Ph.D. ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

A STRESSZVÁLASZ SZABÁLYOZÁSA AUXIN AUTOTRÓF ÉS HETEROTRÓF DOHÁNY SZÖVETTENYÉSZETEKBEN

CSISZÁR JOLÁN

TÉMAVEZETŐ:
DR. SZABÓ MARGIT
EGYETEMI DOCENS

SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM
TERMÉSZETTUDOMÁNYI KAR
NÖVÉNYÉLETTANI TANSZÉK

SZEGED
2003

BEVEZETÉS

Régóta ismert, hogy a növényi szövetkultúrák növekedésének fenntartásához a növényi hormonok közül az auxin és a citokinin szükséges. Bizonyos körülmények között azonban a sejtosztódás exogén auxin és/vagy citokinin nélküli táptalajokon is végbemehet; ezeket a hormon-független kultúrákat autotróf vagy habituált szöveteknek, a folyamatot - amely során a sejtek visszanyerhetik hormonszintetizáló képességüket - habituációnak nevezzük. A habituáció epigenetikai, vagyis fenotípusban bekövetkezett változásként definiálható. A DNS szekvenciája nem módosul, azonban pl. a DNS metilációja, a transzkripciós aktivitás, a transzlációs kontroll vagy poszttranszlációs modifikáció megváltozik. Jellemzője a nagyfokú stabilitás, a változás sejtszinten öröklődik.

Az exogén auxint nem igénylő auxin autotróf és a heterotróf dohány kalluszok nemcsak IES-szintetizáló képességükben és exogén auxinra mutatott érzékenységükben különbözhetnek egymástól, hanem elsődleges anyagcseréjük is módosulhat. Autotróf cukorrépa kalluszokon kimutatták, hogy a habituáció során fokozatosan csökken a kataláz- és peroxidáz aktivitásuk, ami befolyásolhatja stressztoleranciájukat is.

Abiotikus stressz körülmények között a védekezésben szerepet játszó antioxidáns enzimek, mint pl. a kataláz, szuperoxid dizmutáz (SOD), peroxidázok, glutation reduktáz (GR), glutation peroxidáz (GSH-PX), glutation S-ranszferáz (GST) aktivitása általában megemelkedik és pozitív korrelációt mutat a stressztoleranciával. Több növényi *GST* promóterében azonosítottak *ocs*- (oktopin szintáz) vagy *ocs*-szerű szekvenciákat, amelyek felelősnek bizonyultak mind stressz-, mind biológiailag aktív hormonok és inaktív hormonanalógok-általi indukcióért. Az *Agrobacterium tumefaciens* T-DNS-e által kódolt mannopin szintáz1 génjének (*mas1'*) promótere is tartalmaz *ocs*- vagy *ocs*-szerű *cisz*-reguláló elemeket.

mas1' promóter :: *GUS* (β-glukuronidáz) riporter gént tartalmazó transzgénikus *Nicotiana tabacum* SR1 növények leveléből izolált protoplasztokból auxin heterotróf és autotróf kalluszokat állítottunk elő annak tanulmányozására, hogy az IES metabolizmusban és/vagy regulációban bekövetkezett változás hogyan hat egyes auxin- és etilén által indukált folyamatoknak és a stresszválasz kulcsenzimeinek szabályozására.

CÉLKITŰZÉSEK

Munkánk során a következő kérdésekre kerestünk választ:

1. Mi az oka az auxin bioszintézis hiányának ill. jelenlétének a heterotróf és az autotróf kalluszokban?

2. Előkísérletek során kiderült, hogy a heterotróf és autotróf vonal eltérő rezisztenciát mutat abiotikus stresszorokra. Mi az oka az eltérő abiotikus stresszrezisztenciának?

A vizsgált paraméterek közös eleme az oxidatív stressz, a reaktív oxigén gyökök képződése.

3. A sóstressz példáján vizsgáltuk:
   - Van-e eltérés a heterotróf és autotróf kalluszok H_2O_2 tartalma között az intenzív növekedési szakaszban sóstressz esetén?
   - Hogyan alakul NaCl stressz hatására a H_2O_2 szintézisét katalizáló SOD, és a H_2O_2 koncentrációt csökkentő kataláz, guajakol peroxidáz, indolecetsav peroxidáz enzimek aktivitása a szövetekben?
   - Hogyan aktiválódnak a glutation-homeosztázis kialakításában szerepet játszó enzimek aktivitásai a heterotróf és autotróf kultúrákban?
   - Van-e különbség a detoxifikációs folyamatok aktiválódásában a heterotróf és autotróf kalluszok között, különös tekintettel a glutation peroxidáz aktivitásra?
   - Mi az etilén szerepe az abiotikus stresszrezisztencia kialakulásában a heterotróf és autotróf szövetekben?
4. Mi a H_2O_2-által indukált oxidatív stressz közvetlen hatása a heterotróf és autotróf kalluszok növekedésére, az extrahálható GST és GSH-PX aktivitásokra?

5. -A heterotróf és autotróf szövettenyészetek érzékenysége hogyan különbözik exogén auxinnal szemben?
   - Hogyan kapcsolódik az exogén 2,4-D (2,4-diklór-fenoxiecetsav, szintetikus auxin) által indukált etiléntermelés és az auxin/etilén által szabályozott *mas1'* promóter aktivitás a heterotróf és az autotróf vonalakban?

