8 A kiválasztott *AtGST* gének expressziójában bekövetkező változások

Irodalmi adatok alapján kiválasztottunk 3 tau (*AtGSTU19*, *AtGSTU24* és *AtGSTU25*) és 2 phi (*AtGSTF8* és *AtGSTF9*) csoportba tartozó GST gént, amelyek expressziós szintjét meghatároztuk 10^{-7} és 10^{-5} M SA előkezelést és 100 mM NaCl stresszt követően, hogy megvizsgáljuk az aktivitásban bekövetkezett változások hátterében állhatnak-e génexpressziós változások. Mindkét vizsgált SA koncentráció szignifikánsan megemelte az *AtGSTU24*

expresszióját az előkezelés során hajtásban és gyökérben egyaránt, az *AtGSTU19* gént viszont csak a 10^{-5} M SA előkezelés indukálta, a növények gyökerében (13. ábra).



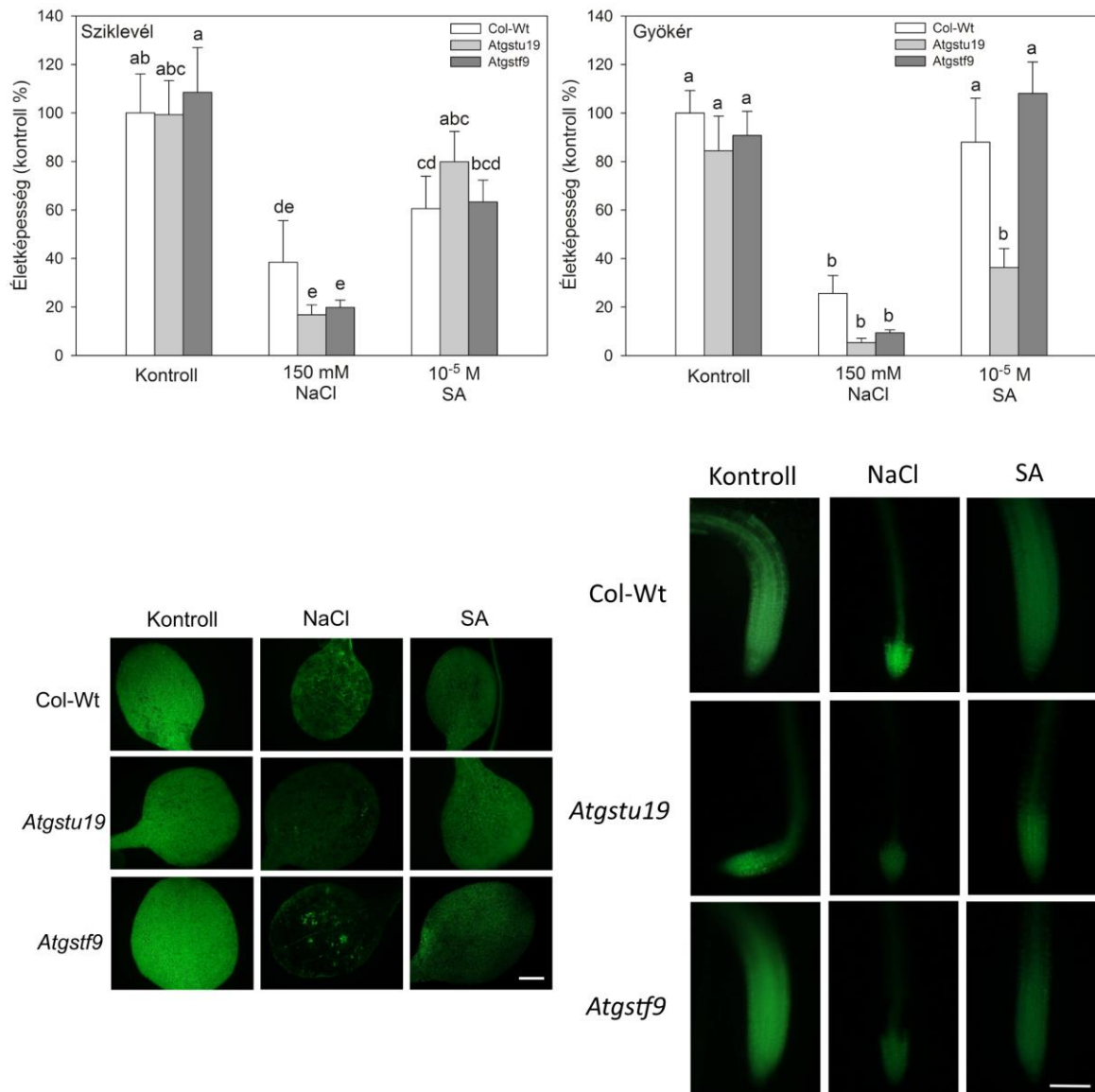
13. ábra: 10^{-7} M és 10^{-5} M SA előkezelés hatása lúdfű növények levelének és gyökerének GST transzkript szint változására 1 hetes, 100 mM NaCl kezelést követően (átlag \pm SD, n=3). (- NaCl: nem sókezelt minták, + NaCl: 100 mM NaCl – dal kiváltott sóstressznek kitett növények). A transzkript szint relatív egysége minden gén esetében a hajtás vagy gyökér kontroll mintáiban mért relatív transzkript szint (=1), amelyet szaggatott vonal jelöl az ábrákon.

Sóstressz során az *AtGSTF8*, *AtGSTF9* és *AtGSTU25* gének represszálódtak, viszont indukálódott az *AtGSTU19* és *AtGSTU24* gének expressziója. A 10^{-7} M SA előkezelés fokozta az *AtGSTU19* és *AtGSTU24* gének kifejeződését levélben, gyökérben viszont a sókezelt kontrollban mérhető szintek alatt maradt a gének expressziója. A magasabb koncentrációjú (10^{-5} M) SA előkezelés hatására levélben az *AtGSTU24*, gyökérben az *AtGSTU19* őrizte meg magasabb expresszálsági szintjét, azonban további indukció nem volt megfigyelhető a sókezelés hatására. Gyökérben az *AtGSTU24* expressziója csökkent a sóstressznek kitett 10^{-7} M SA előkezelt növényekben, de így is 3-szoros indukciót mutatott a kísérlet végén (13. ábra).

5.9 GST gének mutációjának hatása a lúdfű csíranövények GST aktivitására, életképességére és gyökérnövekedésére

Rövidtávú kísérletekben a 2 hetes vad típusú és GST mutáns (*Atgstu19* és *Atgstf9*) lúdfű növények életképessége különböző módon reagált 48 óra magas só- (150 mM) és SA (10^{-5} M SA) kezelésekre. Sóstressz során lecsökkent a növények életképessége, azonban a mutánsokban nagyobb mértékű volt a csökkenés. A vad típusban 60-70%-os volt az életképesség csökkenés, az *Atgstu19* és *Atgstf9* mutánsokban viszont 80-90%-os életképesség vesztést figyelhattunk meg. Ehhez képest a 10^{-5} M SA kezelés kisebb mértékben befolyásolta az életképességet. Szikleveleiben a vad típusú és a mutáns növények hasonló változást mutattak a kezelés hatására, viszont gyökérben az *Atgstu19* mutánsban mintegy 60%-kal csökkent az életképesség, amíg a vad típusban mindössze 10%-kal (14. ábra).

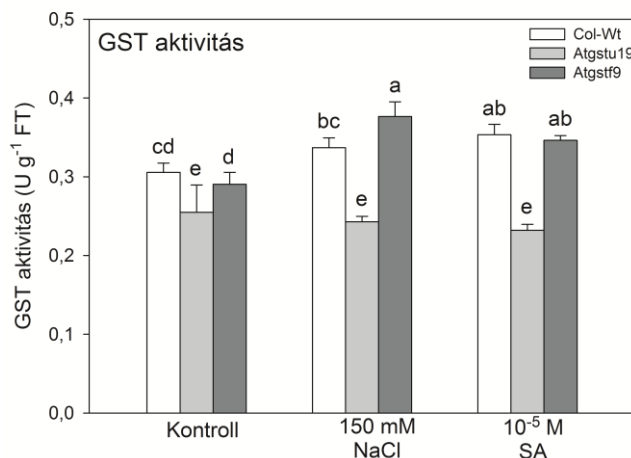
A mutáns növények GST aktivitása a vad típushoz képest már kontroll állapotban is szignifikánsan alacsonyabb volt. Sóstressz és SA kezelés hatására a vad típusú és az *Atgstf9* mutánsokban a GST aktivitás megemelkedett, az *Atgstu19* növényekben viszont szignifikánsan alacsonyabb maradt az alkalmazott kezelés után a vad típushoz viszonyítva (15. ábra).



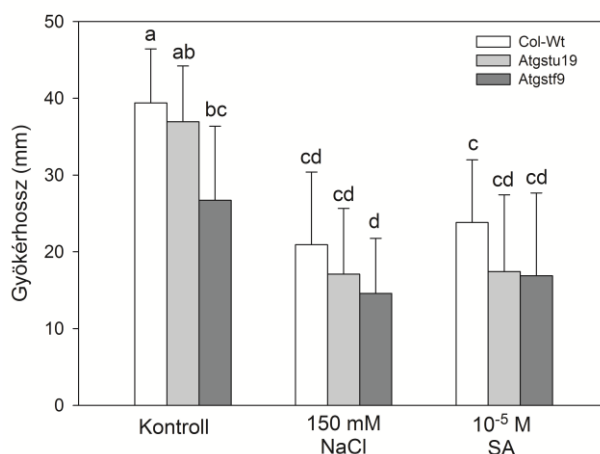
14. ábra: NaCl (150 mM) és SA (10⁻⁵ M) kezelés hatása két hetes vad típusú (Col-Wt) és GST mutáns (*Atgstu19* és *Atgstf9*) lúdfű növények sziklelevelének és gyökerének életképességére 48 h kezelést követően (átlag±SE, n=10). Az életképesség meghatározása FDA festéssel történt. A: a mért fluoreszcencia értékek a kontroll %-ban kifejezve B: Reprezentatív fotók fluorescein diacetáttal jelölt kontroll, SA és NaCl kezelt vad típusú *Arabidopsis* szikleleveléről (mérce=0,5 mm) és főgyökércsúcsáról (mérce=0,1 mm). A különböző betűvel jelölt oszlopok szignifikánsan különböznek egymástól P≤0,05 valószínűségi szinten Duncan teszt alapján.

Megvizsgáltuk a növények növekedését 2 hét 150 mM NaCl és 10⁻⁵ M SA kezelés alatt. A növényeket 4 napos korukban helyeztük a kezelésre és vertikális táptalajon nevelve vizsgáltuk

a gyökérnövekedésüket. Az eredmények alapján elmondhatjuk, hogy az *Atgstf9* mutánsoknak már kontroll körülmények között is lecsökkent a gyökérnövekedése a vad típushoz és az *Atgstu19* mutánsához képest. 150 mM NaCl kezelés gátolta a gyökérnövekedést vad típusban, de a mutánsokban kifejezettebb volt ez a gátlás. A 10^{-5} M SA kezelés hatására hasonló mértékben csökkent a gyökérhossz a vad típusú és mutáns növényekben (16. ábra).



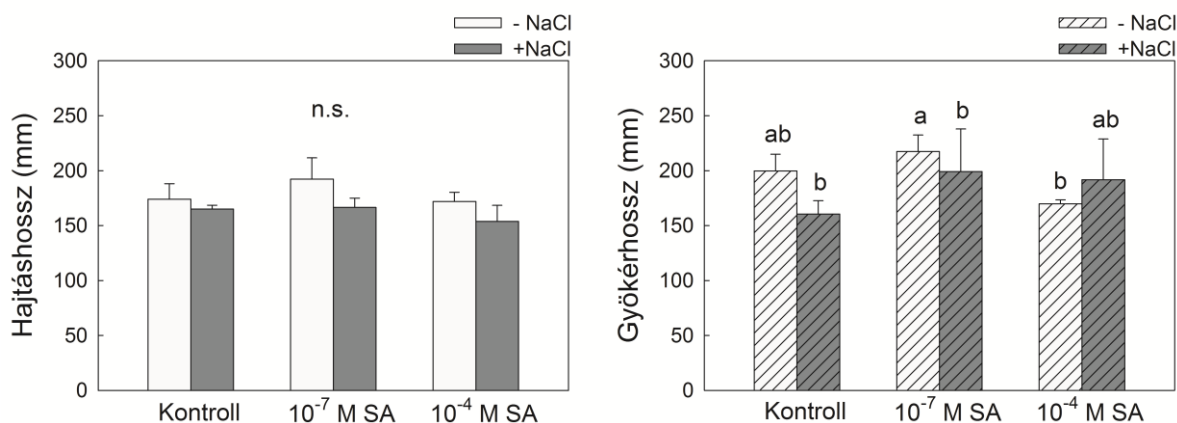
15. ábra: NaCl (150 mM) és SA (10^{-5} M) kezelés hatása két hetes vad típusú (Col-Wt) és GST mutáns (*Atgstu19* és *Atgstf9*) lúdfű növények GST aktivitására 48 h kezelést követően (átlag \pm SD, n=3). A különböző betűvel jelölt oszlopok szignifikánsan különböznek egymástól $P \leq 0,05$ valószínűségi szinten Duncan teszt alapján.



16. ábra: A vad típusú (Col-Wt) és GST mutáns (*Atgstu19* és *Atgstf9*) lúdfű növények gyökérhossza 2 hét 150 mM NaCl vagy 10^{-5} M SA kezelés után (átlag \pm SD, n=8). A különböző betűvel jelölt oszlopok szignifikánsan különböznek egymástól $P \leq 0,05$ valószínűségi szinten Duncan teszt alapján.

5.10 Paradicsom növények növekedésében bekövetkező változások SA előkezelés hatására sóstressz akklimatizáció során

A hidropónikus kultúrában nőtt 4 hetes paradicsom növényekben 4 hét 10^{-4} M SA kezelés csökkentette a gyökér- és a hajtás növekedését, habár utóbbit nem szignifikánsan. Sóstressz hatására lecsökkent a hajtás- és gyökérhossz, azonban egyik változás sem volt szignifikáns a kontroll növényekhez viszonyítva. A 3 hetes SA előkezelést követően alkalmazott sókezelés a növények hajtáshosszát kis mértékben csökkentette. A 10^{-7} M SA-val előkezelt növények gyökérhossza a sóstressz hatására szignifikánsan csökkent, viszont 10^{-4} M SA előkezelés hatására további gyökérhossz csökkenés nem volt megfigyelhető 100 mM NaCl hatására (17. ábra).

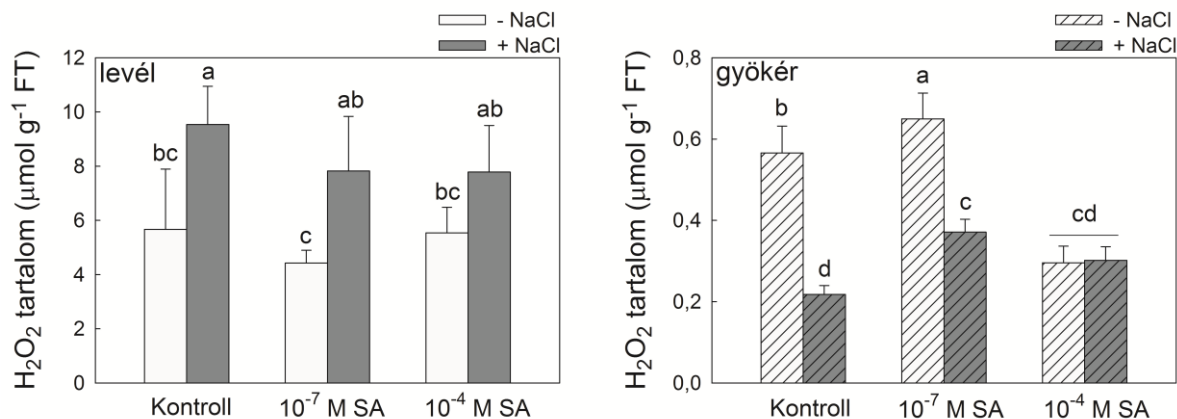


17. ábra: Három hét 10^{-7} M és 10^{-4} M SA előkezelés hatása paradicsom növények hajtás- és gyökérhosszára 1 hetes, 100 mM NaCl kezelést követően (átlag \pm SD, n=4). (- NaCl: nem sókezelt minták; + NaCl: 100 mM NaCl – dal kiváltott sóstressznek kitett növények). A különböző betűvel jelölt oszlopok szignifikánsan különböznek egymástól $P \leq 0,05$ valószínűségi szinten Duncan teszt alapján.

5.11 SA előkezelés hatása paradicsom növények H_2O_2 tartalmára sóstressz során

A SA kezelés a növények hajtásában nem okozott jelentős H_2O_2 szint változást, viszont a gyökerekben szignifikáns változásokat indukált. A 10^{-7} M SA előkezelés hatására megemelkedett, a 10^{-4} M SA hatására viszont lecsökkent a gyökér H_2O_2 tartalma. Egy hét sókezelést követően a hajtás H_2O_2 tartalma megemelkedett, a gyökéré viszont lecsökkent. Hajtásban a SA előkezelt mintákban is magasabb H_2O_2 szintet mértünk az egy hét sóstresszt követően, viszont ez nem érte el a sókezelt kontrollban mérhető szintet. Gyökérben a 10^{-7} M

SA előkezelés hatására a mintákban H_2O_2 tartalom csökkenést detektáltunk, ennek mértéke a csak sókezelt növényekben mért alatt maradt. Gyökérben a 10^{-4} M SA előkezelést követő egy hét sókezelés során nem tapasztaltunk a H_2O_2 tartalomban változást (18. ábra).

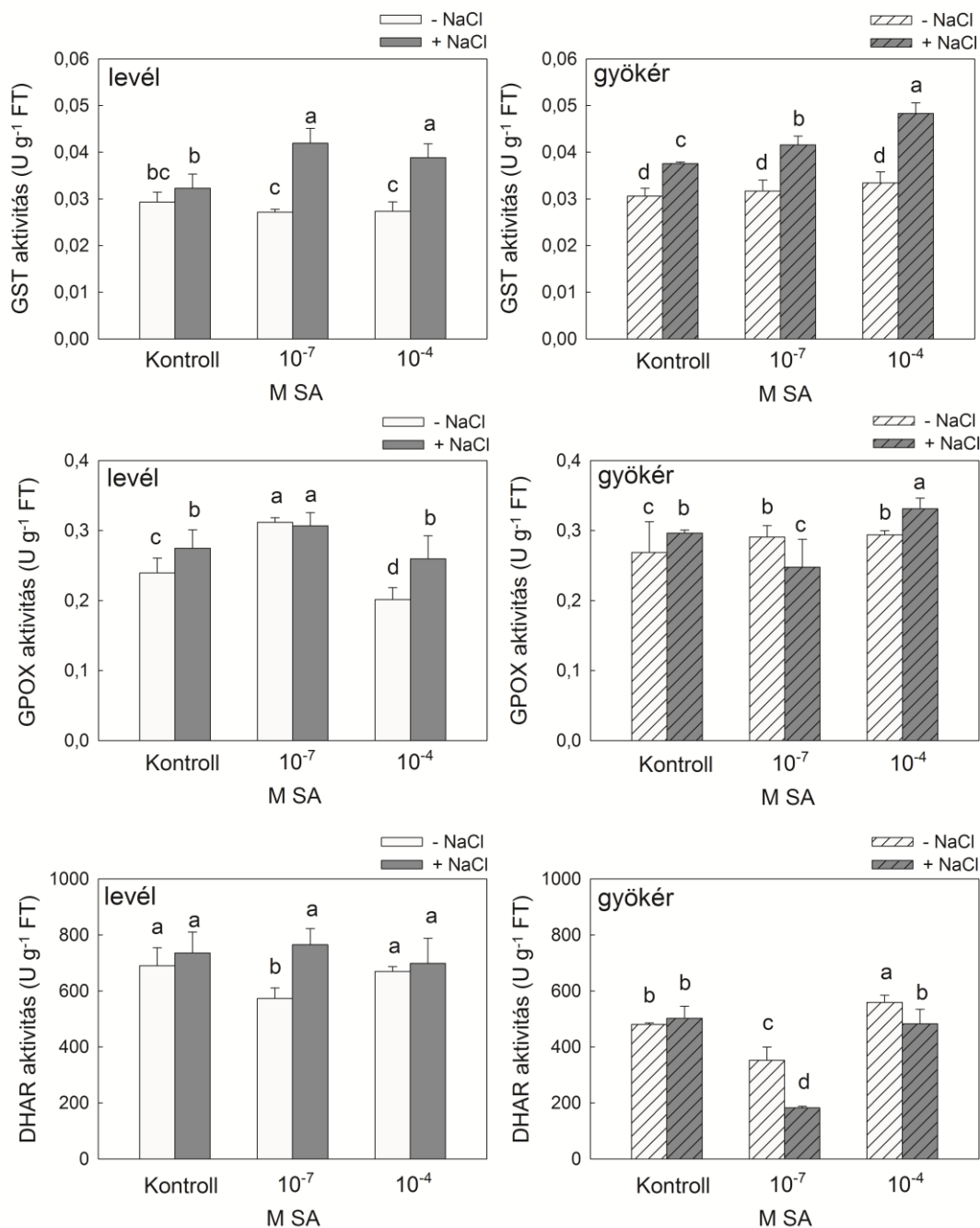


18. ábra: Három hét 10^{-7} M és 10^{-4} M SA előkezelés hatása paradicsom növények levelének és gyökerének H_2O_2 szint változására 1 hetes, 100 mM NaCl kezelést követően (átlag \pm SD, n=3). (- NaCl: nem sókezelt minták; + NaCl: 100 mM NaCl – dal kiváltott sóstressznek kitett növények). A különböző betűvel jelölt oszlopok szignifikánsan különböznek egymástól $P \leq 0,05$ valószínűségi szinten Duncan teszt alapján.

5.12 Paradicsom növények levelének és gyökerének GST, GPOX és DHAR aktivitása SA előkezelést követő sóstressz akklimatizáció során

Vizsgáltuk a SA- és só-indukálta változásokat a GST, GPOX és DHAR aktivitásokban 8 hetes paradicsom növények levelében és gyökerében, 10^{-7} és 10^{-4} M SA előkezelést és egy hét sóstresszt követően. A CDNB szubsztráttal szemben mérhető össz GST aktivitás paradicsom növények levelében és gyökerében a 4 hetes SA kezelés után kontroll szinten volt. A CHP szubsztráttal szembeni GPOX aktivitás szignifikánsan megemelkedett gyökérben mindkét alkalmazott SA előkezelés hatására. Paradicsom növények levelében 10^{-7} M SA előkezelés hatására nőtt, 10^{-4} M SA előkezelés viszont csökkentette a GPOX aktivitást. A sóstressz szignifikánsan növelte a GST és GPOX aktivitást levélben és gyökérben a kontrollhoz viszonyítva. A SA előkezelés hatására a GST aktivitása nagyobb mértékű növekedést mutatott, a csak sókezelt növényekhez képest is. A legmagasabb GST aktivitást a 10^{-4} M SA előkezelést kapott növények gyökerében mértük. A SA előkezelt növényekben sókezelés hatására a GPOX aktivitás megemelkedett és a sókezelt kontrolléhoz hasonló vagy attól

magasabb GPOX aktivitást mutatott, kivételt képez a 10^{-7} M SA-előkezelte növények gyökere, amelynek GPOX aktivitása csökkent az egy hét sóstressz után (19. ábra).

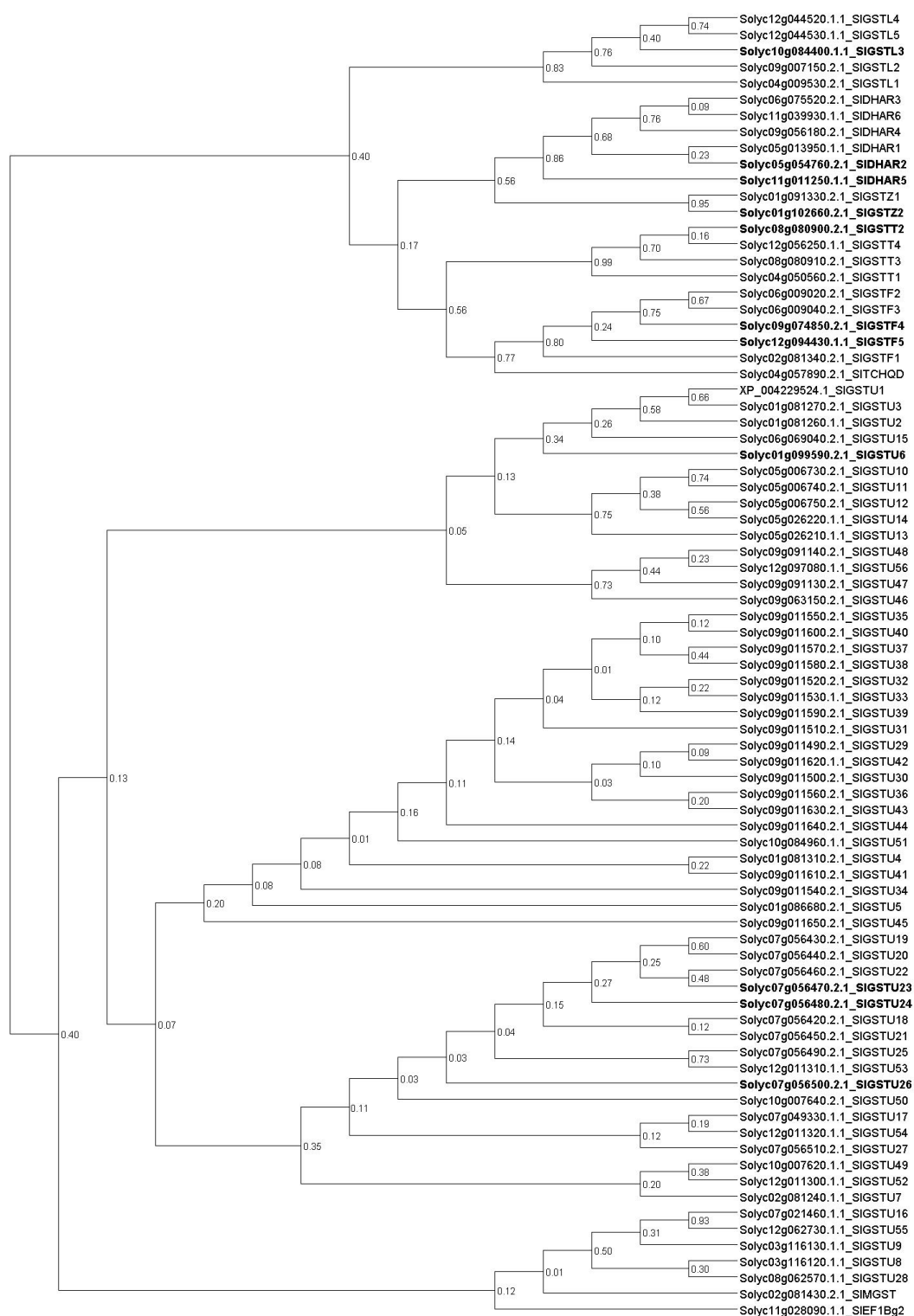


19. ábra: Három hét 10^{-7} M és 10^{-4} M SA előkezelés hatása paradicsom növények levelének és gyökerének GST, GPOX és DHAR aktivitásában bekövetkező változására 1 hetes, 100 mM NaCl kezelést követően (átlag±SD, n=3). (- NaCl: nem sókezelt minták; + NaCl: 100 mM NaCl – dal kiváltott sóstressznek kitett növények). A különböző betűvel jelölt oszlopok szignifikánsan különböznek egymástól $P \leq 0,05$ valószínűségi szinten Duncan teszt alapján.

A DHAR aktivitása, amely az aszkorbát regenerálásában betöltött szerepe által szintén befolyásolhatja a redox állapotot, nem változott szignifikánsan a növények levelében SA kezelés és sóstressz után sem. Kivételt képez a 10^{-7} M SA kezelés, amely hatására levélben és gyökérben is lecsökkent a DHAR aktivitás, ami a gyökérben a sóstressz hatására még inkább megnyilvánult. A 10^{-4} M SA kezelés azonban kontroll szinten tartotta vagy megemelte a DHAR enzim aktivitását az előkezelés során és sóstresszt követően is.

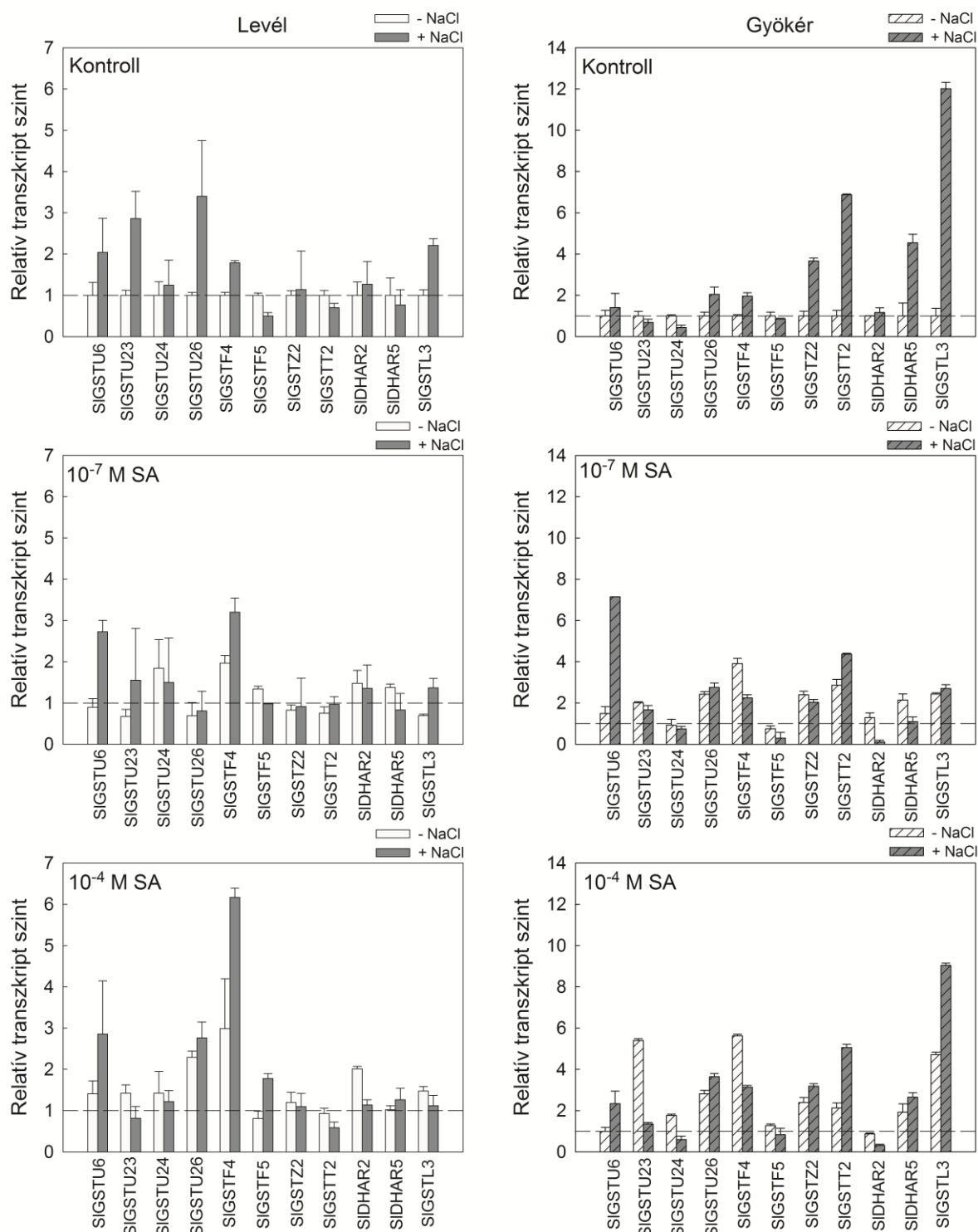
5.13 Paradicsomban található GST gének filogenetikai csoportosítása és génexpressziójuk vizsgálata SA előkezelés és sóstressz során

A paradicsom glutation transzferáz kódoló szekvenciákat *in silico* módon azonosítottuk a Sol Genomics Network adatbázisban (Bombarely és mtsai. 2011). Létrehoztunk egy homológián alapuló családfát az SGN adatbázisában található szekvenciák mintegy 200 aminosav hosszúságú szakaszát felhasználva a MEGA5 programmal (Tamura és mtsai. 2011). A paradicsomban található GST szekvenciákat 8 szolubilis csoportba soroltuk a már ismert AtGST szekvenciákkal való hasonlóság és a GST protein szekvenciák ismert konzervatív régiói (Edwards és mtsai. 2002) segítségével. Az SGN adatbázisban 81 teljes vagy részleges paradicsom GST szekvenciát azonosítottunk. Ezek közül a tau (SIGSTU-k) csoportba 56 gén tartozik és ez a csoport a legnagyobb, a phi (SIGSTF) és lambda (SIGSTL) csoportokba 5-5 szekvenciát soroltunk, a DHAR 6, a théta (SIGSTT) 4 és a zéta (SIGSTZ) 2 GST gént tartalmaz. Ezen kívül a paradicsom genom tartalmaz egy tetraklórhidrokinon dehalogénáz (SITCHQD) szekvenciát, valamint megtalálható benne egy, az eukarióta elongációs faktor 1B γ -alegységek csoportjába tartozó GST (SIEF1B γ) és egy membránkapcsolt GST is (SIMGST). A rokonsági fa nem tartalmaz három olyan szekvenciát (Solyc06g083770.2.1, Solyc09g009820.2.1 és Solyc12g036560.1.1), amelyekben csak egy tioredoxin-szerű domén található, ami a GSH kötésben vehet részt (Dixon és Edwards 2010). Annak érdekében, hogy a különböző elnevezésekből eredő félreértéseket a továbbiakban elkerüljük, az SGN adatbázisában található GST szekvenciákat elneveztük, az Edwards és mtsai. (2000) által javasolt szabályok alapján. A paradicsom genomjának feltérképezése lehetővé tette, hogy a GST szekvenciák elrendeződését és helyét meghatározzák a kromoszómákon belül. Az elnevezésük csoportonként történt úgy, hogy a szekvenciák számozását az egyes kromoszómán lévővel kezdtük és folytatólagosan számoztuk (20. ábra).



20. ábra: Rokonsági fa (filogram) a paradicsom ismert GST szekvenciáiból. A rokonsági fán az SGN adatbázisban található szekvenciák azonosítási számai láthatóak egy szekvencia kivételével, amelyet az NCBI adatbázisban található szekvencia azonosítóval jelöltünk. A szekvenciákat Edwards és mtsai. (2000) által meghatározott nevezéktani szabályok alapján neveztük el és az ábrán félkövér betűvel jelöltük az általunk vizsgált gének nevét.

A kiválasztott 11 GST szekvencia transzkripciós szintjét QRT-PCR módszerrel vizsgáltuk 8 hetes paradicsom növényekben, egy hét sókezelés után a kontroll vagy SA előkezelt növényekben. Annak érdekében, hogy az egyes GST-k transzkripciós szintjében bekövetkező változásokat össze tudjuk hasonlítani, a relatív transzkript mennyiséget a kontroll minták levelében és gyökerében génenként egynek vettük. Az alkalmazott sókezelés (100 mM NaCl) egy hét kezelés után indukálta néhány GST transzkripcióját. Levélben megemelkedett a tau csoportba tartozó (*SIGSTU23* és *SIGSTU26*) GST-k expressziós szintje, gyökérben pedig az *SIGSTT2*, *SIGSTZ2*, *SIDHAR5* és *SIGSTL3* mutattak indukciót sóstressz során. A 4 hetes SA kezelés koncentrációfüggő módon hatott a vizsgált paradicsom GST-k génexpressziójára. 10^{-7} M SA jelenlétében a levelekben az *SIGSTF4* és *SIGSTU24* szekvenciák transzkripciós szintjében kétszeres növekedést mértünk, gyökérben ugyanez a kezelés négyszeresére emelte az *SIGSTF4* és kétszeresére az *SIGSTU23*, *SIGSTU26*, *SIGSTZ2*, *SIGSTT2* és *SIGSTL3* expresszióját. A 10^{-4} M SA előkezelés több vizsgált GST szekvencia expresszióját növelte a 10^{-7} M SA kezeléshez viszonyítva és az adott génekben 2-6-szoros indukciót detektáltunk, főként az *SIGSTF4*, *SIGSTU23* és *SIGSTL3* gének esetében. A SA-val történő előkezelés koncentrációfüggő módon váltja ki a „priming” hatást (Gémes és mtsai. 2011, Poór és mtsai. 2011). A SA kísérleteinkben is enyhítette a sóstressz okozta károsodást és a magasabb koncentráció, 10^{-4} M SA hatására kifejezettebb változások voltak a GST génexpresszió mintázataiban. Egy phi csoportba tartozó GST (*SIGSTF4*) transzkript szintje mutatott szignifikáns emelkedést levélben és gyökérben is a kontrollhoz képest a SA kezelés hatására. Általánosságban elmondható, hogy levélben a phi és tau (*SIGSTU6*, *SIGSTU26*) csoportú GST-k expressziója NaCl és SA kezelés hatására egyaránt indukálódott, amíg az *SIGSTT2*, *SIGSTZ2*, *SIDHAR5* és *SIGSTL3* transzkripciója a gyökérben mutatott magasabb expresszálsági szintet azt jelezve, hogy ezek a gének fontos szerepet játszanak az általunk tanulmányozott stresszfolyamatban és hozzájárulhatnak a mért GST aktivitás emelkedéséhez. A 100 mM NaCl kezelés a 10^{-4} M SA előkezelt növényekben a transzkripciós szint csökkenését idézte elő néhány vizsgált *SIGST* szekvencia, mint pl. az *SIGSTU24* esetében (21. ábra).



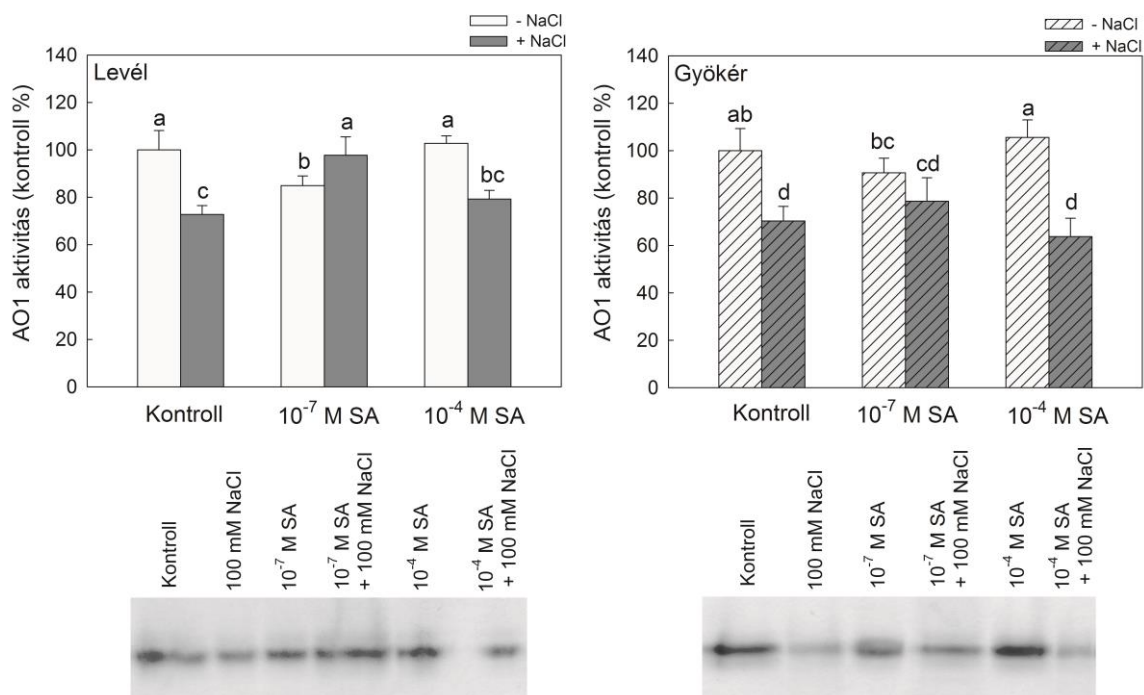
21. ábra: Három hét 10⁻⁷ M és 10⁻⁴ M SA előkezelés hatása paradicsom növények levelének és gyökerének GST transzkript szint változására 1 hetes, 100 mM NaCl kezelést követően (átlag±SD, n=3). (- NaCl: nem sókezelt minták; + NaCl: 100 mM NaCl –dal kiváltott sóstressznek kitett növények). A transzkript mennyisége relatív egysége a hajtás vagy gyökér kontroll mintáiban mért relatív transzkript szint (=1), amelyet szaggatott vonal jelöl az ábrákon.

5.14 Promóter régió *in silico* vizsgálata

A paradicsom genom szekvenciájának közzététele megkönnyítette a *cisz*-szabályozó elemek hozzáférését az SGN adatbázisában (<http://solgenomics.net>), így a kiválasztott paradicsom GST gének *cisz*-ható elemeit a start kodon előtti 1500 bp felhasználásával, a lúdfűhöz hasonlóan, a PlantCARE adatbázis segítségével (Lescot és mtsai. 2002) *in silico* vizsgáltuk. A SA-válaszban résztvevő *TCA-elem* csak a *SIGSTU6*, *SIGSTT2* és *SIGSTZ2* gének promóter régiójában volt jelen több példányban. Azonban más, védekezésben fontos elemek (*TC-gazdag ismétlődések*) az *SIGSTT2* promóter régió kivételével, megtalálhatóak minden vizsgált szabályozó régióban, általában több kópiában. A vizsgált génszakaszokon azonosítottuk a *TGACG elemet*, az *MBS* motívumot és az *ABRE* elemet. Ezek mellett a flavonoid bioszintézis gének szabályozásában fontos *MBSII* elem is megtalálható volt néhány gén promóterében. A vizsgált *SIGST*-k 5' upstream régiója a lúdfűhöz hasonlóan számos fényválasz elemet tartalmaz, így valószínűleg a jelátviteli utak összetett kölcsönhatása ezekre a génekre is kihatással van. A vizsgált gének 5' régiójának főbb *cisz*-ható elemek listája és a hozzájuk tartozó leírás az 5. mellékletben találhatóak.

5.15 AO aktivitás SA előkezelt és sóstressznek kitett paradicsom növényekben

Az aldehid oxidáz (AO) aktivitását natív PAGE gélben történő elválasztás után 2-naftaldehid (NALd) szubsztráttal határoztuk meg. A legkisebb mobilitású AO sávot (AO1) levél és gyökér szövetben is detektáltuk, így a továbbiakban ennek az aktivitását vizsgáltuk. Gyökérben legalább 4, nagyobb mobilitású sáv is detektálható volt, azonban ezek aktivitása alacsony volt és a gélen csak nagyon gyenge jelet adtak. Paradicsom növények levelében a 4 hetes, 10^{-7} M SA előkezelés hatására lecsökkent a legkisebb mobilitású AO sáv aktivitása, 10^{-4} M SA előkezelés viszont kontroll szintű AO aktivitást eredményezett a levelekben. Gyökérben az SA előkezelés nem okozott szignifikáns eltérést az AO aktivitásában a kontrollhoz viszonyítva. Sóstressz hatására az AO aktivitása lecsökkent a kontroll és a SA előkezelt növényekben egyaránt, kivételt képez a 10^{-7} M SA előkezelés, amely növelte az AO aktivitását egy hét 100 mM NaCl kezelés után (22. ábra).



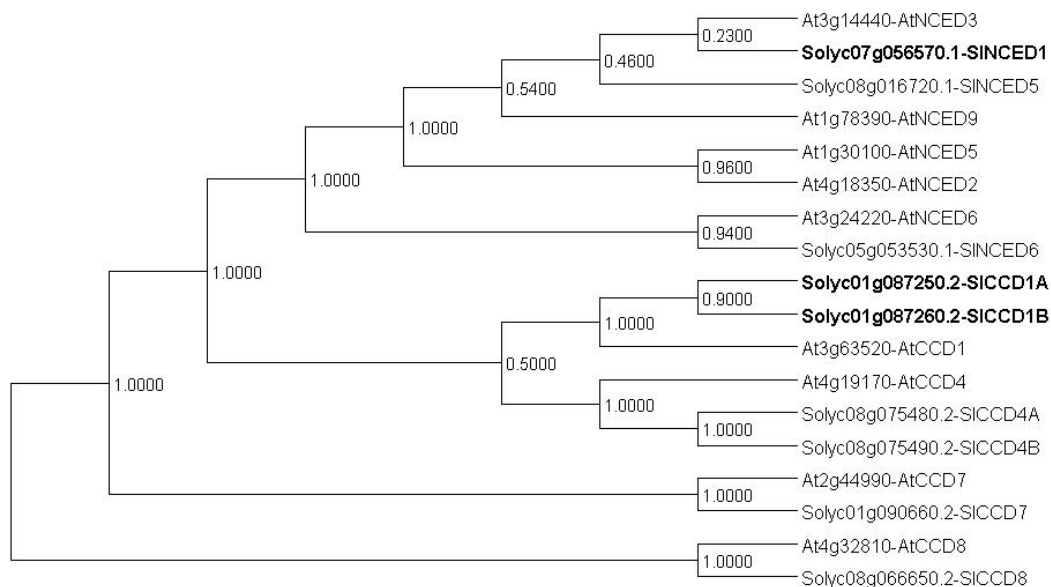
22. ábra: Három hét 10^{-7} M és 10^{-4} M SA előkezelés hatása paradicsom növények levelének és gyökerének AO1 aktivitására 1 hetes, 100 mM NaCl kezelést követően (átlag \pm SD, n=3). A diagramok a gélek AO1 sávjának számszerűsített adatait tartalmazzák. A keletkező színreakció kvantifikálását KODAK EDAS rendszer segítségével végeztük. A diagramok alatt a natív PAGE gélekről készült reprezentatív fotók láthatók. (- NaCl: nem sókezelt minták; + NaCl: 100 mM NaCl – dal kiváltott sóstressznek kitett növények). A különböző betűvel jelölt oszlopok szignifikánsan különböznek egymástól $P \leq 0,05$ valószínűségi szinten Duncan teszt alapján.

5.16 ABS bioszintézis gének expressziója SA előkezelés és sóstressz során paradicsom növények levelében és gyökerében

Létrehoztunk egy, a szekvenciák hasonlóságán alapuló családfát az ismert paradicsom és lúdfű 9-*cis*-epoxikarotinoid dioxigenázok (9-*cis*-epoxycarotenoid dioxygenase, NCED) és karotinoid hasító dioxigenázok (carotenoid cleavage dioxygenase, CCD) felhasználásával, hogy megvizsgáljuk a génszekvenciák kapcsolatát. Három paradicsom és 5 lúdfű NCED szekvencia található az SGN és TAIR adatbázisokban, amelyek közül a filogram alapján az SINCED1 (Solyc07g056570) aminosav szekvencia leginkább az AtNCED3 (At3g14440) szekvenciához hasonlít (23. ábra). A karotinoid hasító dioxigenázok (CCD-k) nagy hasonlóságot mutatnak az NCED szekvenciákkal, azonban önálló csoportot alkotnak a lúdfű

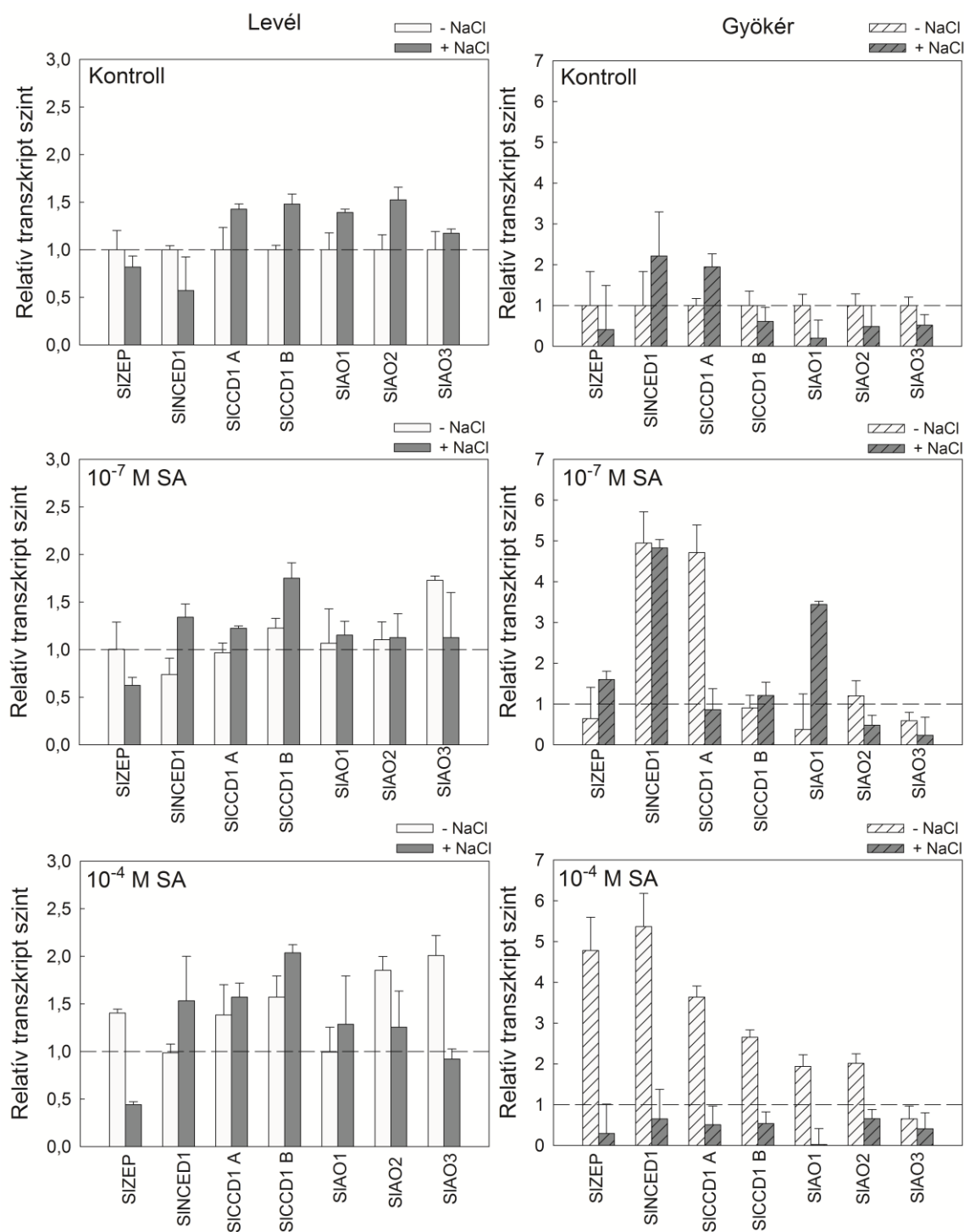
CCD-vel. Az SICCD1A és SICCD1B leginkább a lúdfű AtCCD1 aminosav szekvenciájával mutat hasonlóságot.

További vizsgálatok céljából az SINCED1, SICCD1A és SICCD1B szekvenciákat választottuk ki az irodalomban található adatok alapján és a paradicsom és lúdfű aminosav szekvenciák filogenetikai hasonlóságai alapján. Az *SINCED* és *SICCD1* gének mellett vizsgáltuk egy *SIZEP* és három *SIAO* (*SIAO1*, *SIAO2* és *SIAO3*) gén expresszióját is.



23. ábra: Rokonsági fa (filogram) a paradicsom és lúdfű ismert NCED és CCD szekvenciáiból. A rokonsági fán az SGN és TAIR adatbázisban található szekvenciák azonosítási számai láthatóak. A szekvenciákat az SGN és TAIR adatbázisokban fellelhető név alapján neveztük el és az ábrán félkövér betűvel jelöltük az általunk vizsgált gének nevét.

Az ABS bioszintézisében szerepet játszó gének a 4 hetes SA kezelés hatására koncentrációfüggő módon indukálódtak, és gyökérben sokkal nagyobb mértékű változásokat detektáltunk, mint levélben. Az ABS bioszintézisének első lépéséért felelős enzimet kódoló *SIZEP* gén expresszióját, a 10^{-4} M SA kezelés levélben csak kis mértékben, gyökérben viszont szignifikánsan indukálta. Sóstressz hatására a SA előkezelt és -kezeletlen mintákban is represszálódott az *SIZEP* gén (24. ábra).



24. ábra: Három hét 10^{-7} M és 10^{-4} M SA előkezelés hatása paradicsom növények levelének és gyökerének ABS bioszintézis gének transzkript szint változására 1 hetes, 100 mM NaCl kezelést követően (átlag \pm SD, n=3). (- NaCl: nem sókezelt minták; + NaCl: 100 mM NaCl – dal kiváltott sóstressznek kitett növények). A transzkript szint relatív egysége a hajtás vagy gyökér kontroll mintáiban mért relatív transzkript szint (=1), amelyet szaggatott vonal jelöl az ábrákon.

Az ABS bioszintézis kulcs enzimét kódoló *SINCE1* gén, expressziója gyökérben indukálódott mindkét SA előkezelés hatására, levélben kontroll szintű kifejeződést mutatott. Egy hét 100 mM NaCl kezelést követően az *SINCE1* gén expressziója levélben enyhe csökkenést, gyökérben pedig mintegy 2-szeres növekedést mutatott. A vizsgált SA koncentrációk különböző módon befolyásolták az *SINCE1* kifejeződését a sóstressz során. 10^{-7} M SA előkezelés hatására az egy hét sóstressz megemelte, 10^{-4} M SA viszont kontroll szintre csökkentette az *SINCE1* gén expresszióját.

Levélben a SA csak kismértékben hatott a *SICCD*-k expressziójára, de sokkal kifejezettebb változások voltak gyökérben. Az *SICCD1A* transzkripciós szintje gyökérben mindkét SA előkezelés hatására megemelkedett. 100 mM NaCl kismértékben indukálta expressziójukat a levélben, azonban gyökérben csökkent az átírásuk sóstressz során a SA előkezelések hatására (24. ábra).

Kísérleteink során három *SIAO* gén expresszióját tanulmányoztuk. Az SA előkezelés koncentrációfüggő módon változtatta az *SIAO* gének expresszióját. Levélben a 10^{-4} M SA előkezelés fokozta az *SIAO2* és *SIAO3* gének expresszióját, a 10^{-7} M SA előkezelés viszont nem idézett elő szignifikáns változást. Gyökérben a 10^{-4} M SA indukálta az *SIAO1* és *SIAO2* expresszióját, viszont az *SIAO3* nem mutatott indukciót. A sókezelés csökkentette a vizsgált *SIAO* gének expresszióját kontroll és SA előkezelt növényekben egyaránt, kivéve a *SIAO1* gént, amelynek mRNS szintje megemelkedett a 10^{-7} M SA előkezelt gyökerekben egy hét sókezelést követően (24. ábra).

6. Eredmények értékelése

6.1 A hosszútávú SA előkezelés hatása a lúdfű és paradicsom növények sóstressz akklimatizációjára

A SA-at, mint növényi hormont elsősorban a biotikus stressz során jelentkező védekezési mechanizmusok indukciójával kapcsolták össze, azonban egyre több bizonyíték halmozódott fel az elmúlt években arra vonatkozóan, hogy a SA az abiotikus stresszválaszt is képes szabályozni. A külsőleg alkalmazott SA, megfelelő koncentrációban számos módon hathat a növények fiziológiai folyamataira, köztük az antioxidánsok aktiválásával, ami hatékonyabb stressz toleranciához vezethet (Horváth és mtsai. 2007, Ashraf és mtsai. 2010). Annak érdekében, hogy a SA sóstressz elleni védekezésben betöltött szerepét jobban megérthessük, kísérleteinkben a hosszútávú „priming”-ra fókuszáltunk, amelyet hosszan tartó sóstressz (egy hét 100 mM NaCl) követett a növényekben.

Korábbi eredményeink azt mutatták, hogy paradicsom növényekben a hosszútávú SA előkezelés szignifikánsan javította az egy hétig tartó, magas sókoncentrációval (100 mM NaCl) szembeni toleranciát. A 10^{-4} M SA elősegítette az akklimatizáció folyamatát és enyhítette a másodlagosan alkalmazott sóstressz károsító hatását. A sóstressznek kitett paradicsom növények SA előkezelése megemelte az ABS szintjét, javította a növények vízmegtartó kapacitását és az ozmotikus adaptációját (Szepesi és mtsai. 2009). Jelen kísérleteinkben bizonyítottuk, hogy 10^{-7} M SA alkalmazása esetén csak az *SINCE1* gén transzkript szintje emelkedett meg, 10^{-4} M SA hatására viszont az ABS bioszintézis minden fontosabb lépése indukálódott (*SIZEP*, *SINCE1* és *SIAO*-k). Filogenetikai vizsgálatainkból kiderült, hogy az *SINCE1* hasonlóságot mutat az *AtNCED3* és *AtNCED9* szekvenciákkal, amelyek irodalmi adatok szerint szoros kapcsolatot mutattak a megemelkedett ABS akkumulációval *Arabidopsis* magokban (Lefebvre és mtsai. 2006, Kanno és mtsai. 2010). Az *LeNCED1* (jelenlegi nevén *SINCE1*) gén dohány növényekben történő túltermeltetése magasabb ABS szintet eredményezett, amely jobb védelmet biztosít szárazság stressz esetén (Tung és mtsai. 2008). Kísérleteinkben a SA előkezelés paradicsom gyökérben indukálta az *SINCE1* gént és ABS akkumulációt váltott ki, de csak a magasabb SA koncentráció, a 10^{-4} M előkezelés hatására emelkedett meg az ABS a növények levelében is (Szepesi és mtsai. 2009). Habár az NCED-t tartják az ABS bioszintézis legfontosabb szabályozó enzimének, a SA kezelés a ZEP és AO izoenzimeket is befolyásolta. Endo és mtsai. (2008) az ABS

bioszintézis szöveti lokalizációját derítették fel AtNCED3 és AtAO3 antitestek alkalmazásával, és azt találták, hogy a korai válaszban a gének indukciója a vaszkuláris parenchima sejtekre korlátozódott. Más közleményekhez hasonlóan (Gallé és mtsai. 2013), kísérleti rendszerünkben az ABS bioszintézis gének a SA előkezelés hatására jobban indukálódtak gyökérben, mint hajtásban, viszont az ABS akkumulációja magasabb volt a levelekben. Ennek hátterében a hatékonyabb transzport állhat.

A karotinoid hasító dioxigenáz funkcióval rendelkező aminosav szekvenciákból létrehozott törzsfán az SINCED-kel nagy hasonóságot mutató SICCD-k egy különálló csoportot alkotnak. A CCD-k és termékeik a fejlődésben, a növény és gomba kölcsönhatásban vesznek részt és a növényi illat- és ízanyagok összetevői között is szerepelnek (Camara és Bouvier 2004). A CCD-k ezen csoportja az olyan apokarotinoidok szintézisében játszik szerepet, mint a β -ciklocitrál, β -jonon, geraniál, teaspiron és damaszcenon (Auldridge és mtsai. 2006). Az SICCD1A és SICCD1B, amelyek a β -jonon, geranilaceton és pszeudojonon szintézisét katalizálják különböző karotinoid szubsztrátokból, hasonlóak az AtCCD1-hez (Simkin és mtsai. 2004). Ramel és mtsai. (2012) véleménye szerint az apokarotinoidok jelmolekulákként funkcionálhatnak a növényekben, így az *SICCD1* gének megemelkedett transzkript szintje olyan változásokat indukálhat a paradicsom növények előkezelése során, amelyek új, eddig még ismeretlen apokarotinoid-szabályozás alatt álló útvonalakat indukálnak.

Yasuda és mtsai. (2008) a BIT (1,2-benzisothiazol-3(2H)-one1,1-dioxide) kémiai elicítort alkalmazták, hogy SA jelátvitel indukálásával aktiválják a SAR-t. A BIT-indukált SA akkumuláció és -SA jelátvitel exogén ABS hozzáadásával lúdfű növényekben visszaszorítható volt. Emellett a BIT kezelés lecsökkentette a NaCl-indukált ABS bioszintézist, Az *ABAI* és *NCED3* expresszióját, de az *ABA2* és *AO3* génekét nem befolyásolta (Yasuda és mtsai. 2008). A 10^{-7} M SA koncentrációval ellentétben a 10^{-4} M SA - hasonlóan a BIT kezeléshez - megemelte a paradicsom növényekben az *SIZEP*, *SINCED1* és *SIAO1* gének transzkript mennyiségét. Habár magas sókoncentráció lecsökkentette a SA előkezelt mintákban a gének expresszióját gyökérben vagy gátolta az SIAO aktivitást, az ABS szintje a kontroll felett maradt, így azt feltételezhetjük, hogy az ABS lebontás mértéke is csökkent a „priming” során. (Szepesi és mtsai. 2009).

Lovelli és mtsai. (2012) paradicsom szövetekben közvetlen kapcsolatot találtak az ABS és a Na tartalom között. Korábbi kísérleteink során a SA előkezelés csökkentette a Na koncentrációt a gyökérben a sókezelt kontrollhoz képest, azonban a Na hajtásba történő

transzportja fokozódott. Az ABS szintje a levelekben ezzel egy időben kismértékben meghaladta a csak sókezelt növényekben mérhető (Szepesi és mtsai 2009). A növekedés és a fejlődés fenntartása sós környezetben az ozmotikus szabályozáshoz köthető, ami a kompatibilis ozmotikumok szintézisének vagy – egyes sótoleráns fajokban és halofitákban – a Na vakuólumban történő akkumulációján keresztül valósulhat meg (Munns 2002, Szepesi és mtsai. 2009). A SA előkezelést követően a paradicsom levelek halofita jelleget mutattak és több Na-ot tartalmaztak, mint a csak sókezelt kontroll levelek (Szepesi és mtsai 2009). A sótoleráns paradicsom fajtákban a rezisztencia alacsonyabb Na- és magasabb K akkumulációval, a levelekben nagyobb szacharóz, karotinoid és redukált tiol felhalmozódással és alacsonyabb oxidatív károsodással jellemezhető (Juan és mtsai. 2005). Ezek a növények sós környezetben képesek a magasabb biomassza produkcióra. A megemelkedett gyökérnövekedéssel és magasabb gyökér biomasszával jellemezhető paradicsom pedig jobb toleranciát mutatott magas koncentrációjú sóstressz alatt (Lovelli és mtsai. 2012). A 10^{-7} M SA-val előkezelt paradicsom növényekkel ellentétben, a „priming” hatással rendelkező 10^{-4} M SA kezelés elősegítette a gyökérnövekedést sóstressz során. A paradicsom növényekben tapasztaltakhoz hasonlóan, a 10^{-5} M SA előkezelt lúdfű növények magasabb K/Na arányt tartottak fenn sóstressz során a gyökérükben és nagyobb gyökér- és hajtás friss tömeggel, hajtás rozetta átmérővel rendelkeztek a sókezelt kontrollhoz képest, a levélben mért megemelkedett Na tartalom mellett.

A NaCl stressz hatására a ROS szintje megnő, ami károsító hatása mellett a jelátvitelben is fontos szerepet tölthet be, ezért az antioxidáns mechanizmusok a ROS szintjének szabályozásán keresztül kulcsszerepet játszanak a növények sótoleranciájában (Munns és Tester 2008). Eredményeinket összevetve megállapíthatjuk, hogy a 100 mM NaCl kezelés megemelte a H_2O_2 tartalmat a paradicsom és a lúdfű levelében is, a gyökerében viszont ellentétes változásokat idézett elő, paradicsomban csökkentette, lúdfűben növelte a H_2O_2 tartalmat. Ezzel párhuzamosan az MDA akkumulációját figyeltük meg lúdfű növények levelében és gyökerében. A SOD, KAT és POD enzimek aktivitása nőtt a sóstressznek kitett lúdfű növények gyökerében, levelükben viszont vagy lecsökkent, vagy kontroll szinten maradt az aktivitásuk. Egy hét 100 mM NaCl kezelés a 8 hetes paradicsom és lúdfű növényekben megemelte a GST aktivitását, a GPOX aktivitás viszont paradicsom növényekben nőtt, lúdfűben pedig szignifikánsan lecsökkent sóstressz hatására mindkét

vizsgált szervben. Az antioxidáns enzimek aktivitásának növekedése azonban nem akadályozta meg a ROS és lipidperoxidok akkumulációját egyik vizsgált fajban sem.

A külsőleg alkalmazott SA-ról korábban már kimutatták, hogy koncentrációtól és növényfajtól függően fejti ki hatását (Rivas-San Vicente és Plasencia 2011). Paradicsom növények hosszútávú SA kezelése megakadályozta a magas sókoncentráció hatására bekövetkező fotoszintetikus paraméterek csökkenését (Poór és mtsai. 2011), csökkentette a ROS, a nitrogén monoxid és a MDA tartalmat (Szepesi és mtsai. 2008, Gémes és mtsai. 2011) és megemelte egyes antioxidánsok aktivitását (Szepesi és mtsai. 2005, Tari és mtsai 2015). A ROS akkumulációt az antioxidáns rendszer szabályozza, amely gyakran indukálódik stressz hatására (Gill és Tuteja 2010). A SA előkezelés a magasabb (paradicsomban 10^{-4} M, lúdfűben 10^{-5} M) koncentrációban alkalmazva mindkét vizsgált fajban csökkentette sóstressz során a H_2O_2 szintjében bekövetkező változásokat. A több héten át tartó SA kezelés önmagában általában nem befolyásolta a SOD és POD aktivitásokat, kivéve a 10^{-6} és 10^{-5} M SA előkezeléseket, amelyek megemelték a SOD és POD aktivitását. A sóstressz lúdfűben megemelte a POD aktivitását a 10^{-7} - 10^{-5} M SA előkezelt növények gyökerében. Ehhez hasonló eredményt kaptak Noreen és mtsai. (2009) napraforgó növényekben, ahol a SA enyhítette a 120 mM NaCl kezelés növekedésgátló hatását, főként a POD aktivitás növelésével. A peroxidázok különböző biotikus és abiotikus stresszválaszokban érintettek, többek között a patogének elleni védekezésben, nehézfém-, hideg-, szárazság- és sóstressz válaszbán (De Gara 2004, Cosio és mtsai. 2009, Csiszár és mtsai. 2012). Ezek az enzimek a H_2O_2 redukcióját katalizálják különböző donorokról származó elektronok felhasználásával (Passardi és mtsai. 2004). Lúdfűben tehát a hosszútávú SA-indukált sóstressz akklimatizációt legalább részben magyarázhatjuk a POD aktivitás emelkedésével. A DHAR aktivitása a sókezelést követően a 10^{-4} M SA-val előkezelt növények gyökerében kontroll szinten maradt, viszont a 10^{-7} M SA kezelés lecsökkentette, ami azt sugallja, hogy a 10^{-4} M SA előkezelés hatékonyabb a „priming” kialakításában a 10^{-7} M SA kezeléshez képest paradicsom növényekben (Gémes és mtsai. 2011). Emellett, a magasabb GST és GPOX aktivitás a SA előkezelt növényekben arra utal, hogy a GST-k aktiválása a „priming” hatás fontos részét képezi és hozzájárulhat a növények megemelkedett rezisztenciájához a hosszútávú válaszbán. A GST-k a sóstressz során fellépő oxidatív károsodás elleni védelemben játszanak szerepet azáltal, hogy megakadályozzák a szerves hidroperoxidok citotoxikus aldehidekké történő alakulását (Zhang és mtsai. 2012).

A GST és GPOX aktivitásának háttérében álló folyamatok jobb megismerése érdekében megvizsgáltuk a SA előkezelt és sóstressznek kitett paradicsom és lúdfű növényekben néhány kiválasztott GST gén expresszióját QRT-PCR módszerrel. A GST enzimes család paradicsomban 81 tagból áll, amelyek közül 78 tartozik a 6 szolubilis csoport valamelyikébe. Olyan *SIGST* géneket választottunk ki további vizsgálat céljából, amelyek nagy hasonlóságot mutatnak a CDNB és CHP szubsztrátokkal szemben magas affinitással rendelkező lúdfű GST-vel (Dixon és mtsai. 2009). A vizsgált *SIGST* gének expressziója eltérő volt a levélben és a gyökérben, emellett a SA előkezelés koncentráció-függő módon hatott a GST-k expressziójára. A 10^{-7} M SA kezelés hatására levélben egyedül az *SIGSTF4* gén indukálódott, a magasabb, 10^{-4} M SA koncentráció viszont megemelte az *SIGSTF4* és *SIGSTU26* mRNS szintjét. Gyökérben mindkét SA koncentráció hatására nőtt az *SIGSTF4*, *SIGSTU23*, *SIGSTU26*, *SIGSTZ2*, *SIGSTT2*, *SIDHAR5* és *SIGSTL3* gének transzkript szintje, 10^{-4} M SA előkezelés azonban nagyobb mértékben növelte a gének átírását. Mivel paradicsom levelében és gyökérében egyaránt a phi és tau csoportba tartozó GST-k is megemelkedett SA-választ mutattak, lúdfűben az ebbe a csoportba tartozó géneket választottunk ki további vizsgálatra. Érdekes módon az *AtGSTF8* gén, amiben az *in silico* promóter régió vizsgálatokban több SA-kapcsolódó elemet is találtunk (*TCA-elem* és *TGACG-motívum*), hosszútávú SA kezelés hatására represszáldott, nem úgy mint a paradicsomban található ortológja, az *SIGSTF4* (4. táblázat). Az *SIGSTF4* promóterében szintén jelen voltak a SA-ható elemek egy-egy kópiában, a *TC-gazdag ismétlődések* és *MBS* elem viszont több kópiában. Lúdfű növényekben az *AtGSTU24* és az *AtGSTU19* gének, amelyeknek a promóter régiójában szintén megtalálhatóak voltak az abiotikus stresszválasz elemek, a *TC-gazdag ismétlődések* és *MBS* elem és mellette a SA-ható elem *TGACG-motívum* is, indukciót mutattak. A különböző gének 5' szabályozó régiójában található főbb abiotikus stressz- illetve hormonválaszért felelős *cis*-ható elemek számát, elhelyezkedését tekintve nem találtunk egyértelmű összefüggést azok megléte, száma illetve a megfigyelt expressziós változások között (4. táblázat). Eredményeink azt mutatják, hogy az egyes GST izoenzimek mind fajon belül, mind az ortológokat tekintve igen összetett, egyedi szabályozás alatt állnak. Mivel azonban a nukleotid motívumok nemcsak a promóter régióban, hanem az egész genomban szétszórtan helyezkedhetnek el, feltételezett szabályozó funkciójuk igazolására további kísérletek szükségesek.

4. táblázat: A kiválasztott GST gének 1,5 kbp 5' promóter régiójában található fontosabb hormon- és stressz-indukálható elemek. Plusz (+) jel jelöli az adott *cisz*-ható elem meglétét és számát a szabályozó régióban.

A gén neve	Cisz-ható elem megnevezése						
	TCA-elem	TGACG-motívum	ABRE	ERE	TC-gazd. ismétlődések	MBS	MBSII
<i>AtGSTF8</i>	+++	+++++	+		+	+	
<i>AtGSTF9</i>	+++	++	++		+		
<i>SIGSTF4</i>	+	+	++		+++	+++	
<i>SIGSTF5</i>	+		++		++	+	+
<i>AtGSTU19</i>		++++			+++	++++	
<i>AtGSTU24</i>		+			+++	+++	
<i>AtGSTU25</i>	+	+++			+		
<i>SIGSTU6</i>	++				++++		
<i>SIGSTU23</i>		++	++	+++	++	+	
<i>SIGSTU24</i>		++	++	+	+++	+	
<i>SIGSTU26</i>	+	+			+		+
<i>SIGSTZ2</i>	++			++	++		
<i>SIGSTT2</i>	++		+	+		++	
<i>SIDHAR2</i>					+		
<i>SIDHAR5</i>					+	+	
<i>SIGSTL3</i>		+	+		++	+	

Az *SIGSTU23* és *SIGSTU26* expressziója levélben megemelkedett a sókezelés hatására. A „priming”-ot követően sóstressz hatására a levelekben az *SIGSTU23* expressziója csökkent, de az *SIGSTU26* aktivációja pótolhatta ezt a csökkenést. Lúdfűben sóstressz hatására szintén indukálódott a tau csoportba tartozó *AtGSTU19* és *AtGSTU24* gének expressziója. Ezt az indukciót a 10^{-7} M SA előkezelés tovább fokozta, a 10^{-5} M SA előkezelés azonban lecsökkentette azt. A tau csoportú GST-k GSH-konjugáló aktivitással rendelkeznek különféle xenobiotikumokkal szemben rizsben (Yang és mtsai. 2009) és nyárfában (Lan és mtsai. 2009), így valószínűleg részt vesznek a mérgező anyagcseretermékek GSH-konjugációjában a paradicsom és lúdfű levelében is sóstressz alatt. Az eredményeink arra utalnak, hogy a GST aktivitásban mért változások a SA előkezelt lúdfű növényekben legalább részben az *AtGSTU19* és *AtGSTU24* gének különböző transzkripciók aktiválásával függ össze.

Amíg a lúdfű gyökerében a tau csoportú GST-k indukciója volt megfigyelhető, addig a paradicsom gyökerében az *SIGSTT2*, *SIGSTZ2*, *SIGSTL3* és *SIDHAR5* gének expressziója emelkedett meg a sóstressz során.

Ezek a GST-k expressziós mintázatában bekövetkező változások tűnnek leginkább jellemzőnek a SA „priming”-ra paradicsomban. Az alacsony SA-val szemben, a magas SA koncentrációval történő „priming” fenntartotta a sóstresszelt növényekéhez hasonló *SIGSTZ2*,

SIGSTT2, *SIGSTL3* és *SIDHAR5* génexpressziót, ami alapján arra következtethetünk, hogy ezek a GST-k fontos szerepet játszanak a paradicsom növények sóstressz akklimatizációjában. A zéta, théta és DHAR csoportba tartozó *SIGST*-k expressziójának aktiválódása egy hét sókezelés után csak a gyökérben volt megfigyelhető, ami arra utal, hogy az általuk katalizált kémiai reakciók a gyökérben fontosak a sóstressz során. A théta csoportba tartozó enzimek magas GPOX aktivitással rendelkeznek, ezért az *SIGSTT2* kifejeződésében tapasztalt növekedés, ami az *AtGSTT1* homológja, hozzájárulhat a GSH függő lipid hidroperoxidok eliminálásához a peroxiszómákban (Dixon és Edwards 2010).

Összegezve, eredményeink arra utalnak, hogy a GST-k fontos résztvevői a változó környezeti jelekhez történő alkalmazkodásnak. A módosult *GST* expressziós szintek és a GST izoenzimek megnövekedett vagy gátolt aktivitása, amelyek különféle feladatot látnak el, aktív részesei a hosszabb távú stressz válasznak, így a SA hatására kialakuló „priming”-ban is szerepet játszanak és javíthatják a sótoleranciát paradicsom növényekben.

6.2 GST mutáció hatása *Arabidopsis thaliana* rövidtávú sóstressz válaszára

A GST-k szerepét a detoxifikáló mechanizmusok során már több közleményben leírták (Bray 2002, DeRidder és mtsai. 2002, Ndimba és mtsai. 2005, Sarry és mtsai. 2006), de az egyes GST-k pontos szerepéről a fejlődésben és stressz elleni védekezésben kevesebb információ áll rendelkezésünkre. Az *AtGSTF9* más GST-k mellett, mint az *AtGSTF2*, *AtGSTF6/7*, *AtGSTF10*, *AtDHAR1*, *AtDHAR3*, *AtGSTU5* és *AtGSTU19*, nagy mennyiségben jelen van a kontroll növények hajtásában és a sejt kultúrában is (Sappl és mtsai. 2004). Hosszútávú kísérleteinkben azt tapasztaltuk, hogy az *AtGSTU19* és az *AtGSTF9* gének expressziója eltérő módon változott az alkalmazott só- és SA kezelések hatására. Ezért rövidtávú só- és SA kezelés során vizsgáltuk az *AtGSTU19* és az *AtGSTF9* gének mutációjának hatását a csíranövényekben mérhető GST aktivitásra és az életképességre. Ezen felül 2 hét 150 mM NaCl vagy 10^{-5} M SA kezelés hatására mértük a csíranövények gyökérnövekedését.

Az *AtGSTF9* amellet, hogy részt vesz a virág kialakításában (Chua és mtsai. 2010) és a gyökér mozgásának szabályozásában (Schafer és Buettner 2001), részt vesz az alacsony koncentrációjú Cd kezelés során a ROS detoxifikálásában és ezáltal az oxidatív stresszválasz kialakításában (Semane és mtsai. 2010). Vizsgálataink során megállapítottuk, hogy a két hetes *Atgstf9* mutáns növények gyökere szignifikánsan rövidebb kontroll körülmények között,

azonban a 150 mM NaCl vagy 10^{-5} M SA kezelés csak kisebb eltérést okozott a vad típushoz képest. Az eredmények arra utalnak, hogy a csíranövények gyökérnövekedésében kontroll körülmények között és NaCl- vagy SA kezelés alatt is szerepet játszik az AtGSTF9. A só- és SA kezelés hatására megemelkedett GST aktivitás az *Atgstf9* mutánsban a GST-k magas fokú redundanciájával magyarázható, ami más GST izoenzimek aktiválódásával a GSH-konjugáló aktivitás növekedéséhez vezethetett a mutánsokban (pl. a hosszútávú kísérletekben az *AtGSTU19* és *AtGSTU24* gének indukcióját figyelhettük meg SA előkezelés és sóstressz hatására is). A növények életképessége SA kezelés során a vad típusúéhoz hasonló volt viszont sóstressz során nagyobb csökkenést figyeltünk meg a mutánsokban mint a vad típusban, ami arra utal, hogy az AtGSTF9 a sóstressz során játszik fontosabb szerepet.

Az AtGSTF9 mellett az AtGSTU19 is azok a GST-k közé tartozik, amelyek indukcióját számos fejlődési és stresszfolyamat során leírták lúdfűben. Az *AtGSTU19* gén fontos szerepet játszik a patogének elleni védekezésben (Cartieaux és mtsai. 2008), szénésztercencia folyamatában (Gepstein és mtsai. 2003), vízhiányos állapot során (Bray 2002), de szerepet játszhat a hajtás fejlődésében (Che és mtsai. 2002), sejtciklus szabályozásában (Menges és mtsai. 2002) és a járulékos gyökérfejlődésben (Sorin és mtsai. 2006). Az *Atgstu19* mutánsokban kontroll körülmények között alacsonyabb GST aktivitást mértünk, ami só- és SA kezelés hatására sem emelkedett meg, ellentétben a vad típusú lúdfű növényekkel. Ez az eredmény arra utal, hogy az AtGSTU19 gén jelentős részét adja a CDNB szubsztráttal szemben mérhető GST aktivitásnak. Az AtGSTU19 RNS és protein szintjének indukcióját kimutatták herbicidek és herbicid antidótumok hatására (benoxacor, fenclorim, fluxofenim) (DeRidder és mtsai. 2002). AtGSTU19::GFP transzgénikus lúdfű vonalban kimutatták, hogy benoxacor alkalmazása során a csíranövény minden szervében indukálódik az AtGSTU19, de leginkább gyökérben nő meg az expressziója (DeRidder és Goldsbrough 2006). Az abiotikus stressz során gyakran másodlagos stresszhatásként jelentkező oxidatív stressz következtében megemelkedik a sejtekben a lipidperoxidáció. Az AtGSTU19 indukciója a herbicidek hatására a detoxifikáló folyamatokban játszott szerepére utal. Ezt az eredményt erősíti az AtGSTU19 protein indukciója só-, ozmotikus-, hő- és Cd stressz során (Ndimba és mtsai. 2005, Sarry és mtsai. 2006, Lee és mtsai. 2009). Detoxifikációban betöltött szerepe magyarázhatja az *Atgstu19* mutánsokban megfigyelt nagyobb mértékű életképesség csökkenést a vad típushoz viszonyítva rövid távú só- és SA kezelések hatására. Emellett az *Atgstu19* mutánsok két hetes só- és SA kezelés hatására szignifikánsan alacsonyabb gyökérhosszal rendelkeztek a vad

típushoz képest, ami a hidropónikus kísérleteink eredményeihez hasonlóan az AtGSTU19 hosszabb távú stresszválaszban betöltött szerepére utal.

7. Összefoglalás

Kísérleteink során a lúdfű és paradicsom növények SA előkezelést követő sóstressz akklimatizációban résztvevő egyes elemeit vizsgáltuk és a következő főbb megfigyeléseket tettük:

Arabidopsis thaliana L. növényen végzett hosszútávú kísérletekben:

1. A széles koncentráció tartományban alkalmazott SA (10^{-9} - 10^{-5} M) a szakirodalomnak megfelelően koncentrációfüggő módon hatottak a lúdfű növények hajtás és gyökérnövekedésére. Minden SA koncentráció serkentette a hajtás növekedését, sóstressz során pedig a magasabb koncentrációjú, 10^{-6} és 10^{-5} M SA-val történő előkezelések bizonyultak leghatékonyabbnak a növekedésgátlás kivédésében. A SA kezelések befolyásolták a Na és K elemtartalmakat levélben és gyökérben, és elősegítették a később alkalmazott sóstressz esetén a K felvételét, gyökérben csökkentették a Na akkumulációt, levélben viszont a Na akkumulálódását serkentették. 10^{-6} és 10^{-5} M SA kezelés hatására nőtt a K/Na arány a gyökerekben, ami hozzájárulhatott a növekedés fenntartásához. Emellett a SA előkezelés csökkentette a H_2O_2 és MDA akkumulációt lúdfűben. „Priming” hatása a 10^{-5} M SA koncentrációnak volt, amely segített megőrizni a növények növekedését sóstressz során, ami kulcsfontosságú szerepet tölt be a sikerebb akklimatizációban.
2. Az antioxidáns enzimek működésével kapcsolatban megállapítható, hogy a KAT aktivitás gyökérben és levélben egyaránt csökkent, a SOD aktivitása a kontrollhoz hasonló szinten tartották, és a POD aktivitását gyökérben a 10^{-6} és 10^{-5} M SA kezelések megemelték. A különböző SA koncentrációk eltérő módon hatottak a sóstresszre adott antioxidáns válaszra. A 10^{-6} és 10^{-5} M SA előkezelés sókezelés hatására még inkább megemelte a POD aktivitását gyökérben, levélben pedig nőtt a SOD aktivitása. Eredményeink arra utalnak, hogy a magasabb POD és/vagy SOD aktivitás a SA előkezelt növényekben hozzájárult a megemelkedett sóstressz akklimatizációhoz, főként a 10^{-6} és 10^{-5} M SA előkezelt lúdfű növényekben.
3. A SA előkezelések koncentrációfüggő módon megemelték a GST és GPOX aktivitást lúdfűben, és 10^{-5} M SA alkalmazása elősegítette sóstressz során a GST és GPOX

aktivitások további emelkedését, ellentétben az előkezelés nélkül alkalmazott sókezelés hatásával, ahol a GPOX aktivitása csökkent. A további vizsgálatokra kiválasztott *AtGSTU19* és *AtGSTU24* gének transzkript szintjének emelkedése legalább részben eredményezhette a GST és GPOX aktivitásokban tapasztalt indukciót.

Arabidopsis thaliana L. GST mutáns növényeken végzett rövid távú kísérletekben:

4. Az *Arabidopsis* inszerciós mutáns csíranövényeken alkalmazott sóstressz és SA kezelés során a GST aktivitásban és a gyökérnövekedésben megfigyelhető különbségek arra utalnak, hogy mindkét *AtGST* szerepet játszik a magas só- és SA koncentrációk által indukált folyamatokban. A gyökérnövekedésben mért csökkenés a mutánsokban az *AtGSTU19* és *AtGSTF9* izoenzimek a sóstressz válaszbán betöltött pozitív szerepére utalnak, feltehetően azért, hogy szabályozzák a detoxifikáló folyamatokat és ezzel a sejtek homeosztázisának fenntartását segítik elő, és végső soron elősegítik a növények növekedését.

Solanum lycopersicum Mill. L. cvar. Rio Fuego növényeken végzett kísérletekben:

5. A SA „priming” a paradicsom növényekben is megemelte a GST és GPOX aktivitását a sóstressz után. Az *SIGSTF4* és *SLGSTU26* expressziója a levélben, az *SIGSTT2*, *SIGSTZ2* és *SIGSTL3* kifejeződése a gyökérben emelkedett meg, így elképzelhető, hogy ezen gének termékei hozzájárulhattak a magasabb GST és GPOX aktivitásokhoz és fontosak a megnövekedett stressztolerancia kialakításában.
6. Az ABS szintjében korábban megfigyelt változások részben magyarázhatóak az AO aktivitásában és az ABS bioszintézis gének kifejeződésében tapasztalt különbségekkel. Az előkezelések során a SA indukálta az ABS bioszintézis gének expresszióját, főként a gyökérben, azonban csak a 10^{-4} M SA koncentráció indukálta a hormon levélben történő akkumulációját. A sóstressz után megfigyelhető ABS bioszintézis gének repressziója és az AO aktivitás gátlása a 10^{-4} M SA előkezelt mintákban nem akadályozta meg az ABS kontroll szint felett tartását (Szepesi és mtsai. 2009). Ezek alapján feltételezzük, hogy a „priming” hatására az ABS lebontás is gátlódik. Azt a

következtetést vonhatjuk le, hogy a paradicsom növények SA-val kiváltott „priming”-ja összetett folyamat, ami az ABS akkumuláció szabályozásán túl más SA- és ABS jelátvitel függő folyamatokat is magába foglalhat.

7. Bár a két növényfaj növekedésére a „priming”-ot kiváltó SA előkezelés különbözően hatott (paradicsomban a 10^{-4} M csökkentette, lúdfüben a 10^{-5} M SA koncentráció fokozta), a sóstressz során mindkét fajra a nagyobb gyökér- és hajtáshossz volt jellemző, ami legalább részben a hasonló Na- és K elemtartalombeli változásoknak tudható be (a paradicsomban mért K és Na tartalmak Szepesi és mtsai. 2009-es cikkében szerepelnek). Az előkezelések a paradicsomban leírtakhoz (Gémes és mtsai. 2011) hasonlóan csökkentették a H_2O_2 és MDA akkumulációt lúdfüben is. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a SA-szabályozása alatt álló akklimatizáció a ROS- és peroxid detoxifikáló enzimek aktivitásának szabályozásán keresztül képes a sóstressz okozta oxidatív károsodás csökkentésére. Ebben a folyamatban az antioxidáns enzimek és a GST-k is fontos szerepet töltenek be paradicsomban (Tari és mtsai. 2015, Szepesi és mtsai. 2008) és lúdfüben egyaránt. Mindkét növényfajban megemelkedett a GST és GPOX enzimek aktivitása és specifikus mintázatot mutatott a GST gének transzkript szintje a „priming”-ot követő sóstressz után. Mindkét fajban azonosítottunk olyan GST géneket, amelyek indukciót mutattak „priming” során, így arra következtethetünk, hogy az enzimaktivitásokban mért változások egy része nagy valószínűséggel a kulcsfontosságú detoxifikáló enzimek génexpressziójának változásával magyarázhatók.
8. A GST gének 5' promóter régiójának *cis*-ható elemeit vizsgálva megállapíthatjuk, hogy a génexpresszió komplex szabályozás alatt áll és egyértelmű összefüggést bizonyos elemek előfordulása és az expresszió szabályozása között nem találtunk. Az ortológ szekvenciák promóter régiójának szabályozó elemei nagyon eltérőek lehetnek, így a gének hasonlósága alapján nem lehet általános következtetéseket levonni a különböző növényfajokban megfigyelhető expressziós mintázat alakulására vonatkozóan.

8. Summary

In our experiments we studied certain components of *Arabidopsis* and tomato plants which took part in salt stress acclimation following salicylic acid (SA) pre-treatment and based on our results we can summarise:

In *Arabidopsis thaliana* L. plants during the long-term experiments we found:

1. A wide range of SA concentrations (10^{-9} - 10^{-5} M), similarly to data in the literature, affected the shoot and root growth of *Arabidopsis* plants on a concentration dependent manner. SA stimulated the growth of shoots, and pre-treatment with higher (10^{-6} and 10^{-5} M SA) concentrations proved to be effective in preventing the growth inhibition under salt conditions. SA treatments affected the content of Na and K elements in leaves and roots, and during salt stress SA pre-treatment facilitated the uptake of K, reduced the Na accumulation of roots, however it induced the Na accumulation in leaves. The 10^{-6} and 10^{-5} M SA elevated the K/Na ratio in roots which could contribute to root growth. Furthermore, the SA pre-treatment reduced the H_2O_2 and malondialdehyde (MDA) contents in *Arabidopsis*. As a result, the 10^{-5} M SA pre-treatment was able to induce priming and it improved the growth of plants during salt stress which plays a key role in successful acclimation.
2. We found that the antioxidant catalase (CAT) enzyme activity decreased in roots and leaves, superoxide dismutase (SOD) activity was on control level and guaiacol peroxidase (POD) activity increased in roots of 10^{-6} and 10^{-5} M SA treated plants. SA concentrations affected the response of antioxidant enzymes during salt stress in different ways. Salt treatment enhanced the POD activity in the roots and induced the SOD activity in leaves of 10^{-6} and 10^{-5} M SA pre-treated plants. Our results indicate that the higher POD and/or SOD activities in SA pre-treated plants are part of the increased salt acclimation, in 10^{-6} and 10^{-5} M SA pre-treated *Arabidopsis* plants.
3. SA induced the glutathione transferase (GST) and glutathione peroxidase (GPOX) activities in *Arabidopsis* plants, and 10^{-5} M SA promoted the further elevation of GST and GPOX activities in contrast to salt stress which decreased the GPOX activity. The

induction of GST and GPOX activities could be at least partially the results of the induced expression of *AtGSTU19* and *AtGSTU24* genes.

Results of short-term experiments of GST mutant *Arabidopsis thaliana* L. plants:

4. Salt- and SA treatment of *Arabidopsis* GST-insertional mutant seedlings induced changes in the GST activities and root growth from which we may assume that both of the investigated AtGSTs play a role in response to high salinity- and SA. The reduction of root growth in the mutants refers to the positive role of AtGSTU19 and AtGSTF9 isoenzymes in the salt stress response, probably through the regulation of detoxifying processes and this way favours the maintenance of cell homeostasis and the growth of plants.

The main results of the experiments carried out on *Solanum lycopersicum* Mill. L. cvar. Rio Fuego plants:

5. Priming with 10^{-4} M SA pre-treatment of tomato plants also induced the GST and GPOX activities after one week of salt stress. The expression of *SIGSTF4* and *SIGSTU26* genes in leaves and the transcript level of *SIGSTT2*, *SIGSTZ2* and *SIGSTL3* genes in roots increased, thus these genes could contribute to the elevated GST and GPOX activities and may be important in the induction of elevated salt tolerance.
6. The changes detected in the levels of abscisic acid (ABA) could be explained by the different result of the different aldehyde oxidase (AO) activities and the changes detected in the expression of ABA biosynthesis genes. SA induced the ABA biosynthesis gene expression during the pre-treatment period, mainly in roots, but only the 10^{-4} M SA concentration induced the accumulation of ABA in leaves. Although ABA biosynthetic genes were down-regulated or the AO activity was inhibited in 10^{-4} M SA pre-treated plants under salt stress, the ABA level was kept over the untreated control (Szepesi et al. 2009). These results suggest a reduced ABA degradation in hardened plants. It can be concluded that priming of tomato with SA against salt stress injury is a complex phenomenon, which along with fine tuning of the accumulation of ABA comprises other SA- and ABA signalling-dependent processes.

7. Although the SA-induced priming affected differently the growth of the two investigated plant species (in tomato the 10^{-4} M SA decreased, in *Arabidopsis* 10^{-5} M SA concentration enhanced it), during salt stress both species had longer roots and shoots, which could be explained at least partially with the similar changes detected in the Na and K contents (the K and Na contents of tomato was published earlier in Szepesi et al. 2009). The pre-treatments reduced the accumulation of H_2O_2 and MDA in *Arabidopsis*, similarly to that of detected in tomato (Gémes et al. 2011). These results suggest that SA-mediated acclimation can reduce oxidative damage caused by salt stress through modulating activities of some of the key ROS- and peroxide detoxifying enzymes. In this process the antioxidant enzymes and the GSTs play important role both in tomato (Szepesi et al. 2009, Tari et al. 2015) and in *Arabidopsis*. After the priming, the GST and GPOX activities increased in both plant species and the *GST* gene transcript levels had a specific pattern during the subsequent salt stress. *GST* genes with induced expression during the priming were identified both in tomato and *Arabidopsis*, thus it could be concluded that at least some of the alterations in enzyme activities are derived from modulation of transcriptional control of key detoxification genes.
8. The investigation of 5' promoter region of GST genes revealed that the gene expression is under complex regulation, and clear correlations between the presence of certain elements and the regulation of the expression were not found. The regulatory elements of promoter region of ortholog sequences can easily vary, thus the similarities of the genes are not sufficient to make a general conclusion about the pattern of gene expression in different plant species.

9. Felhasznált irodalom

- Abogadallah GM (2010) Antioxidative defense under salt stress. *Plant Signaling and Behavior* 5: 369-374.
- Agarwal S, Sairam RK, Srivastava GC, Meena R C (2005a) Changes in antioxidant enzymes activity and oxidative stress by abscisic acid and salicylic acid in wheat genotypes. *Biologia Plantarum* 49: 541-550.
- Agarwal S, Sairam RK, Srivastava GC, Tyagi A, Meena RC (2005b) Role of ABA, salicylic acid, calcium and hydrogen peroxide on antioxidant enzymes induction in wheat seedlings. *Plant Science* 169: 559-570.
- Ahmad P, Jaleel CA, Salem MA, Nabi G, Sharma S (2010) Roles of enzymatic and nonenzymatic antioxidants in plants during abiotic stress. *Critical Reviews in Biotechnology* 30: 161-175.
- Ahmad AI, Khaliq T, Ahmad A, Basra SMA, Hasnain Z, Ali A (2012) Effect of seed priming with ascorbic acid, salicylic acid and hydrogen peroxide on emergence, vigor and antioxidant activities of maize. *African Journal of Biotechnology* 11: 1127-1132.
- Ahrazem O, Rubio-Moraga A, Trapero A, Gómez-Gómez L (2012) Developmental and stress-regulation of gene expression for a 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase, CstNCED, isolated from *Crocus sativus* stigmas. *Journal of Experimental Botany* 63: 681-694.
- Ananieva EA, Christov KN, Popova LP (2004) Exogenous treatment with salicylic acid leads to increased antioxidant capacity in leaves of barley plants exposed to paraquat. *Journal of Plant Physiology* 161: 319-328.
- Alonso-Ramírez A, Rodríguez D, Reyes D, Jiménez JA, Nicolás G, López-Climent M, Gómez-Cadenas A, Nicolás C (2009) Evidence for a role of gibberellins in salicylic acid-modulated early plant responses to abiotic stress in *Arabidopsis* seeds. *Plant Physiology* 150: 1335-1344.
- Asensi-Fabado MA, Munné-Bosch S (2011) The aba3-1 mutant of *Arabidopsis thaliana* withstands moderate doses of salt stress by modulating leaf growth and salicylic acid levels. *Journal of Plant Growth Regulation* 30: 456-466.
- Ashraf M, Akram NA, Arteca RN and Foolad MR (2010) The physiological, biochemical and molecular roles of brassinosteroids and salicylic acid in plant processes and salt tolerance. *Critical Reviews in Plant Sciences* 29: 162-190.
- Auldrige ME, McCarty DR, Klee HJ (2006) Plant carotenoid cleavage oxygenases and their apocarotenoid products. *Current Opinion in Plant Biology* 9:315-321.
- de Azevedo Neto AD, Prisco JT, Enéas-Filho J, de Abreu CEB, Gomes-Filho E (2006) Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes. *Environmental and Experimental Botany* 56: 87-94.
- Awasthi YC, Beutler E, Srivastava SK (1975) Purification and properties of human erythrocyte glutathione peroxidase. *Journal of Biological Chemistry* 250: 5144-5149

- Bandurska H, Stroiński A (2005) The effect of salicylic acid on barley response to water deficit. *Acta Physiologiae Plantarum* 27: 379-38.
- Barrero JM, Rodriguez PL, Quesada V, Piqueras P, Ponce MR, Micul J L (2006) Both abscisic acid (ABA)-dependent and ABA-independent pathway govern the induction of *NCED3*, *AAO3* and *ABA1* in response to salt stress. *Plant Cell and Environment* 29: 2000-2008.
- Basantani M, Srivastava A (2007) Plant glutathione transferases-a decade falls short. *Botany* 85: 443-456.
- Bianchi MW, Roux C, Vartanian N (2002) Drought regulation of GST8, encoding the Arabidopsis homologue of ParC/Nt107 glutathione transferase/peroxidase. *Physiologia Plantarum* 116: 96-105.
- Blanco F, Salinas P, Cecchini NM, Jordana X, Van Hummelen P, Alvarez ME, Holuigue L (2009) Early genomic responses to salicylic acid in *Arabidopsis*. *Plant Molecular Biology* 70: 79-102.
- Bombarely A, Menda N, Tecle IY, Buels RM, Strickler S, Fischer-York T, Pujar A, Leto J, Gosselin J, Mueller LA (2011) The sol genomics network (solgenomics.net): growing tomatoes using Perl. *Nucleic Acids Research* 39: D1149-D1155.
- Borsani O, Valpuesta V, Botella MA (2001) Evidence for a role of salicylic acid in the oxidative damage generated by NaCl and osmotic stress in Arabidopsis seedlings. *Plant Physiology* 126: 1024-1030.
- Bradford MM (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Bray EA (2002) Classification of genes differentially expressed during water-deficit stress in Arabidopsis thaliana: An analysis using microarray and differential expression data. *Annals of Botany* 89: 803-811.
- Camara B, Bouvier F (2004) Oxidative remodeling of plastid carotenoids. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 430:16-21.
- Cao Y, Zhang ZW, Xue LW, Du JB, Shang J, Xu F, Yuan S, Lin HH (2008) Lack of salicylic acid in Arabidopsis protects plants against moderate salt stress. *Zeitschrift für Naturforschung. C, Journal of Biosciences* 64: 231-238.
- Cartieaux F, Contesto C, Gallou A, Desbrosses G, Kopka J, Taconnat L, Renou JP, Touraine B (2008) Simultaneous interaction of Arabidopsis thaliana with Bradyrhizobium sp. strain ORS278 and Pseudomonas syringae pv. tomato DC3000 leads to complex transcriptome changes. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 21: 244-259.
- Che P, Gingerich DJ, Lall S, Howell SH (2002) Global and hormone-induced gene expression changes during shoot development in Arabidopsis. *The Plant Cell Online* 14: 2771-2785.
- Chen HJ, Kuć J (1999) Ca²⁺-dependent excretion of salicylic acid in tobacco cell suspension culture. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* 40.
- Chen HJ, Hou WC, Kuć J, Lin YH (2001) Ca²⁺-dependent and Ca²⁺-independent excretion modes of salicylic acid in tobacco cell suspension culture. *Journal of Experimental Botany* 52: 1219-1226.

- Chen C, Huang IC, Liu MJ, Wang ZG, Chung SS, Hsieh HL (2007) Glutathione S-transferase interacting with far-red insensitive 219 is involved in phytochrome A-mediated signaling in Arabidopsis. *Plant Physiology* 143: 1189-1202.
- Chen JH, Jiang HW, Hsieh EJ, Chen HY, Chien, CT, Hsieh HL, Lin TP (2012) Drought and salt stress tolerance of an arabidopsis glutathione S-transferase U17 knockout mutant are attributed to the combined effect of glutathione and abscisic acid. *Plant Physiology* 158: 340-351.
- Chomczynski P, Sacchi N (1987) Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate–phenol– chloroform extraction. *Analytical Biochemistry* 162:156-159.
- Chua L, Shan X, Wang J, Peng W, Zhang G, Xie D (2010) Proteomics study of COII-regulated proteins in Arabidopsis flower. *Journal of Integrative Plant Biology* 52: 410-419.
- Colcombet J, Hirt H (2008) Arabidopsis MAPKs: a complex signalling network involved in multiple biological processes. *Biochemical Journal* 413: 217-226.
- Cosio C, Dunand C (2009) Specific functions of individual class III peroxidase genes. *Journal of Experimental Botany* 60: 391-408.
- Cowan A K (2000) Is abscisic aldehyde really the immediate precursor to stress-induced ABA? *Trends in plant science* 5: 191-192.
- Csiszár J, Szabó M, Erdei L, Márton L, Horváth F, Tari I (2004) Auxin autotrophic tobacco callus tissues resists oxidative stress: the importance of glutathione S-transferase and glutathione peroxidase activities in auxin heterotrophic and autotrophic calli. *Journal of Plant Physiology* 161:691-699.
- Csiszár J, Lantos E, Tari I, Madosa E, Wodala B, Vashegyi Á, Horváth F, Pécsváradi A, Szabó M, Bartha B, Gallé Á, Lazăr A, Coradini G, Staicu M, Postelnicu S, Mihacea S, Nedelea G, Erdei L (2007) Antioxidant enzyme activities in Allium species and their cultivars under water stress. *Plant Soil and Environment* 53: 517.
- Csiszár J, Gallé Á, Horváth E, Dancsó P, Gombos M, Váry Zs, Erdei L, Györgyey J, Tari I (2012) Different peroxidase activities and expression of abiotic stress-related peroxidases in apical root segments of wheat genotypes with different drought stress tolerance under osmotic stress. *Plant Physiology and Biochemistry* 52: 119-129.
- Csiszár J, Horváth E, Váry Z, Gallé Á, Bela K, Brunner S, Tari I (2014) Glutathione transferase supergene family in tomato: Salt stress-regulated expression of representative genes from distinct GST classes in plants primed with salicylic acid. *Plant Physiology and Biochemistry* 78: 15-26.
- Cummins I, Cole DJ, Edwards R (1999) A role for glutathione transferases functioning as glutathione peroxidases in resistance to multiple herbicides in blackgrass. *The Plant Journal* 18: 285-292.
- Dangl JL, Jones J D (2001) Plant pathogens and integrated defence responses to infection. *Nature* 411: 826-833.
- Dat J, Vandenabeele S, Vranova E, Van Montagu M, Inze D, Van Breusegem F (2000) Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. *Cellular and Molecular Life Sciences* 57: 779-795.

- Davies WJ, Kudoyarova G, Hartung W (2005) Long-distance ABA signaling and its relation to other signaling pathways in the detection of soil drying and the mediation of the plant's response to drought. *Journal of Plant Growth Regulation* 24: 285-295.
- Dean JV, Mills JD (2004) Uptake of salicylic acid 2-O- β -D-glucose into soybean tonoplast vesicles by an ATP-binding cassette transporter-type mechanism. *Physiologia Plantarum* 120: 603-612.
- De Gara L. 2004 Class III peroxidases and ascorbate metabolism in plants. *Phytochemistry Reviews* 3: 195-205.
- DeRidder B P, Dixon DP, Beussman DJ, Edwards R, Goldsbrough PB (2002) Induction of glutathione S-transferases in Arabidopsis by herbicide safeners. *Plant Physiology* 130: 1497-1505.
- DeRidder BP, Goldsbrough PB (2006) Organ-specific expression of glutathione S-transferases and the efficacy of herbicide safeners in Arabidopsis. *Plant Physiology* 140: 167-175.
- Dhindsa RS, Plumb-Dhindsa P, Thorpe TA (1981) Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany* 32: 93-101.
- Dixon DP, Cole DJ, Edwards R (1998) Purification, regulation and cloning of a glutathione transferase (GST) from maize resembling the auxin-inducible type-III GSTs. *Plant Molecular Biology* 36: 75-87.
- Dixon DP, Laphorn A, Edwards R (2002a) Plant glutathione transferases. *Genome Biology* 3.
- Dixon DP, Davis BG, Edwards R (2002b) Functional divergence in the glutathione transferase superfamily in plants e identification of two classes with putative functions in redox homeostasis in Arabidopsis thaliana. *The Journal of Biological Chemistry* 277: 30859-30869.
- Dixon DP, Hawkins T, Hussey PJ, Edwards R (2009) Enzyme activities and subcellular localization of members of the Arabidopsis glutathione transferasesuperfamily. *Journal of Experimental Bototany* 60: 1207-1218.
- Dixon, D. P., Edwards, R. (2009). Selective binding of glutathione conjugates of fatty acid derivatives by plant glutathione transferases. *The Journal of Biological Chemistry*, 284: 21249-21256.
- Dixon DP, Edwards R (2010) Glutathione transferases. *The Arabidopsis Book/American Society of Plant Biologists* 8.
- Dixon DP, Skipsey M, Edwards R (2010) Roles for glutathione transferases in plant secondary metabolism. *Phytochemistry* 71: 338-350.
- Durner J, Shah J, Klessig DF (1997) Salicylic acid and disease resistance in plants. *Trends Plant Sci.* 2: 266-274.
- Droog F (1997) Plant glutathione S-transferases, a tale of theta and tau. *Journal of Plant Growth Regulation* 16: 95-107.
- de Torres Zabala M, Bennett MH, Truman WH, Grant MR (2009) Antagonism between salicylic and abscisic acid reflects early host-pathogen conflict and moulds plant defence responses. *The Plant Journal* 59:375-386.

- Ederli L, Pasqualini S, Batini P, Antonielli M (1997) Photoinhibition and oxidative stress: effects on xanthophyll cycle, scavenger enzymes and abscisic content in tobacco plants. *Journal of Plant Physiology* 151: 422-428.
- Edwards R, Dixon DP, Walbot V (2000) Plant glutathione S-transferases: enzymes with multiple functions in sickness and in health. *Trends in Plant Science* 5: 193-198.
- Edwards R, Dixon DP, Laphorn A (2002) Plant glutathione transferases. *Genome Biology* 3.
- Edwards R, Dixon DP (2005) Plant glutathione transferases. *Methods in Enzymology* 401: 169-186.
- Edwards R, Dixon DP, Skipsey M (2010) Roles for glutathione transferases in plant secondary metabolism. *Phytochemistry* 71: 338-350.
- El-Tayeb MA (2005) Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Plant Growth Regulation* 45: 215-224.
- Eltayeb AE, Kawano N, Badawi GH, Kaminaka H, Sanekata T, Shibahara T, Inanaga S, Tanaka K (2007) Overexpression of monodehydroascorbate reductase in transgenic tobacco confers enhanced tolerance to ozone, salt and polyethylene glycol stresses. *Planta* 225: 1255-1264.
- Endo A, Sawada Y, Takahashi H, Okamoto M, Ikegami K, Koiwai H, Seo M, Toyomasu T, Mitsuhashi W, Shinozaki K, Nakazono M, Kamiya Y, Koshihara T, Nambra E (2008) Drought induction of *Arabidopsis* 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase occurs in vascular parenchyma cells. *Plant Physiol* 147:1984-1993.
- Enyedi AJ, Yalpani N, Silverman P, Raskin I (1992) Localization, conjugation, and function of salicylic acid in tobacco during the hypersensitive reaction to tobacco mosaic virus. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 89: 2480-2484.
- Forouhar F, Yang Y, Kumar D, Chen Y, Fridman E, Park S W, Chiang Y, Acton TB, Montelione GT, Pichersky E, Klessig DF, Tong L (2005) Structural and biochemical studies identify tobacco SABP2 as a methyl salicylate esterase and implicate it in plant innate immunity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102: 1773-1778.
- Foyer CH, Noctor G (2009) Redox regulation in photosynthetic organisms: signaling, acclimation, and practical implications. *Antioxidants and Redox Signaling* 11: 861-905.
- Gallé Á, Csiszár J, Benyó D, Laskay G, Leviczky T, Erdei L, Tari I (2013) Isohydric and anisohydric strategies of wheat genotypes under osmotic stress: Biosynthesis and function of ABA in stress responses. *Journal of Plant Physiology* 170: 1389-1399.
- Gémes K, Poór P, Horváth E, Kolbert Zs, Szopkó D, Szepesi Á, Tari I (2011) Cross-talk between salicylic acid and NaCl-generated reactive oxygen species and nitric oxide in tomato during acclimation to high salinity. *Physiologia Plantarum* 142: 179-192.
- Gepstein S, Sabehi G, Carp MJ, Hajouj T, Nesher MFO, Yariv I, Dor C, Bassani M (2003) Large-scale identification of leaf senescence-associated genes. *The Plant Journal* 36: 629-642.
- Gill SS, Tuteja N (2010) Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 48: 909-930.

- Gong H, Jiao Y, Hu WW, Pua EC (2005) Expression of glutathione-S-transferase and its role in plant growth and development in vivo and shoot morphogenesis in vitro. *Plant Molecular Biology* 57: 53-66.
- Gonzales-Guzman M, Apostolova N, Belles JM, Barrero JM, Piqueras P, Ponce R M, Micol JL, Serrano M, Rodriguez PL (2002) The short-chain alcohol dehydrogenase ABA2 catalyzes the conversion of xanthoxin to abscisic aldehyde. *The Plant Cell* 14: 1833-1846.
- Gruhler A, Schulze WX, Matthiesen R, Mann M, Jensen ON (2005) Stable isotope labeling of *Arabidopsis thaliana* cells and quantitative proteomics by mass spectrometry. *Molecular and Cellular Proteomics* 4: 1697-1709.
- Gunes A, Inal A, Alpaslan M, Eraslan F, Bagci EG, Cicek N (2007) Salicylic acid induced changes on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.) grown under salinity. *Journal of Plant Physiology* 164: 728-736.
- Guóth A, Benyó D, Csiszár J, Gallé Á, Horváth F, Cseuz L, Erdei L, Tari I (2010) Relationship between osmotic stress-induced abscisic acid accumulation, biomass production and plant growth in drought tolerant and sensitive wheat genotypes. *Acta Physiologia Plantarum* 32: 719-727.
- Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB (1974) Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry* 246: 7130-7139.
- Haddadchi GR, Gerivani Z (2009) Effects of phenolic extracts of canola (*Brassica napus* L.) on germination and physiological responses of soybean (*Glycin max* L.) seedlings. *International Journal of Plant Production* 3: 63-74.
- Han Y, Chaouch S, Mhamdi A, Queval G, Zechmann B, Noctor GD (2012) Functional analysis of *Arabidopsis* mutants points to novel roles for glutathione in coupling H₂O₂ to activation of salicylic acid accumulation and signaling. *Antioxidants and Redox Signaling* 18: 2106-2121.
- Hao L, Zhao Y, Jin D, Zhang L, Bi X, Chen H, Xu Q, Ma C, Li G (2012) Salicylic acid-altering *Arabidopsis* mutants response to salt stress. *Plant and Soil* 354: 81-95.
- Harinasut P, Poonsopa D, Roengmongkol K, Charoensataporn R (2003) Salinity effects on antioxidant enzymes in mulberry cultivar. *Science Asia* 29: 109-113.
- Hasegawa PM, Bressan RA, Zhu JK, Bohnert HJ (2000) Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review of Plant Physiology* 51: 463-499.
- Hayat Q, Hayat S, Irfan M, Ahmad A (2010) Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: A review. *Environmental and Experimental Botany* 68: 14-25.
- Horváth E, Janda T, Szalai G, Páldi E (2002) In vitro salicylic acid inhibition of catalase activity in maize: differences between the isozymes and a possible role in the induction of chilling tolerance. *Plant Science* 163: 1129-1135.
- Horváth E, Szalai G, Janda T (2007) Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling. *Journal of Plant Growth Regulation* 26: 290-300.
- Huson DH, Richter DC, Rausch C, Dezulian T, Franz M, Rupp R (2007) Dendroscope: an interactive viewer for large phylogenetic trees. *BMC Bioinformatics* 8.

- Iuchi S, Kobayashi M, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K (2000) A stress-inducible gene for 9-*cis*-epoxycarotenoid dioxygenase involved in abscisic acid biosynthesis under water stress in drought-tolerant cowpea. *Plant Physiology* 123: 553-562.
- Jaleel CA, Riadh K, Gopi R, Manivannan P, Ines J, Al-Juburi H, Chang-Xing Z, Hong-Bo S, Panneerselvam R (2009) Antioxidant defense responses: physiological plasticity in higher plants under abiotic constraints. *Acta Physiologiae Plantarum* 31: 427-436.
- Jaspers P, Kangasjarvi J (2010) Reactive oxygen species in abiotic stress signaling. *Physiologia Plantarum* 138: 405-413.
- Jayakannan M, Bose J, Babourina O, Rengel Z, Shabala S (2013) Salicylic acid improves salinity tolerance in *Arabidopsis* by restoring membrane potential and preventing salt-induced K⁺ loss via a GORK channel. *Journal of Experimental Botany* 64: 2255-2268.
- Jha B., Sharma A, Mishra A (2011). Expression of SbGSTU (tau class glutathione S-transferase) gene isolated from *Salicornia brachiata* in tobacco for salt tolerance. *Molecular Biology Reports* 38: 4823-4832.
- Ji W, Zhu YM, Li Y, Yang LA, Zhao XW, Cai H, Bai X (2010) Over-expression of a glutathione S-transferase gene, GsGST, from wild soybean (*Glycine soja*) enhances drought and salt tolerance in transgenic tobacco. *Biotechnology Letters* 32: 1173-1179.
- Jiang HW, Liu MJ, Chen IC, Huang CH, Chao LY, Hsieh HL (2010) A glutathione s-transferase regulated by light and hormones participates in the modulation of *Arabidopsis* seedling development. *Plant Physiology* 154: 1646-1658.
- Joseph B, Jini D, Sujatha S (2010) Insight into the role of exogenous salicylic acid on plants grown under salt environment. *Asian Journal of Crop Science* 2: 226-235.
- Joseph B, Jini D (2011) Development of salt stress-tolerant plants by gene manipulation of antioxidant enzymes. *Asian Journal of Agricultural Research* 5: 17-27.
- Juan M, Rivero RM, Romero L, Ruiz JM (2005) Evaluation of some nutritional and biochemical indicators in selecting salt-resistant tomato cultivars. *Environmental and Experimental Botany* 54: 193-201.
- Kampranis SC, Damianova R, Atallah M, Toby G, Kondi G, Tsiglis PN, Makris AM (2000) A novel plant glutathione S-transferase/peroxidase suppresses Bax lethality in yeast. *The Journal of Biological Chemistry* 275: 29207-29216.
- Kanno Y, Jikumaru Y, Hanada A, Nambara E, Abrams SR, Kamiya Y, Seo M (2010) Comprehensive hormone profiling in developing *Arabidopsis* seeds: examination of the site of ABA biosynthesis, ABA transport and hormone interactions. *Plant and Cell Physiology* 51: 1988-2001.
- Kawano T, Furuichi T, Muto S (2004) Controlled salicylic acid levels and corresponding signaling mechanisms in plants. *Plant Biotechnology* 21: 319-335.
- Khan NA, Syeed S, Masood A, Nazar R, Iqba N (2010) Application of salicylic acid increases contents of nutrients and antioxidative metabolism in mungbean and alleviates adverse effects of salinity stress. *International Journal of Plant Biology* 1: e1.
- Khan MIR, Asgher M, Khan NA (2014) Alleviation of salt-induced photosynthesis and growth inhibition by salicylic acid involves glycinebetaine and ethylene in mungbean (*Vigna radiata* L.). *Plant Physiology and Biochemistry* 80: 67-74.

- Kilili KG, Atanassova N, Vardanyan A, Clatot N, Al-Sabarna K, Kanellopoulos PN, Makris AM, Kampranis SC (2004) Differential roles of Tau class glutathione S-transferases in oxidative stress. *The Journal of Biological Chemistry* 279: 24540-24551.
- Kim Y, Arihara J, Nakayama T, Nakayama N, Shimada S, Usui K (2004) Antioxidative responses and their relation to salt tolerance in *Echinochloa oryzicola* Vasing and *Setaria viridis* (L.) Beauv. *Plant Growth Regulation* 44: 87-92.
- Kitamura S, Shikazono N, Tanaka A (2004) TRANSPARENT TESTA 19 is involved in the accumulation of both anthocyanins and proanthocyanidins in Arabidopsis. *The Plant Journal* 37: 104-114.
- Kocsy G, Pál M, Soltész A, Szalai G, Boldizsár Á, Kovács V, Janda T (2011) Low temperature and oxidative stress in cereals. *Acta Agronomica Hungarica* 59: 169-189.
- Krantev A, Yordanova R, Janda T, Szalai G, Popova L (2008) Treatment with salicylic acid decreases the effect of cadmium on photosynthesis in maize plants. *Journal of Plant Physiology* 165: 920-931.
- Kumar S, Asif MH, Chakrabarty D, Tripathi RD, Dubey RS, Trivedi PK (2013) Differential expression of rice lambda class GST gene family members during plant growth, development, and in response to stress conditions. *Plant Molecular Biology Reporter* 31: 569-580.
- Lan T, Yang ZL, Yang X, Liu YJ, Wang XR, Zeng QY (2009) Extensive functional diversification of the Populus glutathione S-transferase supergene family. *The Plant Cell Online* 21: 3749-3766.
- Le Martret B, Poage M, Shiel K, Nugent GD, Dix PJ (2011) Tobacco chloroplast transformants expressing genes encoding dehydroascorbate reductase, glutathione reductase, and glutathione-S-transferase, exhibit altered anti-oxidant metabolism and improved abiotic stress tolerance. *Plant Biotechnology Journal* 9: 661-673.
- Lee S, Kim SG, Park CM (2010) Salicylic acid promotes seed germination under high salinity by modulating antioxidant activity in Arabidopsis. *New Phytologist* 188: 626-637.
- Lee K, Han KS, Kwon YS, Lee JH, Kim SH, Chung WS, Kim Y, Chun SS, Kim HK, Bae DW (2009) Identification of potential DREB2C targets in Arabidopsis thaliana plants overexpressing DREB2C using proteomic analysis. *Molecules and Cells* 28: 383-388.
- Lee S, Park CM (2010) Modulation of reactive oxygen species by salicylic acid in Arabidopsis seed germination under high salinity. *Plant Signaling and Behavior* 5: 1534-1536.
- Lefebvre V, North H, Frey A, Sotta B, Seo M, Okamoto M, Nambara E, Marion-Poll A (2006) Functional analysis of Arabidopsis NCED6 and NCED9 genes indicates that ABA synthesized in the endosperm is involved in the induction of seed dormancy. *The Plant Journal* 45: 309-319.
- Lescot M, Dehais P, Thijs G, Marchal K, Moreau Y, Van de Peer Y, Rouze P, Rombauts S, (2002) PlantCARE, a database of plant cis-acting regulatory elements and a portal to tools for in silico analysis of promoter sequences. *Nucleic Acids Research* 30: 325-327.

- Li J, Besseau S, Törönen P, Sipari N, Kollist H, Holm L, Palva ET (2013) Defense-related transcription factors WRKY70 and WRKY54 modulate osmotic stress tolerance by regulating stomatal aperture in Arabidopsis. *New Phytologist* 200: 457-472.
- Li ZG, Xie LR, Li XJ (2015) Hydrogen sulfide acts as a downstream signal molecule in salicylic acid-induced heat tolerance in maize (*Zea mays* L.) seedlings. *Journal of Plant Physiology* 177: 121-127.
- Lieberherr D, Wagner U, Dubuis PH, Métraux JP, Mauch F (2003) The rapid induction of glutathione S-transferases AtGSTF2 and AtGSTF6 by avirulent *Pseudomonas syringae* is the result of combined salicylic acid and ethylene signaling. *Plant and Cell Physiology* 44: 750-757.
- Liu YJ, Han XM, Ren LL, Yang HL, Zeng QY (2013) Functional divergence of the glutathione S-transferase supergene family in *Physcomitrella patens* reveals complex patterns of large gene family evolution in land plants. *Plant Physiology* 161: 773-786.
- Livak KJ, Schmittgen TD (2001) Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_t}$ method. *Methods* 25: 402-408.
- Lovdal T, Lillo C, (2009) Reference gene selection for quantitative real-time PCR normalization in tomato subjected to nitrogen, cold, and light stress. *Analytical Biochemistry* 387: 238-242.
- Lovelli S, Scopa A, Perniola M, Di Tommaso T, Sofo A (2012) Absciscic acid root and leaf concentration in relation to biomass partitioning in salinized tomato plants. *Journal of Plant Physiology* 169: 226-233.
- Lu Z, Liu D, Liu S (2007) Two rice cytosolic ascorbate peroxidases differentially improve salt tolerance in transgenic Arabidopsis. *Plant cell reports* 26: 1909-1917.
- Mahdavian K, Kalantari KM, Ghorbanli M (2007) The effect of different concentrations of salicylic acid on protective enzyme activities of pepper (*Capsicum annuum* L.) plants. *Pakistan journal of biological sciences: PJBS* 10: 3162-3165.
- Mandal S, Mallick N, Mitra A (2009) Salicylic acid-induced resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in tomato. *Plant Physiology and Biochemistry* 47: 642-649.
- Mang HG, Kang EO, Shim JH, Kim SY, Park KY, Kim YS, Park KY, Kim YS, Bahk YY, Kim WT (2004) A proteomic analysis identifies glutathione S-transferase isoforms whose abundance is differentially regulated by ethylene during the formation of early root epidermis in Arabidopsis seedlings. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Structure and Expression* 1676: 231-239.
- Marrs KA (1996) The function and regulation of glutathione S-transferases in plants. *Annual Review of Plant Physiology* 47: 127-158.
- Masclaux-Daubresse C, Purdy S, Lemaitre T, Pourtau N, Taconnat L, Renou JP, Wingler A (2007) Genetic variation suggests interaction between cold acclimation and metabolic regulation of leaf senescence. *Plant Physiology* 143: 434-446.
- Menges M, Hennig L, Gruissem W, Murray JA (2002) Cell cycle-regulated gene expression in Arabidopsis. *Journal of Biological Chemistry* 277: 41987-42002.

- Métraux JP, Signer H, Ryals J, Ward E, Wyss-Benz M, Gaudin J, Raschdorf K, Schmid E, Blum W, Inverardi B.(1990).Increase in salicylic acid at the onset of systemic acquired resistance in cucumber. *Science* 250: 1004-1006.
- Métraux JP (2001) Systemic acquired resistance and salicylic acid: current state of knowledge. *European Journal of Plant Pathology* 107: 13-18.
- Mezzari MP, Walters K, Jelinkova M, Shih MC, Just CL, Schnoor JL (2005) Gene expression and microscopic analysis of Arabidopsis exposed to chloroacetanilide herbicides and explosive compounds. A phytoremediation approach. *Plant Physiology* 138: 858-869.
- Miller G, Suzuki N, Ciftci-Yilmaz S, Mittler R (2010) Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. *Plant, Cell and Environment* 33: 453-467.
- Min X, Okada K, Brockmann B, Koshiha T, Kamiya Y (2000) Molecular cloning and expression patterns of three putative functional aldehyde oxidase genes and isolation of two aldehyde oxidase pseudogenes in tomato. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Structure and Expression* 1493: 337-341.
- Mittler R (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci.* 7: 405-410.
- Mittler R, Vanderauwera S, Gollery M, Van Breusegem F (2004) Reactive oxygen gene network of plants. *Trends in Plant Science* 9: 490-498.
- Mittova V, Tal M, Volokita M, Guy M (2002) Salt stress induces up-regulation of an efficient chloroplast antioxidant system in the salt-tolerant wild tomato species *Lycopersicon pennellii* but not in the cultivated species. *Physiologia Plantarum* 115: 393-400.
- Miura K, Tada Y (2014) Regulation of water, salinity, and cold stress responses by salicylic acid. *Frontiers in Plant Science* 5.
- Miura K, Okamoto H, Okuma E, Shiba H, Kamada H, Hasegawa PM, Murata Y (2013) SIZ1 deficiency causes reduced stomatal aperture and enhanced drought tolerance via controlling salicylic acid-induced accumulation of reactive oxygen species in Arabidopsis. *The Plant Journal* 73: 91-104.
- Moons A (2003) Osgtu3 and osgtu4, encoding tau class glutathione S-transferases, are heavy metal-and hypoxic stress-induced and differentially salt stress-responsive in rice roots. *FEBS letters* 553: 427-432.
- Moore AL, Albury MS, Crichton PG, Affourtit C (2002) Function of the alternative oxidase: is it still a scavenger? *Trends in Plant Science* 7: 478-481.
- Mou Z, Fan W, Dong X (2003) Inducers of plant systemic acquired resistance regulate NPR1 function through redox changes. *Cell* 113: 935-944.
- Mulholland BJ, Taylor IB, Jackson AC, Thompson AJ (2003) Can ABA mediate response of salinity stressed tomato. *Environmental and Experimental Botany* 50: 17-28.
- Munns R (2005) Genes and salt tolerance: bringing them together. *New Phytologist* 167: 645–663.
- Munns M, Tester M (2008) Mechanisms of Salinity Tolerance. *Annual Reviews of Plant Biology* 59: 651-81.
- Munns R (2002) Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell and Environment* 25: 239-250.

- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15: 473-497.
- Ndimba BK, Chivasa S, Simon WJ, Slabas AR (2005) Identification of Arabidopsis salt and osmotic stress responsive proteins using two-dimensional difference gel electrophoresis and mass spectrometry. *Proteomics* 5: 4185-4196.
- Noctor G, Gomez L, Vanacker H, Foyer CH (2002) Interactions between biosynthesis, compartmentation and transport in the control of glutathione homeostasis and signalling. *Journal of Experimental Botany* 53: 1283-1304.
- Noctor G, Foyer CH (1998) Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annual Review of Plant Biology* 49: 249-279.
- Noreen S, Ashraf M, Hussain M, Jamil A (2009) Exogenous application of salicylic acid enhances antioxidative capacity in salt stressed sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants. *Pakistan Journal of Botany* 41: 473-479.
- Noctor G, Queval G, Mhamdi A, Chaouch S, Foyer CH (2011) Glutathione. *The Arabidopsis Book/American Society of Plant Biologists* 9.
- Nutricati E, Miceli A, Blando F, De Bellis L (2006) Characterization of two Arabidopsis thaliana glutathione S-transferases. *Plant Cell Reports* 25: 997-1005.
- Omarov R, Dräger D, Tischner R, Lips H (2003) Aldehyde oxidase isoforms an subunit composition in roots of barley as affected by ammonium and nitrate. *Physiologia Plantarum* 117: 337-342.
- Orellana S, Yanez M, Espinoza A, Verdugo I, Gonzalez E, Ruiz-Lara S, Casaretto JA (2010) The transcription factor SlAREB1 confers drought, salt stress tolerance and regulates biotic and abiotic stress-related genes in tomato. *Plant, Cell and Environment* 33: 2191-2208.
- Ori N, Eshed Y, Pinto P, Paran I, Zamir D, Fluhr R (1997) TAO1, a representative of molybdenum cofactor containing hydroxylases of tomato. *Journal of Biological Chemistry* 272: 1019-1025.
- Ouyang B, Yang T, Li H, Zhang L, Zhang Y, Zhang J, Fei Z, Ye Z (2007) Identification of early salt stress response genes in tomato root by suppression subtractive hybridization and microarray analysis. *Journal of Experimental Botany* 58: 507-520.
- Pál M, Szalai G, Kovács V, Gondor OK, Janda T (2013) Salicylic acid-mediated abiotic stress tolerance. In Salicylic Acid (pp. 183-247). Springer Netherlands.
- Palma F, Lluch C, Iribarne, C, García-Garrido JM, Tejera García NA (2009) Combined effect of salicylic acid and salinity on some antioxidant activities, oxidative stress and metabolite accumulation in *Phaseolus vulgaris*. *Plant Growth Regulation* 58: 307-316.
- Papdi Cs, Ábrahám E, Joseph MP, Popescu C, Koncz Cs, Szabados L (2008) Functional identification of *Arabidopsis* stress regulatory genes using the controlled cDNA overexpression system. *Plant Physiology* 147: 528-542.
- Parida AK, Das AB (2005) Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 60: 324-349.
- Park S W, Kaimoyo E, Kumar D, Mosher S, Klessig D F (2007) Methyl salicylate is a critical mobile signal for plant systemic acquired resistance. *Science* 318: 113-116.

- Passardi F, Longet D, Penel C, Dunand C (2004) The class III peroxidase multigenic in land plants family in rice and its evolution. *Phytochemistry* 65: 1879-1893.
- Prashanth SR, Sadhasivam V, Parida A (2008) Over expression of cytosolic copper/zinc superoxide dismutase from a mangrove plant *Avicennia marina* in indica Rice var Pusa Basmati-1 confers abiotic stress tolerance. *Transgenic Research* 17: 281-291.
- Pető A, Lehotai N, Feigl G, Tugyi N, Ördög A, Gémes K, Tari I, Erdei L, Kolbert Zs (2013) Nitric oxide contributes to copper tolerance by influencing ROS metabolism in *Arabidopsis*. *Plant Cell Reports* 32: 1913-1923.
- Poór P, Gémes K, Horváth F, Szepesi Á, Simon ML, Tari I (2011) Salicylic acid treatment via the rooting medium interferes with stomatal response, CO₂ fixation rate and carbohydrate metabolism in tomato, and decreases harmful effects of subsequent salt stress. *Plant Biology* 13: 105-114.
- Potters G, Horemans N, Jansen MAK (2010) The cellular redox state in plant stress biology - a charging concept. *Plant Physiology and Biochemistry* 48: 292-300.
- Ramel F, Mialoundama AS, Havaux M. (2012) Nonenzymic carotenoid oxidation and photooxidative stress signalling in plants. *Journal of Experimental Botany* 63: 695-709.
- Rao MV, Davis KR (1999) Ozone-induced cell death occurs via two distinct mechanisms in *Arabidopsis*: the role of salicylic acid. *The Plant Journal* 17: 603-614.
- Raskin I (1992) Role of salicylic acid in plants. *Annual Review of Plant Physiology* 43: 439-463.
- Rasmussen J B, Hammerschmidt R, Zook MN (1991) Systemic induction of salicylic acid accumulation in cucumber after inoculation with *Pseudomonas syringae* pv *syringae*. *Plant Physiology* 97: 1342-1347.
- Rivas-San Vicente M, Plasencia J (2011) Salicylic acid beyond defence: its role in plant growth and development. *Journal of Experimental Botany* 62: 3321-3338.
- Roxas VP, Lodhi SA, Garrett DK, Mahan JR, Allen RD (2000) Stress tolerance in transgenic tobacco seedlings that overexpress glutathione S-transferase/glutathione peroxidase. *Plant and Cell Physiology* 41: 1229-1234.
- Sagi M, Omarov RT, Lips SH (1998) The Mo-hydroxylases xanthine dehydrogenase and aldehyde oxidase in ryegrass as affected by nitrogen and salinity. *Plant Science* 135: 125-135.
- Sahu GK, Sabat SC (2011) Changes in growth, pigment content and antioxidants in the root and leaf tissues of wheat plants under the influence of exogenous salicylic acid. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 23: 209-218.
- Sappl PG, Onate-Sanchez L, Singh KB, Millar AH (2004) Proteomic analysis of glutathione S-transferases of *Arabidopsis thaliana* reveals differential salicylic acid-induced expression of the plant-specific phi and tau classes. *Plant Molecular Biology* 54: 205-219.
- Sappl PG, Carroll AJ, Clifton R, Lister R, Whelan J, Millar AH, Singh KB (2009) The *Arabidopsis* glutathione transferase gene family displays complex stress regulation and co-silencing multiple genes results in altered metabolic sensitivity to oxidative stress. *The Plant Journal* 58: 53-68.

- Sarry JE, Kuhn L, Ducruix C, Lafaye A, Junot C, Hugouvieux V, Jourdain A, Bastien O, Fievet JB, Vailhen D, Amekraz B, Moulin C, Ezan E, Garin J, Bourguignon J (2006) The early responses of *Arabidopsis thaliana* cells to cadmium exposure explored by protein and metabolite profiling analyses. *Proteomics* 6: 2180-2198.
- Schafer FQ, Buettner GR (2001) Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. *Free Radical Biology and Medicine* 30: 1191-1212.
- Schwartz SH, Zeevaart JAD (2010) Absciscic acid biosynthesis and metabolism. *Plant Hormones B* 137-155.
- Semane B, Dupae J, Cuyper A, Noben JP, Tuomainen M, Tervahauta A, Kärenlampi S, Van Belleghem F, Smeets K, Vangronsveld J (2010) Leaf proteome responses of *Arabidopsis thaliana* exposed to mild cadmium stress. *Journal of Plant Physiology* 167: 247-254.
- Senaratna T, Touchell D, Bunn E, Dixon K (2000) Acetyl salicylic acid (Aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. *Plant Growth Regulation* 30: 157-161.
- Seki M, Narusaka M, Ishida J, Nanjo T, Fujita M, Oono Y, Kamiya A, Nakajima M, Enju A, Sakurai T, Satou M, Akiyama K, Taji T, Shinozaki KY, Carninci P, Kawai J, Hayashizaki Y, Shinozaki K (2002) Monitoring the expression profiles of 7000 *Arabidopsis* genes under drought, cold and high-salinity stresses using a full-length cDNA microarray. *The Plant Journal* 31: 279-292.
- Sekmen HA, Türkan İ, Takio S (2007) Differential responses of antioxidative enzymes and lipid peroxidation to salt stress in salt-tolerant *Plantago maritima* and salt-sensitive *Plantago media*. *Physiologia Plantarum* 131: 399-411.
- Seo M, Peeters AJM, Koiwai H, Oritani T, Marion-Poll A, Zeevaart J A D, Koornneef M, Kamiya Y, Koshiba T (2000) The *Arabidopsis* aldehyde oxidase 3 (AAO3) gene product catalyze the final step in absciscic acid biosynthesis in leaves. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97: 12908- 12913.
- Seo M, Koshiba T (2002) Complex regulation of ABA biosynthesis in plants. *Trends in Plant Science* 7: 41-48.
- Seo M, Aoki H, Koiwai H, Kamiya Y, Nambara E, Koshiba T (2004) Comparative study on the *Arabidopsis* aldehyde oxidase gene (AAO) family revealed a major role of AAO3 in ABA biosynthesis in seeds. *Plant and Cell Physiology* 45: 1694-1703.
- Seo PJ, Park CM (2010) MYB96-mediated absciscic acid signals induce pathogen resistance response by promoting salicylic acid biosynthesis in *Arabidopsis*. *New Phytologist* 186: 471-483.
- Shabala S (2009) Salinity and programmed cell death: unravelling mechanisms for ion specific signalling. *Journal of Experimental Botany* 60: 709-712.
- Shirasu K, Nakajima H, Rajashekar K, Dixon RA, Lamb C (1997) Salicylic acid potentiates an agonist-dependent gain control that amplifies pathogen signal in the activation of defense mechanisms. *The Plant Cell* 9: 261-270.

- Shakirova FM, Sakhabutdinova AR, Bezrukova MV, Fatkhutdinova RA, Fatkhutdinova DR (2003) Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. *Plant Science* 164: 317-322.
- Shalata A, Neumann PM (2001) Exogenous ascorbic acid (vitamin C) increases resistance to salt stress and reduces lipid peroxidation. *Journal of Experimental Botany* 52: 2207-2211.
- Sharma R, Sahoo A, Devendran R, Jain M (2014) Over-expression of a rice tau class glutathione S-transferase gene improves tolerance to salinity and oxidative stresses in Arabidopsis. *PloS One* 9: e92900.
- Simaei M, Khavari-Nejad RA, Saadatmand S, Bernard F, Fahimi H (2011) Effects of salicylic acid and nitric oxide on antioxidant capacity and proline accumulation in *Glycine max* L. treated with NaCl salinity. *African Journal of Agricultural Research* 6: 3775-3782.
- Slaymaker DH, Navarre DA, Clark D, del Pozo O, Martin GB, Klessig DF (2002) The tobacco salicylic acid-binding protein 3 (SABP3) is the chloroplast carbonic anhydrase, which exhibits antioxidant activity and plays a role in the hypersensitive defense response. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99: 11640-11645.
- Smith AP, Nourizadeh SD, Peer WA, Xu J, Bandyopadhyay A, Murphy AS, Goldsbrough PB (2003) Arabidopsis AtGSTF2 is regulated by ethylene and auxin, and encodes a glutathione S-transferase that interacts with flavonoids. *The Plant Journal* 36: 433-442.
- Srivastava MK, Dwivedi UN (1998) Salicylic acid modulates glutathione metabolism in pea seedlings. *Journal of Plant Physiology* 153: 409-414.
- Sumithra K, Jutur PP, Carmel BD, Reddy AR (2006) Salinity-induced changes in two cultivars of *Vigna radiata*: responses of antioxidative and proline metabolism. *Plant Growth Regulation* 50: 11-22.
- SunW, Xu XN, Zhu HS, Liu AH, Liu L, Li JM, Hua XJ (2010) Comparative transcriptomic profiling of a salt-tolerant wild tomato species and a salt-sensitive tomato cultivar. *Plant and Cell Physiology* 51: 997-1006.
- Szepesi Á, Csiszár J, Bajkán S, Gémes K, Horváth F, Erdei L, Deér AK, Simon ML, Tari I (2005) Role of salicylic acid pre-treatment on the acclimation of tomato plants to salt- and osmotic stress. *Acta Biologica Szegediensis* 49: 123-125.
- Szepesi Á, Csiszár J, Gallé Á, Gémes K, Poór P, Tari I (2008) Effects of long-term salicylic acid pre-treatment on tomato (*Lycopersicon esculentum* MILL. L.) salt stress tolerance: changes in glutathione S-transferase activities and anthocyanin contents. *Acta Agronomica Hungarica* 56: 129-138.
- Szepesi Á, Csiszár J, Gémes K, Horváth E, Horváth F, Simon ML, Tari I (2009) Salicylic acid improves acclimation to salt stress by stimulating abscisic aldehyde oxidase activity and abscisic acid accumulation, and increases Na⁺ content in leaves without toxicity symptoms in *Solanum lycopersicum* L. *Journal of Plant Physiology* 166: 914-925.
- Simkin AJ, Schwatz SH, Auldridge M, Taylor MG, Klee HJ (2004) The tomato carotenoid cleavage dioxygenase genes contribute to the formation of the flavor volatiles β -ionone, pseudoionone, and geranylacetone. *The Plant Journal* 40: 882-892.

- Stevens J, Senaratna T, Sivasithamparam K (2006) Salicylic acid induces salinity tolerance in tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Roma): associated changes in gas exchange, water relations and membrane stabilisation. *Plant Growth Regulation* 49: 77-83.
- Sorin C, Negroni L, Balliau T, Corti H, Jacquemot MP, Davanture M, Sandberg G, Zivy M, Bellini C (2006) Proteomic analysis of different mutant genotypes of *Arabidopsis* led to the identification of 11 proteins correlating with adventitious root development. *Plant Physiology* 140: 349-364.
- Syed S, Anjum NA, Nazar R, Iqbal N, Masood A, Khan NA (2011) Salicylic acid-mediated changes in photosynthesis, nutrients content and antioxidant metabolism in two mustard (*Brassica juncea* L.) cultivars differing in salt tolerance. *Acta Physiologiae Plantarum* 33: 877-886.
- Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S (2011) MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution* 28: 2731-2739.
- Taşgın E, Atıcı Ö, Nalbantoğlu B, Popova L P (2006) Effects of salicylic acid and cold treatments on protein levels and on the activities of antioxidant enzymes in the apoplast of winter wheat leaves. *Phytochemistry* 67: 710-715.
- Tari I, Csiszár J, Szalai G, Horváth F, Pécsvárad A, Kiss G, Szepesi Á, Szabó M, Erdei L (2002) Acclimation of tomato plants to salinity stress after a salicylic acid pre-treatment. *Acta Biologica Szegediensis* 46: 55-56.
- Tari I, Csiszár J, Horváth E, Poór P, Takács Z, Szepesi Á (2015) Alleviation of the adverse effect of salt stress in tomato by salicylic acid shows time- and organ-specific antioxidant response. *Acta Biologica Cracoviensia series Botany* (doi/10.1515/abcsb-2015-0008)
- Tian M, von Dahl CC, Liu P-P, Friso G, van Wijk KJ, Klessig DF (2012) The combined use of photoaffinity labeling and surface plasmon resonance-based technology identifies multiple salicylic acid-binding proteins. *The Plant Journal* 72: 1027-1038.
- Thatcher LF, Carrie C, Andersson CR, Sivasithamparam K, Whelan J, Singh KB (2007) Differential gene expression and subcellular targeting of *Arabidopsis* glutathione S-transferase F8 is achieved through alternative transcription start sites. *Journal of Biological Chemistry* 282: 28915-28928.
- Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ (1994) Clustal-W e improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* 22: 4673-4680.
- Thompson AJ, Jackson AC, Parker RA, Morpeth DR, Burbidge A, Taylor IB (2000) Absciscic acid biosynthesis in tomato: regulation of zeaxanthin epoxidase and 9- *cis*-epoxycarotenoid dioxygenase mRNAs by light/dark cycles, water stress and absciscic acid. *Plant Molecular Biology* 42: 833-845.
- Tung SA, Smeeton R, White CA, Black CR, Taylor IB, Hilton HW, Thompson JA (2008) Over-expression of *LeNCED1* in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) with the *rbcS3C* promoter allows recovery of lines that accumulate very high levels of absciscic acid and exhibit severe phenotypes. *Plant Cell and Environment* 31: 968-981.

- Upadhyaya A, Sankhla D, Davis TD, Sankhla N, Smith BN (1985) Effect of paclobutrazol on the activities of some enzymes of activated oxygen metabolism and lipid peroxidation in senescing soybean leaves. *Journal of Plant Physiology* 121: 453-461
- Van Breusegem F, Bailey-Serres J, Mittler R (2008) Unraveling the tapestry of networks involving reactive oxygen species in plants. *Plant Physiology* 147: 978-984.
- Velikova V, Yordanov I, Edreva A (2000) Oxidative stress and some antioxidant systems in acid raintreated bean plants. Protective role of exogenous polyamines. *Plant Science* 151: 59-66.
- Vital SA, Fowler RW, Virgen A, Gossett DR, Banks SW, Rodriguez J (2008) Opposing roles for superoxide and nitric oxide in the NaCl stress-induced upregulation of antioxidant enzyme activity in cotton callus tissue. *Environmental and Experimental Botany* 62: 60-68.
- Vlot AC, Dempsey DMA, Klessig DF (2009) Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease. *Annual Review of Phytopathology* 47: 177-206.
- Wagner U, Edwards R, Dixon DP, Mauch F (2002) Probing the diversity of the *Arabidopsis* glutathione S-transferase gene family. *Plant Molecular Biology* 49: 515-532.
- Wilkinson S, Davies WJ (2002) ABA-based chemical signalling: the co-ordination of responses to stress in plants. *Plant, Cell and Environment* 25: 195-210.
- Wilkinson S, Davies WJ (2010) Drought, ozone, ABA and ethylene: new insights from cell to plant to community. *Plant, Cell and Environment* 33: 510-525.
- Willekens H, Chamnongpol S, Davey M, Schraudner M, Langebartels C, Van Montagu M, Van Camp W (1997) Catalase is a sink for H₂O₂ and is indispensable for stress defence in C3 plants. *The EMBO Journal* 16: 4806-4816.
- Xiong L, Zhu J-K (2003) Regulation of abscisic acid biosynthesis. *Plant Physiology* 133: 29-36.
- Xu E, Brosché M (2014) Salicylic acid signaling inhibits apoplastic reactive oxygen species signaling. *BMC Plant Biology* 14: 155.
- Yang X, Sun W, Liu JP, Liu YJ, Zeng QY (2009) Biochemical and physiological characterization of a tau class glutathione transferase from rice (*Oryza sativa*). *Plant Physiology and Biochemistry* 47: 1061-1068.
- Yasuda M, Ishikawa A, Jikumaru Y, Seki M, Umezawa T, Asami T, Maruyama-Nakashita A, Kudo T, Shinozaki K, Yoshida S, Nakashita H (2008) Antagonistic interaction between systemic acquired resistance and the abscisic acid-mediated abiotic stress response in *Arabidopsis*. *Plant Cell Online* 20: 1678-1692.
- Yoon HS, Lee H, Lee IA, Kim KY, Jo J (2004) Molecular cloning of the monodehydroascorbate reductase gene from *Brassica campestris* and analysis of its mRNA level in response to oxidative stress. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics* 1658: 181-186.
- Zdunek E, Lips SH (2001) Transport and accumulation rates of abscisic acid and aldehyde oxidase activity in *Pisum sativum* L. in response to suboptimal growth conditions. *Journal of Experimental Botany* 52: 1269-1276.

- Zdunek-Zastocka E (2008) Molecular cloning, characterization and expression analysis of three aldehyde oxidase genes from *Pisum sativum* L. *Plant Physiology and Biochemistry* 46: 19-28.
- Zhang H, Han B, Wang T, Chen S, Li H, Zhang Y, Dai S (2012) Mechanisms of plant salt response: insights from proteomics. *Journal of Proteome Research* 11: 49-67.
- Zhao F, Zhang H (2006) Expression of Suaeda salsa glutathione S-transferase in transgenic rice resulted in a different level of abiotic stress resistance. *The Journal of Agricultural Science* 144: 547-554.
- Zhao X, Tan HJ, Liu YB, Li XR, Chen GX (2009) Effect of salt stress on growth and osmotic regulation in *Thellungiella* and *Arabidopsis* callus. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 98: 97-103.
- Zhu JK (2001) Plant salt tolerance. *Trends in Plant Science* 6: 66-71.
- Zhu JK (2003) Regulation of ion homeostasis under salt stress. *Current Opinion in Plant Biology* 6: 441-445.

10. Publikációs lista

Tudományos közlemények referált folyóiratokban

(A *-gal jelölt közlemények közvetlenül kapcsolódnak a PhD értekezéshez)

***Horváth E**, Csiszár J, Gallé Á, Poór P, Szepesi Á, Tari I (2015) Hardening with salicylic acid induces concentration-dependent changes in abscisic acid biosynthesis of tomato under salt stress. *Journal of Plant Physiology* 183: 54-63. **IF (2014): 2,557**

***Horváth E**, Bela K, Papdi Cs, Gallé Á, Szabados L, Tari I, Csiszár J (2015) The role of *Arabidopsis* glutathione transferase F9 gene under oxidative stress in seedlings. *Acta Biologica Hungarica* 66 (4). (accepted) **IF (2014): 0,589**

Tari I, Csiszár J, **Horváth E**, Poór P, Takács Z, Szepesi Á (2015) Alleviation of the adverse effect of salt stress in tomato by salicylic acid shows time- and organ-specific antioxidant response. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* (doi/10.1515/abcsb-2015-0008). **IF (2014): 0,662**

Bela K, **Horváth E**, Gallé Á, Szabados L, Tari I, Csiszár J (2015) Plant glutathione peroxidases: Emerging role of the antioxidant enzymes in plant development and stress responses. *Journal of Plant Physiology* 176: 192-201. **IF (2014): 2,557**

*Csiszár J, **Horváth E**, Váry Zs, Gallé Á, Bela K, Brunner Sz, Tari I (2014) Glutathione transferase supergene family in tomato: salt stress-regulated expression of representative genes from distinct GST classes in plants primed with salicylic acid. *Plant Physiology and Biochemistry* 78: 15-26. **IF: 2,756**

Csiszár J, Gallé Á, **Horváth E**, Dancsó P, Gombos M, Váry Zs, Erdei L, Györgyey J, Tari I (2012) Different peroxidase activities and expression of abiotic stress-related peroxidases in apical root segments of wheat genotypes with different drought stress tolerance under osmotic stress. *Plant Physiology and Biochemistry* 52: 119-129. **IF: 2,775**

***Horváth E**, Gallé Á, Szepesi Á, Tari I, Csiszár J (2011) Changes in aldehyde oxidase activity and gene expression in *Solanum lycopersicum* L. shoots under salicylic acid pre-treatment and subsequent salt stress. *Acta Biologica Szegediensis* 55: 83-85.

Gémes K, Poór P, **Horváth E**, Kolbert Zs, Szopkó D, Szepesi Á, Tari I (2011) Cross-talk between salicylic acid and NaCl-generated reactive oxygen species and nitric oxide in tomato during acclimation to high salinity. *Physiologia Plantarum* 142: 179-192.

IF: 3,112

*Csiszár J, Váry Zs, **Horváth E**, Gallé Á, Tari I (2011) Role of glutathione transferases in the improved acclimation to salt stress in salicylic acid-hardened tomato. *Acta Biologica Szegediensis* 55: 67-68.

Horváth E (2009) Protoplast isolation from *Solanum lycopersicum* L. leaf tissues and their response to short-term NaCl treatment. *Acta Biologica Szegediensis* 53: 83-86.

Szepesi Á, Csiszár J, Gémes K, **Horvath E**, Horvath F, Simon ML, Tari I (2009) Salicylic acid improves acclimation to salt stress by stimulating abscisic aldehyde oxidase activity and abscisic acid accumulation, and increases Na⁺ content in leaves without toxicity symptoms in *Solanum lycopersicum* L. *Journal of Plant Physiology* 166: 914-925.

IF: 2,500

Szepesi Á, Poór P, Gémes K, **Horváth E**, Tari I (2008) Influence of exogenous salicylic acid on antioxidant enzyme activities in the roots of salt stressed tomato plants. *Acta Biologica Szegediensis* 52: 199-200.

Benyújtott kézirat (2015): **Horváth E**, Brunner Sz, Bela K, Papdi Cs, Szabados L, Tari I, Csiszár J. Exogenous salicylic acid-triggered changes in the glutathione transferases and peroxidases are key factors in the successful salt stress acclimation of *Arabidopsis thaliana*.

Konferencia kiadványban megjelent absztraktok

Konferencia előadások

Csiszár J, Bela K, **Horváth E**, Gallé Á, Brunner Sz, Szabados L, Ayaydin F, Tari I (2015) Oxidative stress responses – The redox regulated aspect and molecular investigations. HUSRB/1203/221/173 "PLANTTRAIN" Joint development of higher education and training programmes in plant biology in support of knowledge-based society, Opening Conference. 2015.04.20-2015.04.21. Szeged, Magyarország. Book of Abstracts p. 10.

Tari I, Borbély P, Csiszár J, Gémes K, **Horváth E**, Kovács J, Poór P, Szepesi Á, Takács Z (2014) Sóstressz tolerancia fokozása szalicilsavval paradicsomban: az abszcizinsav szerepe. Paál Árpádtól a molekuláris növénybiológiáig: Tudományos ülés Paál Árpád születésének

125. és intézetigazgatói kinevezésének 85. évfordulója alkalmából. 2014.12.16. Budapest, Magyarország. p. 55 (ISBN:978-963-284-561-6)

Csiszár J, Brunner Sz, Bela K, **Horváth E**, Lehotai N, Feigl G, Papdi Cs, Perez I, Kovács H, Szabados L, Ayaydin F (2014) Redox homeostasis in plants - its significance, components and evaluation. 11th Congress of the Hungarian Society of Plant Biology. 2014.09.27-2014.09.29. Szeged, Magyarország. Book of Abstracts S1-07.

Horváth E, Kolbert Zs, Lehotai N, Feigl G, Tari I, Erdei L (2013) Role of reactive oxygen and nitrogen species in poplar plants during abiotic stresses. IPA OXIT Conference Oxidative stress tolerance in plants: from models to trees HUSRB/1002/214/036: 2013.11.14. Novi Sad, Szerbia. Book of Abstracts p. 6.

Horváth E, Brunner Sz, Bela K, Csenki D, Papdi Cs, Szabados L, Tari I, Csiszár J (2013) Hosszútávú szalicilsav kezelés hatásának vizsgálata lúdfű növényekben. A Magyar Szabadgyök-Kutató Társaság VII. Konferenciája. 2013.08.29-2013.08.31. Debrecen, Magyarország. Program és Absztraktok p. 19.

Horváth E, Kolbert Zs, Lehotai N, Feigl G, Tari I, Erdei L (2012) Role of reactive oxygen- and nitrogen species in poplar plants during zinc, copper and polyethylene glycol treatments. HUSRB/1002/214/036 "OXIT" Characterization and oxidative stress tolerance in plants: from models to trees. Interim conference. 2012.11.20. Szeged, Magyarország. Programme and Abstracts p. 11.

Tari I, Gémes K, **Horváth E**, Poór P, Szepesi Á, Csiszár J (2011) Regulation of antioxidant defence systems and abscisic acid biosynthesis by salicylic acid in tomato roots. 10th International Conference on Reactive Oxygen and Nitrogen Species in Plants. 2011.07.05-2011.07.08. Budapest, Magyarország. p. 37.

Tari I, Gémes K, **Horváth E**, Poór P, Szepesi Á, Csiszár J (2011) A szalicilsav szerepe a paradicsom sóstressz rezisztenciájának fokozásában: interakció az abszcizinsav és az etilén jelátviteli folyamataiban. A Magyar Növénybiológiai Társaság X. Kongresszusa. 2011.08.31.-2011.09.02. Szeged, Magyarország.

Csiszár J, Gallé Á, **Horváth E**, Dancsó P, Gombos M, Benyó D, Kolbert Zs, Secenji M, Györgyey J, Tari I, Erdei L (2010) Peroxidase activities and expression level during osmotic stress in roots of wheat genotypes differing in drought tolerance. ISIRR 2010 - 11th International Symposium "Interdisciplinary Regional Research": Hungary-Romania-Serbia. 2010.10.13-2010.10.15. Szeged, Magyarország. p. 24. (ISBN:978-963-508-600-9)

Tari I, Csiszár J, Gallé Á, Guóth A, **Horváth E**, Poór P (2009) Az abszcizinsav szerepe vízpotenciált megtartó és vízpotenciál csökkenést toleráló búza genotípusok szárazságtűrési stratégiájában. Miniszimpozium a Debreceni Egyetem Növényteni Tanszéke megalakulásának 80. évfordulójára, 2009.11.13-2009.11.14. Debrecen, Magyarország.

Tari I, Csiszár J, Gémes K, **Horváth E**, Szepesi Á, Poór P, Sulyok Z (2008) A szalicilsav, mint allelopatikus anyag. IX. Magyar Növénybiológiai Kongresszus. 2008.07.7-2008.07.09. Szeged, Magyarország.

Konferencia poszterek

Bela K, **Horváth E**, Kovács H, Csiszár J (2015) Importance of *Arabidopsis thaliana* glutathione peroxidases under drought and heat stresses. VISCEA, Plant Abiotic Stress Tolerance III. 2015.06.29-2015.07.01. Bécs, Ausztria. Programme and Abstracts p. 57.

Csiszár J, **Horváth E**, Bela K, Brunner Sz, Lehotai N, Feigl G, Papdi Cs, Perez I, Kovács H, Szabados L, Ayaydin F, Tari I (2015) Redox homeostasis in salt treated *Arabidopsis thaliana* primed with salicylic acid. VISCEA, Plant Abiotic Stress Tolerance III. 2015.06.29-2015.07.01. Bécs, Ausztria. Programme and Abstracts p. 55.

Horváth E, Bela K, Csomor G, Brunner Sz, Papdi Cs, Szabados L, Csiszár J (2015) Modulation of salt stress responses in *Arabidopsis thaliana* glutathione transferase mutants. VISCEA, Plant Abiotic Stress Tolerance III. 2015.06.29-2015.07.01. Bécs, Ausztria. Programme and Abstracts p. 41.

Horváth E, Bela K, Brunner Sz, Papdi Cs, Szabados L, Csiszár J (2014) Salt stress responses of *Arabidopsis* glutathione transferase mutants. 11th Congress of the Hungarian Society of Plant Biology. 2014.09.27-2014.09.29. Szeged, Magyarország. Book of Abstracts p. 43.

Bela K, **Horváth E**, Kovács H, Csiszár J (2014) Role of glutathione peroxidases in maintenance of redox homeostasis under drought and heat stresses in *Arabidopsis thaliana*. 11th Congress of the Hungarian Society of Plant Biology. 2014.09.27-2014.09.29. Szeged, Magyarország. Book of Abstracts p. 38.

Horváth E, Brunner Sz, Bela K, Csenki D, Papdi Cs, Szabados L, Tari I, Csiszár J (2013) The influence of salicylic acid pre-treatments on the salt stress response of *Arabidopsis thaliana*. Oxidative stress and cell death in plants: Mechanisms and implications. 2013.07.26-2013.07.28. Firenze, Olaszország. Programme and Abstract Book pp. 40-41.

Csiszár J, **Horváth E**, Váry Zs, Gallé Á, Szepesi Á, Brunner Sz, Tari I (2012) Role of glutathione transferases in the hardening effect of salicylic acid in tomato. VIPCA II. Plant Abiotic Stress Tolerance II. 2012.02.22-2012.02.25. Wien, Ausztria. Paper 91.

Horváth E, Váry Zs, Brunner Sz, Gallé Á, Gémes K, Tari I, Csiszár J (2012) Hardening effect of salicylic acid - role of glutathione transferases in the improved stress tolerance. The 10th International Ph.D. Student Conference on Experimental Plant Biology. 2012.09.03-2012.09.05. Brno, Csehország. Book of Abstract p. 99.

Csiszár J, Gallé Á, **Horváth E**, Dancsó P, Pintér B, Gombos M, Váry Zs, Erdei L, Györgyey J, Tari I (2011) Differences in growth, H₂O₂ production, peroxidase activity and peroxidase transcript amounts during osmotic stress in roots of two wheat genotypes. 1st Congress of Cereal Biotechnology and Breeding. 2011.05.24-2011.05.27. Szeged, Magyarország. Book of Abstracts pp. 73-74.

Csiszár J, Váry Zs, **Horváth E**, Gallé Á, Szepesi Á, Gémes K, Poór P, Tari I (2011) Enhanced expression and activities of some GST isoenzymes during salt stress and their putative role in the elimination of reactive oxygen species in salicylic acid-primed tomato. 10th International Conference on Reactive Oxygen and Nitrogen Species in Plants. 2011.07.05-2011.07.08. Budapest, Magyarország. p. 156.

Csiszár J, Váry Zs, **Horváth E**, Gallé Á, Gémes K, Tari I (2011) Role of glutathione transferases in the hardening effect of salicylic acid in tomato. 2nd International Training Course Alumni Conference: Multidisciplinary Approaches to Biological Problems. 2011.11.01-2011.11.03. Szeged, Magyarország. p. 9.

Horváth E, Gallé Á, Dancsó P, Benyó D, Györgyey J, Tari I, Csiszár J (2011) H₂O₂ content, peroxidase activities and expression of stress-related peroxidases and their possible relationship under osmotic stress in two wheat genotypes differing in drought tolerance. 7th International Symposium: Structure and Function of Roots. 2011.09.05-2011.09.09. Nový Smokovec, Szlovákia. pp. 74-75.

Poór P, **Horváth E**, Gallé Á, Csiszár J, Tari I (2011) Salt stress- and salicylic acid-induced programmed cell death in tomato leaves. Experimental Plant Biology in 3P: Past, Present, Perspectives. 2011.09.06-2011.09.09. Wrocław, Lengyelország. p. 75.

Csiszár J, Poór P, Gallé Á, Benyó D, **Horváth E**, Kolbert Zs, Erdei L, Tari I (2010) Role of H₂O₂, NO and peroxidases in the elongation growth of roots. Molecular Aspects of Plant Development Conference. 2010.02.23-2010.02.26. Wien, Ausztria. p. 45.

Horváth E, Gallé Á, Váry Zs, Szepesi Á, Csiszár J, Tari I (2010) Absciscic aldehyde oxidase activity and gene expression levels in salicylic acid pre-treatment and subsequent NaCl stress. ISIRR 2010 - 11th International Symposium "Interdisciplinary Regional Research": Hungary-Romania-Serbia. 2010.10.13-2010.10.15. Szeged, Magyarország. p. 93. (ISBN: 978-963-508-600-9)

Egyéb közlemények

Bela K, **Horváth E**, Kovács H, Brunner Sz, Csiszár J (2014) Investigation of the role of *Arabidopsis thaliana* glutathione peroxidases in drought, chilling and heat stress responses using insertion mutants. Tavaszí Szél 2014/Spring Wind 2014 Konferenciakötet V.. Konferencia helye, ideje: Debrecen, Magyarország, 2014.03.21-2014.03.23. (Doktoranduszok Országos Szövetsége, Biológiai és Kémiai Tudományok Osztálya) pp. 582-590. (ISBN:978-963-89560-9-5)

Bela K, Mainé Csiszár J, **Horváth E**, Brunner Sz, Zsigmond L (2013) Glutathione peroxidázok ozmotikus stresszválaszban betöltött szerepének tanulmányozása *Arabidopsis thaliana* inszerciós mutánsokkal. Tavaszí Szél, 2013: Spring wind, 2013. 659 p. Sopron, Magyarország, 2013.05.31-2013.06.02. Budapest: Doktoranduszok Országos Szövetsége, 2013. pp. 350-356. 1-2. kötet (ISBN: 978-963-89560-2-6)

Horváth E, Kolbert Zs, Lehotai N, Feigl G, Tari I, Erdei L (2013) Role of reactive oxygen and nitrogen species in poplar plants during abiotic stress. HUSRB/1002/214/036 "OXIT" Characterization and oxidative stress tolerance in plants. 2013.11.14 Novi Sad, Szerbia. Book of final report pp. 63-70.

Gallé Á, Csiszár J, Kolbert Zs, Szepesi Á, Benyó D, Krastinyté V, Kisielyté N, Durbecq A, **Horváth E**, Szabó-Hevér Á, Mesterházy Á, Tari I, Erdei L (2012) Investigation of oxidative stress responses in wheat flag leaves after inoculation with *Fusarium* species. HURO/0901/147/2.2.2 Szeged - Timisoara Axis for the Safe Food and Feed SZETISA1. 2012.05.15-2012.05.16. Szeged, Magyarország. Book of Final Report. pp. 78-91.

Szepesi Á, Gallé Á, Csiszár J, Brunner Sz, Benyó D, Feigl G, **Horváth E**, Szabó-Hevér Á, Mesterházy Á, Tari I, Erdei L (2012) Non-enzymatic antioxidant responses of wheat flag leaves after *Fusarium culmorum* and *F. graminearum* infections. HURO/0901/147/2.2.2

Szeged - Timisoara Axis for the Safe Food and Feed SZETISA1. 2012.05.15-2012.05.16. Szeged, Magyarország. Book of Final Report pp. 74-77.

Díjak és elismerések

XXIX. Országos Tudományos Diákköri Konferencia, 2009. – II. díj

Sófi József a Szegedi Tehetségekért Alapítvány, Biológia Doktori Iskola kategóriában kihirdetett pályázat – II. helyezés

Nemzeti Kiválóság Program – Hazai hallgatói, illetve kutatói személyi támogatást biztosító rendszer kidolgozása és működtetése országos és konvergencia program Ösztöndíj, 2013-2014.

11. Köszönetnyilvánítás

Köszönöm témavezetőm *Dr. Csiszár Jolánnak*, hogy csatlakozhattam a munkacsoporthoz és szeretném megköszönni az évek során nyújtott segítséget, a tanácsait és a bizalmat, hogy mindig támogatott és mellettem állt szakmai és emberi vonatkozásban egyaránt! Köszönöm, hogy lehetővé tette a munkám befejezését a Növénybiológiai Tanszéken!

Köszönettel tartozom *Dr. Tari Irma Tanárnőnek* volt szakvezetőmnek, hogy elindított a növényélettani kutatások útján és irányt mutatott a munkám folytatásához a későbbiekben, pedig mint tanszékvezető lehetővé tette a munkám elvégzését a Növénybiológiai Tanszéken!

Köszönöm volt tanszékvezetőnknek, *Dr. Erdei László Tanár Úrnak*, hogy lehetővé tette a munkám megkezdését a Növénybiológiai Tanszéken és köszönöm az évek során nyújtott támogatását!

Szeretném megköszönni *Dr. Gallé Ágnesnek*, hogy bevezetett a kvantitatív RT-PCR és a molekuláris munka rejtelseibe és köszönet a támogatásért és kedvességért, amit az évek során kaptam!

Köszönöm munkacsoportunk jelenlegi és volt tagjainak, *Bela Krisztinek*, *Benyó Daninak* és *Brunner Szilvinek* a segítséget, amit a munkám elvégzéséhez nyújtottak! Daninak külön köszönöm a növényekről készített csodás képeket, Krisztinek pedig, hogy bármikor készen állt segíteni!

Köszönöm a *PhD szoba* valamennyi volt és jelenlegi lakójának a segítséget és a jókedvet, ami végigkísért az évek során!

Köszönettel tartozom *Dr. Ördög Attilának* az ICP mérések elvégzéséért!

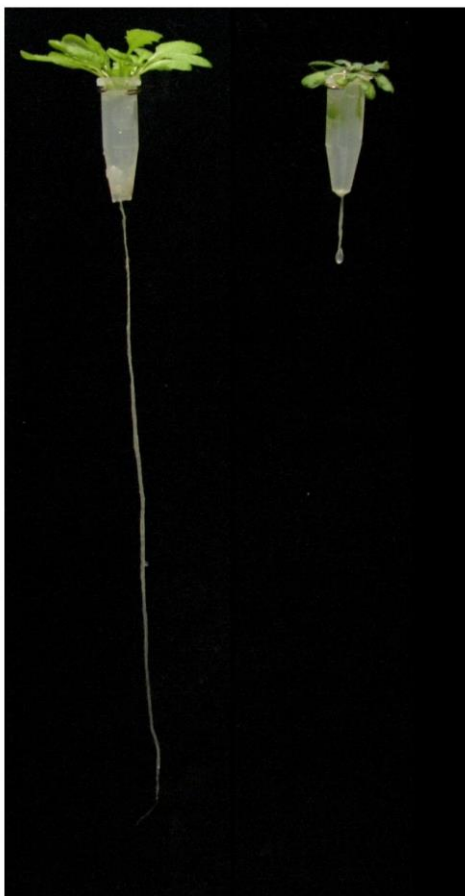
Köszönöm valamennyi *szakdolgozónknak* és a Növénybiológiai Tanszék minden munkatársának az elmúlt évek során a munkához nyújtott felbecsülhetetlen segítséget, és a jó hangulatban telt napokat!

Köszönöm az *SzBK, Arabidopsis Molekuláris Genetikai Csoport* valamennyi volt és jelenlegi munkatársának a munkám elvégzéséhez nyújtott segítséget, és hogy rendelkezésünkre bocsátották a kísérletekhez használt *Arabidopsis* mutáns magokat.

Tiszta szívből köszönöm *családomnak* az évek során nyújtott támogatásukat, gondoskodásukat és kitartásukat! Köszönöm, hogy mindig mellettem álltatok, biztatok bennem és erőt adtatok a munkám elvégzéséhez!

Mellékletek

1. melléklet: Hét hetes kontroll (0 M SA) és 10^{-4} M SA kezelt növények két héttel a SA előkezelés megkezdése után.



2. melléklet: Lúdfű növényeken végzett QRT-PCR vizsgálatokban alkalmazott primer párok.

A lúdfű gén neve	A dolgozatban használt rövidítés	Lúdfű genomban található lókuszon azonosítója	Primer pár szekvenciája (5'-3')
Glutation transzferáz phi 8	<i>AtGSTF8</i>	<i>At2g47730</i>	F: ACGGTGATTTGACGCTTTTC R: GGTTGCCTTGACTTTCTTGC
Glutation transzferáz phi 9	<i>AtGSTF9</i>	<i>At2g30860</i>	F: GGGAAAACCGTTGAAGACAG R: ATGACTGATGCGAACATTATG
Glutation transzferáz tau 19	<i>AtGSTU19</i>	<i>At1g78380</i>	F: ATGATGCTCAGAGGAAGGTG R: ATAGCCAAAGTCATCGCCAC
Glutation transzferáz tau 24	<i>AtGSTU24</i>	<i>At1g17170</i>	F: AAGGTGAGGAGCAAGAAGCA R: ACATACCCAAAAGTTTCGTCTC
Glutation transzferáz tau 25	<i>AtGSTU25</i>	<i>At1g17180</i>	F: AGCAAAACCCCACTTCTTCC R: CTCCCCAAATCAACCTCGC
18S riboszómális RNS	<i>18S rRNS</i>	<i>At3g41768</i> <i>At2g01010</i>	F: ATACGTGCAACAAACCC R: CTACCTCCCCGTGTCA
Aktin 2/8 gén	<i>aktin2</i>	<i>At3g18780</i>	F: GGTAACATTGTGCTCAGTGGTGG R: AACGACCTTAATCTTCATGCTGC

3. melléklet: Paradicsom növényeken végzett QRT-PCR vizsgálatokban alkalmazott primer párok.

A gén neve	A dolgozatban használt rövidítés	Paradicsom genomban található lókuszon azonosítója	Primer pár szekvenciája (5'-3')
Zeaxantin epoxidáz	SIZEP	Solyc02g090890	F: GAAGAGGTCGTGTTACATTGC R: TGCTTTTCAAGTTCCAGTGC
9- <i>cis</i> -epoxikarotinoid dioxigenáz 1	SINCED1	Solyc07g056570	F: ACATAATAGGCAAAGTCTCA R: GTTGAAGAAGAAGAGGAGTT
Karotinoid hasító dioxigenáz 1B	SICCD 1B	Solyc01g087260	F: CCGATGAAACTCCTCCACTT R: GCCATCTCCATCAAACCAAT
Karotinoid hasító dioxigenáz 1A	SICCD 1A	Solyc01g087250	F: GGGAGGAGGGAGATGAAGTC R: TCTAGGTCTGGGTTTACAAGG
Aldehid oxidáz 1	SIAO1	Solyc11g071620	F: CCAGGCACAAACACAATCAA R: GTCGTAAATAATATCAGACTG
Aldehid oxidáz 2	SIAO2	Solyc01g088170	F: TTCCAGACGAAGACAACCTGC R: GACAAGTGGCAATCACACGA
Aldehid oxidáz 3	SIAO3	Solyc11g071600	F: AGTTGGCAGTGTCTCAAGC R: GACTTCATACACGATTGGCACT
Glutation transzferáz tau 6	SIGSTU6	Solyc01g099590	F: CTCGTTTTGTTGATGGCAAG R: TCCCTCTGCTTTTGTCTCTCC
Glutation transzferáz tau 23	SIGSTU23	Solyc07g056470	F: GGTGATTTTGTGATTTTGG R: AGCAGAGGGCTTTTGTTCG
Glutation transzferáz tau 24	SIGSTU24 (BI-GST)	Solyc07g056480	F: TTGCGAGTCTATTATTGGAGTTGA R: GGATCAGAAGGGAGGAAAGG
Glutation transzferáz tau 26	SIGSTU26	Solyc07g056500	F: TGCTAGGTTTTGGGCTGATT R: TTGGCTGTTTTGTGCTCTTC
Glutation transzferáz phi 4	SIGSTF4	Solyc09g074850	F: CGTGTGAGTGTATGGTGTGCT R: CATCTTCTCCAACCCCTTCA
Glutation transzferáz phi 5	SIGSTF5	Solyc12g094430	F: CCGATCTCTCTCACCTTCCA R: TGCTCTGTCTGTCCCGTTC
Glutation transzferáz zéta 2	SIGSTZ2	Solyc01g102660	F: CACATTGGTGGATGGAGATG R: ATGCTCGCTGGGATACTT
Glutation transzferáz théta 2	SIGSTT2	Solyc08g080900	F: GGTGAGTTCGTCGGAGTTAATTT R: CGAGAAGGTTGGGACATACG
Dehidroaszkorbát reduktáz 2	SIDHAR2	Solyc05g054760	F: TTCCTACCTTCGTCTCATTTCTG R: AACAAACATTCTGCCCATTTGA
Dehidroaszkorbát reduktáz 5	SIDHAR5	Solyc11g011250	F: GGTGCCAGATTCAGATGTCA R: CGGAGTCTTTGCTTTTCAGG
Glutation transzferáz lambda 3	SIGSTL3	Solyc10g084400	F: GTGCCCTCTCTGGAACACA R: AACGGACCCTCAAAGTTGC
Elongációs factor 1 α alegysége	EF1 α	Solyc06g005060	F: GGAAGTTGAGAAGGAGCCTAAG R: CAACACCAACAGCAACAGTCT
Glicerinaldehid-3-foszfát dehidrogenáz	GAPDH	Solyc05g014470	F: ACAACTTAACGGCAAATTGACTGG R: TTACCCTCTGATTCTCCTTGATTG

4. melléklet: A vizsgált lúdfű GST gének 5' szabályozó régiójában található nukleotid motívumok és a hozzájuk tartozó leírások. A CAAT doboz és TATA doboz motívumokat nem tartalmazza a táblázat, mivel minden vizsgált *AtGST* gén promóter régiójában megtalálhatóak voltak.

Kapcsolódó fejlődési állapot/környezeti hatás	Motívum magyar neve (angol név)	Gén neve	Pozíció	Szekvencia	A motívum várható funkciója	Hivatkozás
Gyakori <i>cisz</i> -ható elem/enhanszer	5UTR Py-gazdag motívum (5UTR Py-rich stretch) motif I	AtGSTF8	731 (-)	TTTCTTCTCT	magas transzkript szintet biztosító <i>cisz</i> -ható elem	Daraseia és mtsai. 1996
		AtGSTF9	120 (-)	TTTCTTCTCT		
		AtGSTU19	854 (+)	TTTCTTCTCT		
		AtGSTU25	1092 (-)	TTTCTTCTCT		
		AtGSTF9	1356 (-)	gGTACGTGGCG	<i>cisz</i> -ható szabályozó elem, gyökér specifikus	Salinas és mtsai. 1992
Fejlődés/merisztéma kapcsolt	AC-I	AtGSTF9	360 (+), 445 (+)	CCCACCTACC	megemelt xilém és alacsony floém kifejeződést biztosító elem; szíromlevél kifejeződést fokozó	Hatton és mtsai. 1995
	AC-II	AtGSTF9	444 (+), 1329 (+)	(C/T)T(T/C)(C/T)(A/C)(A/C)C(A/C)A(A/C)C(C/A)(C/A)C	megemelt xilém és alacsony floém kifejeződést biztosító elem; szíromlevél kifejeződést fokozó	Hatton és mtsai. 1995
	CAT-doboz (CAT-box)	AtGSTU24	403, 986 (-)	GCCACT	merisztémában való kifejeződéshez kapcsolt <i>cisz</i> -ható szabályozó elem	Meshi és mtsai. 2000
		AtGSTU25	883 (-)	GCCACT		
	HD-Zip 1	AtGSTU19	669 (+)	CAAT(A/T)ATTG	paliszád mezofillum sejtek differenciálódásában részt vevő elem	Harris és mtsai. 2011
	HD-Zip 2	AtGSTU19	669 (+)	CAAT(G/C)ATTG	a levél morfológia kialakulás szabályozásában részt vevő elem	Harris és mtsai. 2011
	TCCACCT-motívum (TCCACCT-motif)	AtGSTF9	445 (+)	TCCACCT	-	
		AtGSTU19	753 (+)	TCCACCT		

Mag fejlődés	AAGAA-motívum (AAGAA-motif)	AtGSTF8	883 (+)	GAAAGAA	magspecifikus kifejeződéshez kapcsolt <i>cisz</i> -ható elem	Bruce és mtsai. 1991
		AtGSTF9	1488 (+)	GAAAGAA		
		AtGSTU24	1289, 1293 (+)	GAAAGAA		
	O2-hely (O2-site)	AtGSTF8	1004 (+)	GATGACATGG	a zein anyagcsere szabályozásában résztvevő <i>cisz</i> -ható szabályozó elem	Lefèvre és mtsai. 2002
		AtGSTF9	899 (+)	GATGACATGG		
		AtGSTU19	35 (+) 639 (+) 649 (-)	GATGACATGA GTTGACGTGA GATGATGTGG		
	Skn-1_motívum (Skn-1_motif)	AtGSTF8	382 (-), 828 (-), 1005 (-), 1357 (-)	GTCAT	endospermium kifejeződéshez szükséges <i>cisz</i> -ható szabályozó elem	Washida és mtsai. 1999
		AtGSTF9	105 (+), 118 (+), 354 (+), 783 (+), 1286 (+)	GTCAT		
		AtGSTU19	36 (-), 555 (-)	GTCAT		
		AtGSTU24	160 (+)	GTCAT		
		AtGSTU25	483, 790 (+)	GTCAT		
		AtGSTF8	105 (+)	TATCCAT	<i>cisz</i> -ható szabályozó elem	Lu és mtsai. 1998
	TATCCAT/C-motívum (TATCCAT/C-motif)	AtGSTF9	905 (-)	TATCCAT		
		AtGSTU24	181 (-)	TATCCAT		
Hormon válasz	TGA-doboz (TGA-box)	AtGSTF8	1006 (+)	TGACGTGGC	auxin válasz elem része	Liu és mtsai. 1994
		AtGSTF9	70 (-)	TGACGTAA		
		AtGSTU19	676 (+), 1338 (+)	TGACGTAA		
	TGA-elem (TGA-element)	AtGSTU19	1344 (+)	AACGAC	auxin válasz elem	Schindler és mtsai. 1992
		AtGSTU25	610 (-)	AACGAC		
	CGTCA-motívum (CGTCA-motif)	AtGSTF8	784 (+), 383 (-), 835 (-), 1006 (-), 1358 (-), 1436 (-)	CGTCA	MeJA válaszban résztvevő <i>cisz</i> -ható szabályozó elem	Rouster és mtsai. 1997
		AtGSTF9	73 (+), 614 (+)	CGTCA		
		AtGSTU19	652, 913 (+), 676, 1338 (-)	CGTCA		
		AtGSTU24	976 (-)	CGTCA		

Hormon válasz	TGACG-motívum (TGACG-motif)	AtGSTU25	789 (+), 264 (-), 1226 (-)	CGTCA	MeJA válaszban résztvevő <i>cisz</i> -ható szabályozó elem	Rouster és mtsai. 1997
		AtGSTF8	383 (+), 835 (+), 1006 (+), 1358 (+), 1436 (+), 784 (-)	TGACG		
		AtGSTF9	73 (-), 614 (-)	TGACG		
		AtGSTU19	676, 1338 (+), 652, 913 (-)	TGACG		
		AtGSTU24	976 (+)	TGACG		
		AtGSTU25	264, 1226 (+), 789 (-)	TGACG		
	ERE	AtGSTF8	1264 (+)	ATTTCAAA	etilén válasz elem	Ohme-Takagi és mtsai. 1995
		AtGSTU24	84 (-)	ATTTCAAA		
	GARE-motívum (GARE-motif)	AtGSTF8	596 (+)	AAACAGA	gibberellin válasz elem	Sutliff és mtsai. 1993
		AtGSTF9	1121 (-)	TCTGTTG		
		AtGSTU19	1223 (-)	TCTGTTG		
		AtGSTU24	7 (+), 1098 (+) 785 (-)	TCTGTTG AAACAGA		
	P-doboz (P-box)	AtGSTU25	2 (+)	TCTGTTG	gibberellin válasz elem	Kim és mtsai. 1992
		AtGSTU24	1283 (-)	CCTTTTG		
	TCA-elem (TCA-element)	AtGSTF8	919 (+), 1151 (+) 1421 (-)	CAGAAAAGGA GAGAAGAATA	szalicilsav válaszban résztvevő <i>cisz</i> - ható elem (több mint egy)	Goldsbrough és mtsai. 1993
		AtGSTF9	471 (+), 1400 (+) 513 (+)	CCATCTTTTT CAGAAAAGGA		
	ABRE	AtGSTU25	333 (+)	GAGAAGAATA	abszcizinsav válaszban résztvevő <i>cisz</i> -ható elem	Hobo és mtsai. 1999
		AtGSTF8	1008 (+)	ACGTGGC		
		AtGSTF9	1357 (-) 1367 (-)	ACGTGGC GACACGTGGC		
		AtGSTU19	52 (+) 54 (+)	GCAACGTGTC TACGTG		
Abiotikus/ Biotikus stressz	ARE	AtGSTF8	1210 (+), 289 (-)	TGGTTT	anaerob indukcióban esszenciális <i>cisz</i> -ható szabályozó elem	Walker és mtsai. 1987

Abiotikus/ Biotikus stressz	HSE	AtGSTF9	461 (-)	TGGTTT	hőstressz válaszban résztvevő <i>cisz</i> - ható elem	Gurley és Key 1991
		AtGSTU19	1070 (+)	TGGTTT		
		AtGSTU24	397, 665 (+), 510 (-)	TGGTTT		
		AtGSTU19	1462 (+)	AAAAAATTTC		
	LTR	AtGSTF9	1259 (+)	CCGAAA	alacsony hőmérséklet válaszban résztvevő <i>cisz</i> -ható elem	Dunn és mtsai. 1998
		AtGSTU19	902 (+)	CCGAAA		
		AtGSTU24	778 (+)	CCGAAA		
	MBS	AtGSTF8	1174 (-)	TAAGT	szárazság indukálhatóságban résztvevő MYB kötőhely	Yamaguchi- Shinozaki és Shinozaki 1994
		AtGSTU19	313, 724, 972 (-) 1081 (+)	TAAGT CAAGT		
		AtGSTU24	269 (+), 1335 (+), 775 (-)	CAAGT CGGTCA		
		AtGSTF8	853 (-)	ATTTTCTTCA		
	TC-gazdag ismétlődések (TCA-rich repeats)	AtGSTF9	422 (+)	ATTCTCTAAC	védekezésben és stresszválaszban résztvevő <i>cisz</i> -ható elem	Itzhaki és Woodson 1993
		AtGSTU19	161 (-), 875 (+) 977 (+)	ATTTTCTTCA GTTTTCTTAC		
		AtGSTU24	667 (+), 334 1293 (-)	GTTTTCTTAC		
		AtGSTU25	512 (-)	ATTTTCTCCA		
	Box-W1	AtGSTF9	841 (+), 916 (+)	TTGACC	Gomba elicitor válasz elem	Du és Chen 2000
		AtGSTU19	1078 (-), 1220 (-)	TTGACC		
		AtGSTU25	1407 (+), 917 (-)	TTGACC		
	EIRE	AtGSTU25	326 (-)	TTCGACC	elicitor válasz elem	Fukuda és Shinshi 1994
	ELI-box3	AtGSTF8	1207 (-)	AAACCAATT	elicitor válasz elem	Gough és mtsai. 1995
	W doboz (W box)	AtGSTF9	841 (+), 916 (+)	TTGACC	védekezési-, sebzés- és patogén válasz. WRKY típusú transzkripció faktort köt	Yu és mtsai. 2001
		AtGSTU19	1078, 1220 (-)	TTGACC		
		AtGSTU25	1407 (+), 917 (-)	TTGACC		

Fényválasz/ cirkadián	3-AF1 kötő hely (3-AF1 binding site)	AtGSTU19	1463 (-)	AAGAGATATTT	fényválasz elem	Lam és mtsai. 1990
	AE-doboz (AE-box)	AtGSTU24	103 (+) 937 (+)	AGAAACTT AGAAACAA	fényválaszt szabályozó rész	
		AtGSTU25	110 (+), 1080 (+)	AGAAACTT		Park és mtsai. 1996
	ACE	AtGSTF9	820 (-)	AAAACGTTTA	fényválaszban résztvevő <i>cisz</i> -ható elem	Feldbrugge és mtsai. 1996
		AtGSTU24	419 (+)	AAAACGTTTA		
		AtGSTU25	1257 (+)	AAAACGTTTA		
	AT1-motívum (AT1- motif)	AtGSTU25	1028 (+)	ATTAATTTTACA	fényválaszt szabályozó rész	Datta és Cashmore 1989
	ATCT-motívum (ATCT- motif)	AtGSTF8	1258 (+), 612 (-)	AATCTAATCT	fényválaszban résztvevő konzervatív DNS szabályozó rész	Argüello-Astorga és Herrera-Estrella 1996
		AtGSTF9	331 (+), 861 (+)	TCTTAC		
		AtGSTU24	686 (-)	AATCTAATCT		
		AtGSTU25	71 (-), 216 (-) 1306 (-)	AATCTAATCT AATCTGATCG		
	Box 4	AtGSTF9	84 (+), 243 (+), 1204 (+)	ATTAAT	fényválaszban résztvevő konzervatív DNS szabályozó rész	Argüello-Astorga és Herrera-Estrella 1996
		AtGSTU19	461 (+), 933 (+)	ATTAAT		
		AtGSTU25	154, 733, 941, 1051 (+)	ATTAAT		
	Box I	AtGSTF8	1265 (+)	TTTCAAA	fényválasz elem	Block és mtsai. 1990
		AtGSTF9	1053 (+)	TTTCAAA		
		AtGSTU19	471 (+)	TTTCAAA		
		AtGSTU24	36, 84, 386, 1027 (-)	TTTCAAA		
	Box II	AtGSTU24	641 (+)	TGGTAATAA	fényválasz elem része	Green és mtsai. 1988

Fényválasz/ cirkadián	Box III	AtGSTF9	318 (+)	CATTTACACT	fény-válaszban résztvevő protein kötő hely	Green és mtsai. 1988
	CATT- motívum (CATT-motif)	AtGSTU24	263, 624 (-)	GCATTC	fényválasz elem része	Argüello-Astorga és Herrera-Estrella 1996
	chs-CMA2b	AtGSTF8	208 (+)	GAACCTACACAC	fényválasz elem része	Argüello-Astorga és Herrera-Estrella 1996
	G-doboz (G-box)	AtGSTF8	1006 (+)	TGACGTGG	fényválaszban résztvevő <i>cis</i> -ható elem	Donald és mtsai. 1990
			1007 (-), 1362 (-)	CACGTC		
		AtGSTF9	385 (+)	GACATGTGGT		
			429 (+), 1324 (+), 1359 (+)	CACGTT		
			1423 (-)	CACGA		
		AtGSTU19	54 (+)	TACGTG		
			650 (+)	CACGTC		
			822 (+)	CACGTT		
			52 (-)	GACACGTAGT		
			54 (-)	CACGTA		
			59 (-)	CACGAC		
			738 (-)	CACGTT		
	GA-motívum (GA-motif)	AtGSTU25	1328 (+)	CACGTT	fényválasz elem része	Argüello-Astorga és Herrera-Estrella 1996
		AtGSTF9	186 (+)	ATAGATAA		
	GAG- motívum (GAG-motif)	AtGSTF8	926 (+)	AGAGAGT	fényválasz elem része	Argüello-Astorga és Herrera-Estrella 1996
			814 (-)	GGAGATG		
	GT1- motívum (GT1-motif)	AtGSTF9	1390 (-)	AGAGAGT	fényválasz elem	Vauterin és mtsai. 1999
		AtGSTF8	1168 (+)	GGTTAA		
		AtGSTF9	1458 (-)	GGTTAA		
		AtGSTU25	436 (-)	GGTTAA		
	I-doboz (I-box)	AtGSTF8	102 (-)	GATATGG	fényválasz elem része	Donald és mtsai. 1990
		AtGSTU19	231 (+) 442 (+)	cCATATCCAAT CTCTTATGCT		

Fényválasz/ cirkadián	LAMP-elem (LAMP- element)	AtGSTU25	210 (-)	CTTTATCA	fényválasz elem része	Grob és mtsai. 1987
	L-doboz (L-box)	AtGSTF9	360(+)	CTCACCTACCAA	fényválasz elem része	Grandbastien és mtsai. 1986
	MNF1	AtGSTU25	1323 (-)	GTGCCC(A/T)(A/T)	fényválasz elem	Yanagisawa és mtsai. 1990
	MRE	AtGSTF8	565 (+), 678 (-)	AACCTAA	fényválaszban résztvevő MYB kötő hely	Feldbrugge és mtsai. 1997
		AtGSTU24	1182 (+), 30 (-)	AACCTAA		
	Pc-CMA2a	AtGSTU25	747 (-)	AACCTAA	fényválasz elem része	Argüello-Astorga és Herrera-Estrella 1996
		AtGSTF9	831 (-)	CAACCAATGAAA A		
	Sp1	AtGSTF8	1 (-)	GGGCGG	fényválasz elem	Menkens és mtsai. 1995
		AtGSTF9	984 (-)	CC(G/A)CCC		
	TCT- motívum (TCT-motif)	AtGSTU24	174 (-)	CC(G/A)CCC	fényválasz elem része	Argüello-Astorga és Herrera-Estrella 1996
		AtGSTU19	981 (+), 19 (-)	TCTTAC		
	TGG- motívum (TGG-motif)	AtGSTU25	545 (+)	TCTTAC	fényválasz elem része	Argüello-Astorga és mtsai. 1998
		AtGSTU25	162 (+)	GGTTGCCA		
	cirkadián (circadian)	AtGSTF8	22 (+), 348 (+)	CAANNNNATC	a cirkadián szabályozásában résztvevő <i>cis</i> -ható szabályozó elem	Piechulla és mtsai. 1998
		AtGSTU19	989, 1430 (+), 383 (-)	CAANNNNATC		
		AtGSTU24	211 (-)	CAANNNNATC		
		AtGSTU25	1462 (+)	CAAAGATATC		

5. melléklet: A vizsgált paradicsom GST gének 5' szabályozó régiójában található nukleotid motívumok és a hozzájuk tartozó leírások. A CAAT doboz és TATA doboz motívumokat nem tartalmazza a táblázat, mivel minden vizsgált *SIGST* gén promóter régiójában megtalálhatóak voltak.

Kapcsolódó fejlődési állapot/környezeti hatás	Motívum magyar neve (angol név)	Gén neve	Pozíció	Szekencia	A motívum várható funkciója	Hivatkozás
Gyakori <i>cisz</i> -ható elem/enhanszer	5UTR Py-gazdag motívum (5UTR Py-rich stretch)	SIGSTF5	853 (+)	TTTCTTCTCT	magas transzkript szintet biztosító <i>cisz</i> -ható elem	Daraselia és mtsai. 1996
		SIGSTZ2	545 (-), 1054 (-)	TTTCTTCTCT		
		SIGSTL3	773 (-)	TTTCTTCTCT		
	A-doboz (A-box)	SIGSTU26	289 (-)	CCGTCC	=TATA doboz	Logemann és mtsai. 1995
	TA-gazdag régió (TA-rich region)	SIGSTT2	5 (+)	CCGTCC		
Fejlődés/merisztéma kapcsolt		SIGSTU24	1407, 1411, 1409 (+)	TATATATATATAT ATATATA	enhanszer	
	CAT-doboz (CAT-box)	SIGSTF5	738 (+)	GCCACT	merisztémában való kifejeződéshez kapcsolt <i>cisz</i> -ható szabályozó elem	Meshi és mtsai. 2000
		SIGSTT2	128 (-)	GCCACT		
	CCGTCC-doboz (CCGTCC-box)	SIGSTU26	289 (-)	CCGTCC	merisztéma specifikus aktiváláshoz kapcsolt <i>cisz</i> -ható szabályozó elem	Meshi és mtsai. 2000
		SIGSTT2	5 (+)	CCGTCC		
	HD-Zip 1	SIGSTF5	42 (+)	CAT(A/T)ATTG	paliszád mezofillum sejtek differenciálódásában részt vevő elem	Harris és mtsai. 2011
	HD-Zip 2	SIGSTF5	42 (+)	CAAT(G/C)ATTG	a levél morfológia kialakulás szabályozásában részt vevő elem	Harris és mtsai. 2011
	OCT	SIGSTT2	486 (-)	CGCGGATC	merisztéma specifikus aktiváláshoz kapcsolt <i>cisz</i> -ható szabályozó elem	Terada és mtsai. 1995
	OBP-1 hely (OBP-1 site)	SIGSTL3	61 (-)	TACACTTTTGG	<i>cisz</i> -ható szabályozó elem	Chen és mtsai. 1996

Fejlődés/ merisztéma kapcsolt	Növényi AP- 2-szerű (Plant_AP-2- like)	SIGSTU23	1488 (+)	CGACCAGG	-	
	TCCACCT- motívum (TCCACCT- motif)	SIDHAR5 SIGSTL3	118 (-) 1243 (-)	TCCACCT TCCACCT	-	
Mag fejlődés	AAGAA- motívum (AAGAA- motif)	SIGSTU6	134 (-) 682 (-)	gGTAAAGAAA GAAAGAA	magspecifikus kifejeződéshez kapcsolt <i>cisz</i> -ható elem	Bruce és mtsai. 1991
		SIGSTU24	665 (+) 1467 (-)	gGTAAAGAAA GAAAGAA		
		SIGSTF4	1053 (+), 1287 (-)	GAAAGAA		
		SIGSTF5	721 (-)	gGTAAAGAAA		
		SIDHAR2	279 (-)	gGTAAAGAAA		
		SIGSTZ2	777 (-)	GAAAGAA		
	ATGCAAAT motívum (ATGCAAAT motif)	SIGSTL3	287 (-)	GAAAGAA	TGAGTCA motívumhoz kapcsolódó <i>cisz</i> -ható szabályozó elem	
		SIGSTU23	104 (-)	ATACAAAT		
		SIGSTU24	436, 647 (-)	ATACAAAT		
		SIGSTU26	1276 (-)	ATACAAAT		
		SIDHAR5	716 (-), 838 (-)	ATACAAAT		
		SIGSTZ2	1345 (-)	ATACAAAT		
	GCN4_motívum (GCN4_motif)	SIGSTT2	540 (-)	ATACAAAT	endospermium-kifejeződésben résztevő <i>cisz</i> -ható szabályozó elem	Wu és mtsai. 1998
		SIGSTL3	194 (+), 1044 (-)	ATACAAAT		
		SIGSTU6	853 (+)	TGAGTCA		
		SIGSTU26	541, 676 (+), 1327 (-)	TGTGTCA		
		SIGSTZ2	312 (-)	TGTGTCA		
		SIGSTT2	130 (-) 283 (-)	CAAGCCA TGTGTCA		
	O2-hely	SIGSTL3	90 (+)	TGAGTCA	a zein anyagcsere szabályozásában résztevő <i>cisz</i> -ható szabályozó elem	Lefèvre és mtsai. 2002
		SIGSTF4	1442 (-)	GATGACATGA		

Mag fejlődés	(O2-site)	SIGSTF5	1123 (+)	GTTGACGTGA	endospermium kifejeződéshez szükséges <i>cisz</i> -ható szabályozó elem	Washida és mtsai. 1999
		SIDHAR5	1475 (-)	GATGA (C/T)(A/G)TG(A/G)		
	Skn- 1_motívum (Skn-1_motif)	SIGSTU6	174, 597, 856 (+), 943, 377 (-)	GTCAT		
		SIGSTU23	83,,447 (-)	GTCAT		
		SIGSTU24	152, 1345 (-)	GTCAT		
		SIGSTU26	1201, 1387 (+), 1326 (-)	GTCAT		
		SIGSTF4	78 (+), 86 (+), 1255 (+), 934 (-)	GTCAT		
		SIGSTF5	513 (+)	GTCAT		
		SIDHAR2	544, 1392 (-)	GTCAT		
		SIDHAR5	151 (-), 925 (+), 616 (+)	GTCAT		
		SIGSTZ2	337, 1314, (-)	GTCAT		
		SIGSTT2	447 (+), 666 (-)	GTCAT		
		SIGSTL3	79 (-), 1082 (-), 8883 (+), 1353(-)	GTCAT		
	TATCCAT/C -motívum (TATCCAT/C- motif)	SIGSTF4	907 (+)	TATCCAT	<i>cisz</i> -ható szabályozó elem	Lu és mtsai. 1998
		SIDHAR5	10 (-), 1278 (+)	TATCCAT		
		SIGSTZ2	210, 843, 599 (-)	TATCCAT		
Hormon válasz	AuxRR-core	SIGSTU24	1392 (-)	GGTCCAT	auxin válaszban résztvevő <i>cisz</i> -ható szabályozó elem	Ballas és mtsai. 1993
		SIGSTU26	880 (+)	GGTCCAT		
	TGA-elem (TGA-element) CGTCA- motívum (CGTCA-motif)	SIGSTF5	370 (+)	GGTCCAT	auxin válasz elem	Schindler és mtsai. 1992
		SIGSTU6	866 (+)	AACGAC		
		SIGSTU23	84 (-), 624 (+)	CGTCA	MeJA válaszban résztvevő <i>cisz</i> -ható szabályozó elem	Rouster és mtsai. 1997
		SIGSTU24	1235, 1334 (-)	CGTCA		
		SIGSTU26	1315 (-)	CGTCA		
		SIGSTF4	85 (+)	CGTCA		

Hormon válasz	TGACG-motívum (TGACG-motif)	SIGSTL3	1354 (-)	CGTCA	MeJA válaszban résztvevő <i>cisz</i> -ható szabályozó elem	Rouster és mtsai. 1997
		SIGSTU23	84 (+), 624 (-)	TGACG		
		SIGSTU24	1235, 1334 (+)	TGACG		
		SIGSTU26	1315 (+)	TGACG		
		SIGSTF4	85 (-)	TGACG		
	ERE	SIGSTL3	1354 (+)	TGACG	etilén válasz elem	Ohme-Takagi és mtsai. 1995
		SIGSTU23	96, 1138 (+), 111 (-)	ATTTCAAA		
		SIGSTU24	929 (+)	ATTTCAAA		
		SIGSTZ2	931, 1226 (-)	ATTTCAAA		
		SIGSTT2	988 (+)	ATTTCAAA		
	GARE-motívum (GARE-motif)	SIGSTU23	1070, 1319 (-)	AAACAGA	gibberellin válasz elem	Sutliff és mtsai. 1993
		SIGSTU24	194 (-)	AAACAGA		
		SIGSTF4	179 (+)	AAACAGA		
		SIGSTF5	746 (+), 823 (+)	AAACAGA		
		SIGSTZ2	1306 (+), 298 (-)	AAACAGA		
	P-doboz (P-box)	SIGSTT2	529 (+), 606 (-)	TCTGTTG	gibberellin válasz elem	Kim és mtsai. 1992
		SIGSTU24	619 (+)	CCTTTTG		
		SIGSTF4	521 (+)	CCTTTTG		
		SIDHAR2	229 (-)	CCTTTTG		
		SIGSTL3	1305 (-) 1308 (-)	GCCTTTTGAGT CCTTTTG		
	TATC-doboz (TATC-box)	SIGSTF5	1250 (+)	TATCCCA	gibberellin válaszban résztvevő <i>cisz</i> -ható elem	Washida és mtsai. 1999
	TCA-elem (TCA-element)	SIGSTU6	97 (-), 0143 (+)	CAGAAAAGGA		
		SIGSTU26	1485 (-)	CCATCTTTTT	szalicilsav válaszban résztvevő <i>cisz</i> -ható elem (egynél több kópiában)	Goldsbrough és mtsai. 1993
		SIGSTF4	758 (+)	CCATCTTTTT		
		SIGSTF5	1405 (+)	CAGAAAAGGA		
		SIGSTZ2	204, 567 (-)	CCATCTTTTT		
		SIGSTT2	647 (-) 648 (-)	CAGAAAAGGA TCAGAAGAGG		

Hormon válasz	ABRE	SIGSTU23	700 (-) 1022 (+)	CGCACGTGTC	abszcizinsav válaszban résztvevő <i>cisz</i> -ható elem	Hobo és mtsai. 1999
		SIGSTU24	952 (+) 1309 (+)	CACGTG		
		SIGSTF5	1080(+) 1126 (+)	CACGTG TACGTG		
		SIGSTT2	1352 (+)	TACGTG		
		SIGSTL3	1054 (+)	TACGTG		
Abiotikus stressz	ARE	SIGSTU6	482 (-), 1023 (+)	TGGTTT	anaerob indukcióban esszenciális <i>cisz</i> -ható szabályozó elem	Walker és mtsai. 1987
		SIGSTU23	1047 (-)	TGGTTT		
		SIGSTU26	1310 (+)	TGGTTT		
		SIGSTF4	165, 1223 (+)	TGGTTT		
		SIGSTF5	337 (+)	TGGTTT		
		SIDHAR5	645 (+)	TGGTTT		
		SIGSTT2	47, 299 (-)	TGGTTT		
		SIGSTZ2	697 (+)	TGGTTT		
	HSE	SIGSTU6	459 (-)	AAAAAATTTC	hőstressz válaszban résztvevő <i>cisz</i> - ható elem	Gurley és Key 1991
		SIGSTU23	237 (-), 1133 (+)	AAAAAATTTC		
		SIGSTU24	1461 (-)	AGAAAATTCG		
		SIGSTU26	530 (-)	AAAAAATTTC		
		SIGSTF4	95 (-)	AAAAAATTTC		
		SIGSTF5	1012 (-) 1212 (+)	AAAAAATTTC AGAAAATTCG		
		SIDHAR2	652, 1297 (+)	AAAAAATTTC		
		SIDHAR5	672 (+)	AGAAAATTCG		
		SIGSTZ2	934 (-)	AAAAAATTTC		
		SIGSTT2	972 (+), 841, 1205 (-)	AAAAAATTTC		
	LTR	SIGSTZ2	11 (-)	CCGAAA	alacsony hőmérséklet válaszban résztvevő <i>cisz</i> -ható elem	Dunn és mtsai. 1998
		SIGSTL3	764 (+)	CCGAAA		

Abiotikus stressz	MBS	SIGSTU23	1484 (-)	CGGTCA	szárazság indukálhatóságban résztvevő MYB kötőhely	Yamaguchi-Shinozaki és Shinozaki 1994			
		SIGSTU24	341 (-)	CAACTG					
		SIGSTF4	134, 643, 152 (+)	TAACTG					
		SIGSTF5	268 (+)	TAACTG					
		SIDHAR5	305 (+)	TAACTG					
		SIGSTT2	13 (+) 23 (-)	CAACTG TAACTG					
		SIGSTL3	1087 (+)	TAACTG					
	MBSII	SIGSTU26	169 (-)	AAAAGTTAGTTA	flavonoid bioszintézis gének szabályozásában résztvevő MYB kötő hely	Solano és mtsai. 1995			
		SIGSTF5	1272 (+)	AAAAGTTAGTTA					
	TC-gazdag ismétlődések (TCA-rich repeats)	SIGSTU6	465 (+), 617 (-) 1025 (+) 1115 (-)	ATTTTCTTCA GTTTTCTTAC ATTTTCTCCA	védekezésben és stresszválaszban résztvevő <i>cisz</i> -ható elem	Itzhaki és Woodson 1993			
		SIGSTU23	1273 (-) 1292 (+)	GTTTTCTTAC ATTTTCTTCA					
		SIGSTU24	1266 (-), 1474 (+) 1384 (-)	ATTTTCTTCA ATTCTCTAAC					
		SIGSTU26	119 (+)	ATTTTCTTCA					
		SIGSTF4	694 (+) 912 (+) 1402 (-)	ATTCTCTAAC ATTTTCTCCA ATTTTCTTCA					
		SIGSTF5	519 (-), 1403 (-)	ATTTTCTTCA					
		SIDHAR2	1483 (-)	ATTCTCTAAC					
		SIDHAR5	134 (-)	ATTTTCTCCA					
		SIGSTZ2	382, 987 (+)	ATTTTCTTCA					
		SIGSTL3	28 (+) 1131 (-)	ATTTTCTCCA GTTTTCTTAC					
		WUN-motívum (WUN-motif)	SIGSTU24	23 (-)			TCATTACGAA	sebzés válasz elem	Ni és mtsai. 1996
			SIDHAR2	515 (+)			TCATTACGAA		

Biotikus stressz	Box S	SIGSTU23	1014 (-)	AGCCACC	elicitor, sebzés és patogén válasz	Kirsch és mtsai. 2000
	AT-gazdag szekvencia (AT-rich sequence)	SIDHAR2	1180 (+)	TAAAATACT	maximális elicitor aktiválást szabályozó elem (2 kópia)	Lundin és mtsai. 1994
	Box E	SIGSTU24	426 (+)	ACCCATCAAG	gomba elicitor általi indukcióhoz kapcsolódó <i>cisz</i> -ható elem	Zahur és mtsai. 2009
	Box-W1	SIGSTU23	1483 (+)	TTGACC	gomba elicitor válasz elem	Du és Chen 2000
		SIGSTT2	676, 739 (-)	TTGACC		
	EIRE	SIGSTU24	1036 (+)	TTCGACC	elicitor válasz elem	Fukuda és Shinshi 1994
	ELI-box3	SIGSTF4	1220 (-)	AAACCAATT	elicitor válasz elem	Gough és mtsai. 1995
Fényválasz/ cirkadián	W doboz (W box)	SIGSTU23	126 (-)	taTAAATATct	védekezési-, sebzés- és patogén válasz. WRKY típusú transzkripciósfaktort köt	Yu és mtsai. 2001
		SIGSTT2	676, 739 (-)	TTGACC		
	3-AF1 kötő hely (3-AF1 binding site)	SIGSTU23	473 (-)	AAGAGATATTT	fényválasz elem	Lam és mtsai. 1990
		SIGSTU26	915 (+)	AAGAGATATTT		
		SIGSTF5	1229 (+)	AAGAGATATTT		
		SIGSTT2	1081 (-)	TAAGAGAGGAA		
	AE-doboz (AE-box)	SIGSTU24	1120 (+)	AGAAACAA	fényválaszt szabályozó rész	Park és mtsai. 1996
			1206 (-)			
		SIGSTU26	1117 (+)	AGAAACAA		
		SIGSTT2	338 (-)	AGAAACAA		
		SIGSTZ2	293(-)	AGAAACTT		
	ACE	SIGSTU23	1278 (+)	AAAACGTTTA	fényválaszban résztvevő <i>cisz</i> -ható elem	Feldbrugge és mtsai. 1996
		SIGSTU24	1307 (-)	ACGTGGA		
		SIGSTF5	60 (+), 1081 (+)	ACGTGGA		
		SIDHAR2	399 (-)	AAAACGTTTA		
		SIDHAR5	70 (-)	AAAACGTTTA		
		SIGSTT2	223 (-)	CTAACGTATT		

Fényválasz/ cirkadián	AT1- motívum (AT1- motif)		1357 (+)	ACGTGGA	fényválaszt szabályozó rész	Datta és Cashmore 1989
		SIGSTL3	420 (+)	AAAACGTTTA		
		SIGSTU26	375 (+)	AAAACGTTTA		
			64 (+)	AATTATTTTTTAT T		
		SIDHAR5	863 (-)	ATTAATTTTACA		
			1086 (+)	AATTATTTTTTAT T		
	ATCC- motívum (ATCC-motif)	SIGSTZ2	430 (+), 706 (+)	ATTAATTTTACA	fényválaszban résztvevő konzervatív DNS szabályozó rész	Argüello-Astorga és Herrera-Estrella 1996
		SIGSTT2	1237 (-)	AATTATTTTTTAT T		
		SIGSTL3	825 (-)	ATTAATTTTACA		
		SIGSTF4	255 (+)	CAATCCTC		
		ATCT- motívum (ATCT- motif)	SIGSTU6	322, 342 (+)		
			SIGSTU23	290 (+)		
			SIGSTZ2	440 (+), 492 (+)		
	Box 4	SIGSTL3	401 (+)	AATCTGATCG	fényválaszban résztvevő konzervatív DNS szabályozó rész	Argüello-Astorga és Herrera-Estrella 1996
		SIGSTU6	578 (+)	ATTAAT		
			SIGSTU23	850, 1215, 902, 1372 (+)		
			SIGSTU24	39 (+)		
			SIGSTU26	199, 280, 367, 747 (+)		
			SIGSTF4	1258, 1278 (+)		
			SIDHAR2	18, 29, 597, 621, 625, 847, 1001, 1034, 1247 (+)		
			SIDHAR5	128, 981, 936 (+)		
			SIGSTZ2	430, 1165, 960, 1334, 706, 1221,		

Fényválasz/ cirkadián	Box I		1154 (+)			
		SIGSTT2	1145, 1269 (+)	ATTAAT		
		SIGSTL3	795, 1494, 875 , 831, 1157 (+)	ATTAAT		
		SIGSTU23	97, 1139 (+) 657, 111 (-)	TTTCAAA	fényválasz elem	Block és mtsai. 1990
		SIGSTU24	930 (+)	TTTCAAA		
		SIGSTU26	154 (+), 1109 (-)	TTTCAAA		
		SIDHAR2	263, 1440 (+), 470, 1450, 1458 (-)	TTTCAAA		
	Box II	SIDHAR5	91 (+), 648 (+), 635 (-)	TTTCAAA		
		SIGSTZ2	898, 1226, 931 (+)	TTTCAAA		
		SIGSTT2	989 (+)	TTTCAAA		
		SIGSTU24	1307 (+)	TCCACGTGGC	fényválasz elem része	Block és mtsai. 1990
		SIGSTU26	451 (-)	tGTGTGGTTAATA TG		
	Box II –szerű szekvencia (Box II –like sequence)	SIGSTF5	1078 (-)	TCCACGTGGC		
		SIGSTU26	858 (-)	TCCGTGTACCA	<i>cisz</i> -ható szabályozó elem	Block és mtsai. 1990
	Box III	SIDHAR2	1056 (-)	atCATTTTTCACt	fény-válaszban résztvevő protein kötő hely	Block és mtsai. 1990
	CATT- motívum (CATT-motif)	SIGSTF4	954 (-)	GCATTC	fény-válasz elem része	Argüello-Astorga és Herrera-Estrella 1996
	F-doboz (F-box)	SIGSTT2	18, 147 (-)	GCATTC		
		SIDHAR2	495 (-)	CTATTCTCATT		Argüello-Astorga és Herrera-Estrella 1996
		SIGSTT2	1472 (-)	CTATTCTCATT		

Fényválasz/ cirkadián	G-doboz (G-box)	SIGSTU6	669 (-) 1017 (-)	CACGTC CACGTT	fényválaszban résztvevő <i>cis</i> -ható szabályozó elem	Donald és mtsai. 1990
		SIGSTU23	700 (+) 700 (-)	CACGTA TACGTG		
		SIGSTU24	952, 1309 (+) 1308 (-) 1307 (-)	CACGTG CACGTGG GCCACGTGGA		
		SIGSTF5	59 (-), 277 (-) 1080 (+) 648 (+) 1126 (+) 1078 (+)	CACGTC CACGTG CACGTT TACGTG GCCACGTGGA		
		SIDHAR5	1377 (-)	CACGTT		
		SIGSTZ2	69 (+)	CACGTT		
		SIGSTT2	1356 (+) 1356 (-)	TACGTG CACGTA		
		SIGSTL3	1001 (-) 1054 (-) 999 (+) 1054 (+) 1395 (-)	CACGTT CACGTA TAAACGTG TACGTG GACATGTGGT		
	GATA- motívum (GATA-motif)	SIGSTU6	896, 1082 (+)	AAGGATAAGG	fényválasz elem része	Argüello-Astorga és Herrera-Estrella 1996
		SIGSTF5	956 (+)1410 (+)	AAGGATAAGG		
		SIGSTT2	199 (+) 1072 (-)	AAGGATAAGG AAGATAAGATT		
	GA-motívum (GA-motif)	SIGSTU23	538 (-)	ATAGATAA	fényválasz elem része	Argüello-Astorga és Herrera-Estrella 1996
		SIGSTF4	881 (+)	ATAGATAA		
		SIDHAR5	338 (+)	ATAGATAA		
	GAG- motívum (GAG-motif)	SIGSTU23	1199 (-)	AGAGAGT	fényválasz elem része	Argüello-Astorga és Herrera-Estrella 1996
		SIGSTF4	1061 (+)	AGAGATG		
		SIGSTF5	132 (+)	AGAGATG		

Fényválasz/ cirkadián	GT1- motívum (GT1-motif)	SIDHAR5	111 (-)	AGAGATG	fényválasz elem	Vauterin és mtsai. 1999
		SIGSTT2	116 (+)	AGAGAGT		
			1494 (+)	AGAGATG		
		SIGSTZ2	1420 (+)	AGAGAGT		
		SIGSTU24	553 (+)	GTGTGTGAA		
	I-doboz (I-box)	SIGSTU26	451 (-) 455 (-)	TGTGTGGTTAATA TG GGTTAA	fényválasz elem része	Donald és mtsai. 1990
		SIGSTF5	465 (-), 1391 (-)	CGTTAA		
		SIDHAR2	1101 (+)	GGTTAA		
		SIGSTZ2	736 (-)	GGTTAA		
		SIGSTT2	1394 (+)	GCGGTAATT		
		SIGSTL3	656 (+)	CGTTAA		
		SIGSTU6	1084 (+)	gGATAAGGTG		
		SIGSTF5	959 (+) 1412 (+)	GATAAGGGT gGATAAGGTG		
		SIDHAR2	1480 (-)	CTCTATGCT		
		SIGSTZ2	602 (+) 973 (-)	GATAAGATA GATATGG		
	LS7	SIGSTT2	201 (+) 1340 (-)	gGATAAGGTG AGATAAGG	fényválasz elem része	Despres és mtsai. 2000
		SIGSTF4	1120 (-)	CAGATTTATTTTT A		
	MNF1	SIGSTU26	906 (+)	GTGCCC(A/T)(A/T)	fényválasz elem	Yanagisawa és mtsai. 1990
	MRE	SIGSTF4	478 (+)	AACCTAA	fényválaszban résztvevő MYB kötő hely	Feldbrugge és mtsai. 1997
	Sp1	SIGSTU23	1187 (-)	GGGCGG	fényválasz elem	Menkens és mtsai. 1995
	TCT- motívum	SIGSTF4	1150 (+)	CC(G/A)CCC	fényválasz elem része	Argüello-Astorga és Herrera-Estrella 1996
		SIGSTF5	235 (+)	CC(G/A)CCC		
		SIGSTZ2	782, 1370 (+)	TCTTAC		

Fényválasz/ cirkadián	(TCT-motif)	SIGSTT2	1259 (+), 482 (-)	TCTTAC	fényválasz elem része	Argüello-Astorga és Herrera-Estrella 1996
		SIGSTL3	1131 (-)	TCTTAC		
	Chs-CMA2b	SIGSTU23	639 (-)	ATTGCAACTCAA		
	as-2-doboz (as-2-box)	SIGSTF5	240 (-)	GATAatGATG	hajtás specifikus expresszióban és fényválaszban résztvevő elem	Lam és Chua 1989
		SIDHAR2	1059 (+), 382 (-)	GATatGATG		
		SIGSTT2	700 (-)	GATAatGATG		
	Chs-CMA1a	SIGSTU24	977 (-)	TTACTTAA	fényválasz elem része	Argüello-Astorga és Herrera-Estrella 1996
		SIGSTU26	1131 (-)	TTACTTAA		
	cirkadián (circadian)	SIGSTU6	110 (+)	CAANNNNATC	a cirkadián szabályozásában résztvevő <i>cis</i> -ható szabályozó elem	Piechulla és mtsai. 1998
		SIGSTU24	1055 (-)	CAAAGATATC		
		SIGSTU26	823, 1473 (+)	CAANNNNATC		
		SIGSTF4	206 (-)	CAANNNNATC		
		SIGSTF5	926 (-), 1316 (+)	CAANNNNATC		
		SIDHAR2	411 (+), 1020 (-)	CAANNNNATC		
		SIDHAR5	440 (-), 1437 (-)	CAANNNNATC		
		SIGSTZ2	170, 1331 (+)	CAANNNNATC		
		SIGSTT2	1071, 1337 (+)	CAANNNNATC		

A 4. és 5. mellékletekhez tartozó hivatkozások listája:

- Argüello-Astorga GR, Herrera-Estrella LR (1996) Ancestral multipartite units in light-responsive plant promoters have structural features correlating with specific phototransduction pathways. *Plant Physiol* 112:1151-1166.
- Argüello-Astorga G, Herrera-Estrella L (1998) Evolution of light-regulated plant promoters. *Annual review of plant biology* 49: 525-555.
- Ballas N, Wong LM, Theologis A (1993) Identification of the auxin-responsive element, AuxRE, in the primary indoleacetic acid-inducible gene, PS-IAA4/5, of pea (*Pisum sativum*). *J Mol Biol* 233:580-596.
- Block A, Dangel JL, Hahlbrock K, Schulze-Lefert P (1990) Functional borders, genetic fine structure, and distance requirements of cis elements mediating light responsiveness of the parsley chalcone synthase promoter. *Proc Natl Acad Sci USA* 87:5387-5391.

- Bruce WB, Deng XW, Quail PH (1991) A negatively acting DNA sequence element mediates phytochrome-directed repression of *phyA* gene transcription. *EMBO J* 10:3015-3024.
- Chen W, Chao G, Singh KB (1996) The promoter of a H₂O₂-inducible, *Arabidopsis* glutathione S-transferase gene contains closely linked OBF- and OBP1-binding sites. *Plant J* 10:955-966.
- Daraselia ND, Tarchevskaya S, Narita JO (1996) The promoter for tomato 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase gene 2 has unusual regulatory elements that direct high-level expression. *Plant Physiol* 112:727-733.
- Datta N, Cashmore AR (1989) Binding of a pea nuclear protein to promoters of certain photoregulated genes is modulated by phosphorylation. *Plant Cell* 1:1069-1077.
- Després C, DeLong C, Glaze S, Liu E, Fobert PR (2000) The *Arabidopsis* NPR1/NIM1 protein enhances the DNA binding activity of a subgroup of the TGA family of bZIP transcription factors. *Plant Cell* 12:279-290.
- Donald RG, Schindler U, Batschauer A, Cashmore AR (1990) The plant G box promoter sequence activates transcription in *Saccharomyces cerevisiae* and is bound in vitro by a yeast activity similar to GBF, the plant G box binding factor. *EMBO J* 9:1727-1735.
- Du L, Chen Z (2000) Identification of genes encoding receptor-like protein kinases as possible targets of pathogen- and salicylic acid-induced WRKY DNA-binding proteins in *Arabidopsis*. *Plant J* 24:837-847.
- Dunn MA, White AJ, Vural S, Hughes MA (1998) Identification of promoter elements in a low-temperature-responsive gene (*blt4.9*) from barley (*Hordeum vulgare* L.). *Plant Mol Biol* 38:551-564.
- Feldbrugge M, Sprenger M, Hahlbrock K, Weisshaar B (1997) PcMYB1, a novel plant protein containing a DNA-binding domain with one MYB repeat, interacts in vivo with a light-regulatory promoter unit. *Plant J* 11: 1079-1093.
- Fukuda Y, Shinshi H (1994) Characterization of a novel cis-acting element that is responsive to a fungal elicitor in the promoter of a tobacco class I chitinase gene. *Plant Mol Biol* 24:485-493.
- Goldsbrough AP, Albrecht H, Stratford R (1993) Salicylic acid-inducible binding of a tobacco nuclear protein to a 10 bp sequence which is highly conserved amongst stress-inducible genes. *Plant J* 3:563-571.
- Gough C, Hemon P, Tronchet M, Lacomme C, Marco Y, Roby D (1995) Developmental and pathogen-induced activation of an *msr* gene, *str 246C*, from tobacco involves multiple regulatory elements. *Mol Gen Genet* 247:323-337.
- Grandbastien MA, Berry-Lowe S, Shirley BW, Meagher RB (1986) Two soybean ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase small subunit genes share extensive homology even in distant flanking sequences. *Plant molecular biology* 7: 451-465.
- Green P J, Yong MH, Cuozzo M, Kano-Murakami Y, Silverstein P, Chua NH (1988) Binding site requirements for pea nuclear protein factor GT-1 correlate with sequences required for light-dependent transcriptional activation of the *rbcS-3A* gene. *The EMBO journal* 7: 4035.
- Grob U, Stüber K (1987) Discrimination of phytochrome dependent light inducible from non-light inducible plant genes. Prediction of a common light-responsive element (LRE) in phytochrome dependent light inducible plant genes. *Nucleic acids research* 15: 9957-9973.
- Gurley WB, Key JL (1991) Transcriptional regulation of the heat-shock response: a plant perspective. *Biochemistry* 30:1-12.
- Harris JC, Hrmova M, Lopato S, Langridge P (2011) Modulation of plant growth by HD-Zip class I and II transcription factors in response to environmental stimuli. *New Phytol* 190:823-837.
- Hatton D, Sablowski R, Yung MH, Smith C, Schuch W, Bevan M (1995) Two classes of cis sequences contribute to tissue-specific expression of a *PAL2* promoter in transgenic tobacco. *The Plant Journal* 7: 859-876.
- Hobo T, Asada M, Kowyama Y, Hattori T (1999) ACGT-containing abscisic acid response element (ABRE) and coupling element 3 (CE3) are functionally equivalent. *Plant J* 19:679-689.
- Itzhaki H, Woodson WR (1993) Characterization of an ethylene-responsive glutathione S-transferase gene cluster in carnation. *Plant Mol Biol* 22:43-58.
- Kirsch C, Takamiya-Wik M, Schmelzer E, Hahlbrock K, Somssich IE (2000) A novel regulatory element involved in rapid activation of parsley *ELI7* gene family members by fungal elicitor or pathogen infection. *Mol Plant Pathol* 1:243-251.

- Lam E, Chua N-H (1989) ASF-2: a factor that binds to the cauliflower mosaic virus 35S promoter and a conserved GATA motif in Cab promoters. *Plant Cell* 1:1147-1156.
- Lam E, Kano-Murakami Y, Gilmartin P, Niner B, Chua NH (1990) A metal-dependent DNA-binding protein interacts with a constitutive element of a light-responsive promoter. *Plant Cell* 2:857-866.
- Le Gourrier J, Li YF, Zhou DX (1999) Transcriptional activation by Arabidopsis GT-1 may be through interaction with TFIIA-TBP-TATA complex. *Plant J* 18:663-668.
- Lefèvre A, Consoli L, Gaziola SA, Pellegrino AP, Azevedo R A, Damerval C (2002) Dissecting the Opaque-2 regulatory network using transcriptome and proteome approaches along with enzyme activity measurements. *Sci Agric* 59: 407-414.
- Liu ZB, Ulmasov T, Shi X, Hagen G, Guilfoyle TJ (1994) Soybean GH3 promoter contains multiple auxin-inducible elements. *The Plant Cell* 6: 645-657.
- Logemann E, Parniske M, Hahlbrock K (1995) Modes of expression and common structural features of the complete phenylalanine ammonia-lyase gene family in parsley. *Proc Natl Acad Sci USA* 92:5905-5909.
- Lu CA, Lim EK, Yu SM (1998) Sugar response sequence in the promoter of a rice alpha-amylase gene serves as a transcriptional enhancer. *J Biol Chem* 273:10120-10131.
- Lundin M, Nehlin JO, Ronne H (1994) Importance of a flanking AT-rich region in target site recognition by the GC box-binding zinc finger protein MIG1. *Mol Cell Biol* 14:1979-1985.
- Menkens AE, Schindler U, Cashmore AR (1995) The G-box: a ubiquitous regulatory DNA element in plants bound by the GBF family of bZIP proteins. *Trends Biochem Sci* 20:506-510.
- Meshi T, Taoka KI, Iwabuchi M (2000) Regulation of histone gene expression during the cell cycle. *Plant Mol Biol* 43:643-657.
- Ni M, Cui D, Gelvin SB (1996) Sequence-specific interactions of wound-inducible nuclear factors with mannopine synthase 2' promoter wound-responsive elements. *Plant Mol Biol* 30:77-96.
- Ohme-Takagi M, Shinshi H (1995) Ethylene-inducible DNA binding proteins that interact with an ethylene-responsive element. *Plant Cell* 7:173-182.
- Park SC, Kwon HB, Shih MC (1996) Cis-acting elements essential for light regulation of the nuclear gene encoding the A subunit of chloroplast glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol* 112:1563-1571.
- Piechulla B, Merforth N, Rudolph B (1998) Identification of tomato Lhc promoter regions necessary for circadian expression *Plant Mol Biol* 38:655-662.
- Rouster J, Leah R, Mundy J, Cameron-Mills V (1997) Identification of a methyl jasmonate-responsive region in the promoter of a lipoxygenase 1 gene expressed in barley grain. *Plant J* 11:513-523.
- Salinas J, Oeda K, Chua NH (1992) Two G-box-related sequences confer different expression patterns in transgenic tobacco. *The Plant Cell* 4: 1485-1493.
- Schindler U, Terzaghi W, Beckmann H, Kadesch T, Cashmore AR (1992) DNA binding site preferences and transcriptional activation properties of the Arabidopsis transcription factor GBF1. *EMBO J* 11:1275-1289.
- Solano R, Nieto C, Avila J, Cañas L, Diaz I, Paz-Ares J (1995) Dual DNA binding specificity of a petal epidermis-specific MYB transcription factor (MYB.Ph3) from *Petunia hybrida*. *EMBO J* 14:1773-1784.
- Sutliff TD, Lanahan MB, Ho TH (1993) Gibberellin treatment stimulates nuclear factor binding to the gibberellin response complex in a barley alpha-amylase promoter. *Plant Cell* 5:1681-1692.
- Terada R, Nakayama T, Iwabuchi M, Shimamoto K (1995) A type I element composed of the hexamer (ACGTCA) and octamer (CGCGGATC) motifs plays a role in meristematic expression of a wheat histone H3 gene in transgenic rice plants. *Plant Mol Biol* 27:17-26.
- Vauterin M, Frankard V, Jacobs M (1999) The Arabidopsis thaliana dhds gene encoding dihydrodipicolinate synthase, key enzyme of lysine biosynthesis, is expressed in a cell-specific manner. *Plant Mol Biol* 39:695-708.
- Walker JC, Howard EA, Dennis ES, Peacock WJ (1987) *Proc Natl Acad Sci (USA)* 84:6624-6629.
- Washida H, Wu CY, Suzuki A, Yamanouchi U, Akihama T, Harada K, Takaiwa F (1999) Identification of cis-regulatory elements required for endosperm expression of the rice storage protein glutelin gene GluB-1. *Plant Mol Biol* 40:1-12.
- Wu C-Y, Suzuki A, Washida H, Takaiwa F (1998) The GCN4 motif in a rice glutelin gene is essential for endosperm-specific gene expression and is activated by Opaque-2 in transgenic rice plants. *Plant J* 14: 673-683.

- Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K (1994) A novel cis-acting element in an Arabidopsis gene is involved in responsiveness to drought, low-temperature, or high-salt stress. *Plant Cell* 6:251-264.
- Yanagisawa S, Izui K (1990) Multiple interactions between tissue-specific nuclear proteins and the promoter of the phosphoenolpyruvate carboxylase gene for C4 photosynthesis in *Zea mays*. *Mol Gen Genet* 224:325-332.
- Yu D, Chen C, Chen Z (2001) Evidence for an important role of WRKY DNA binding proteins in the regulation of NPR1 gene expression. *Plant Cell* 13:1527-1540.
- Zahur M, Maqbool A, Irfan M, Barozai MY, Qaiser U, Rashid B, Husnain T, Riazuddin S (2009) Functional analysis of cotton small heat shock protein promoter region in response to abiotic stresses in tobacco using *Agrobacterium*-mediated transient assay. *Mol Biol Rep* 36:1915-1921.