- Hogyan függ össze az exogén 2,4-D által indukált etiléntermelés és az auxin/etilén által szabályozott GST aktivitás a heterotróf és az autotróf kultúrákban?

6. Mi lehet az oka az auxin-etilén interakció eltérésének a heterotróf és auxin autotróf kalluszokban?

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

Auxin heterotróf és autotróf kultúrák előállítása céljából a transzgénikus *Nicotiana tabacum* SR1 növények protoplasztjaiból származó 2-3 hetes mikrokolóniákat 2 µM kinetint tartalmazó, 17,4 µM IES (indol-3-ecetsav) és 0,45 µM 2,4-D tartalmú RM táptalajra, ill. auxin nélkülire helyeztük. A kalluszokat elkülönítve ültettük át, és 3 passzálás után választottuk ki az auxin-mentes táplajon jól növő, magas GUS aktivitással rendelkező kalluszokat a további fenntartásra. Az auxin heterotróf kultúrákat auxin- és citokinin tartalmú táptalajon tartottuk fenn, míg az autotróf szövetek RM táptalaja a növényi növekedésszabályozók közül csak kinetint tartalmazott. A kultúrákat 25 °C-on, 8,4 Watt/m^2 fehér fluoreszcens fény alatt (Tungsram F29 fénycsövek), növekedési kamrában tartottuk..

Aldehid oxidáz aktivitásának vizsgálata natív gélben

A poliakrilamid gélelektroforézist 7,5 % akrilamidot tartalmazó, SDS (nátrium-dodecil- szulfát) nélküli gélben, 4 °C-on végeztük. A 1.5 mm vastagságú gélekre 100 mg fehérjét vittünk fel. Elektroforézis után indol-3-acetaldehid (IAAId) vagy indol-3-aldehid (IAld) szubsztráttal aktivitásfestést végeztünk.

Kationok mennyiségének meghatározása

Kéthetes, 100 mM NaCl kezelést követően a kallusz szöveteket 72 °C-on szárítottunk 72 óráig. A Na^+-, K^+-, Ca^{2+}-, Mg^{2+}- és össz Fe- (Fe^{2+} és Fe^{3+}) tartalmat

ismert mennyiségű (kb.100 mg) száraz anyag savas feltárása után határoztuk meg. Az ionok koncentrációját megfelelő hígítás után Hitachi Z-8200 Zeeman polarizált atomabszorpciós spektrofotométerrel mértük.

Etilén termelés mérése

A fejlődött etilént a tenyészedények légmentes lezárásával, 24 órás inkubáció után határoztuk meg. A gáztérből 2 ml-t injektáltunk a gázkromatográfba (Hewlett-Packard 5890 series II). Az auxinok által indukált etilén termelés és az etilén receptor gátló 2,5-norbornadién (NBD) hatásának vizsgálatához a 100 ml-es tenyészedények falára injektáltunk a steril szérumsapkán keresztül 2 µl folyékony NBD-t.

Enzimaktivitás mérések

Az antioxidáns enzimek közül a SOD aktivitását fotometriás módszerrel, az NBT-ből (nitro blue tetrazolium) fényben, riboflavin jelenlétében történő formazán képződésének SOD általi gátlását felhasználva határoztuk meg. A katalázt az enzim által elbontott H_2O_2 mennyiségének mérésével, a guajakol peroxidáz aktivitást az enzim által katalizált guajakol oxidáció spektrofotometriás nyomon követésével határoztuk meg. A GR működését a glutation diszulfidból keletkező redukált glutation (GSH) és DTNB (Ellmann reagens) reakciója alapján vizsgáltuk. A GST aktivitást a CDNB (2,4-klórdinitrobenzol) mesterséges szubsztrát felhasználásával, az enzim által GSH-val konjugált termék mennyiségének mérésével vizsgáltuk. A GSH-PX aktivitást kumén hidroperoxid (CHP) szubsztrát segítségével, a szerves hidroperoxidok átalakítása közben keletkező GSSG visszaredukálásához használt NADPH mennyiségének mérésével határoztuk meg. A lipidperoxidáció mértékét a tiobarbitúrsavval reagáló termékek mennyiségének meghatározása alapján, a H_2O_2 tartalmat fluorometriás módszerrel mértük.

GUS aktivitás meghatározása

A *mas1'* promóter működését a GUS aktivitásának meghatározásával, a keletkező metil-umbelliferon fluoreszcens mérésével követtük nyomon.

ÖSSZEFOGLALÁS ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

mas1' promóter::GUS riporter gént tartalmazó transzgénikus *Nicotiana tabacum* SR1 dohány levelek protoplasztjaiból származó mikrokolóniák auxin-mentes táptalajra történő, többször ismételt átültetésével auxin autotróf kalluszokat állítottunk elő.

Növekedési kinetikájukat tekintve az auxin autotróf sejteknél időben elhúzódó exponenciális szakaszt figyelhetünk meg: az első két hétben lassabban nőttek auxint nem tartalmazó táptalajon, mint a heterotrófok auxin jelenlétében, de a 3. hét végére a különbség kiegyenlítődött. Érzékenységük a táptalaj auxintartalmával szemben megváltozott; az exogén auxin növekedésüket gátolja.

Mérési eredményeink alapján a következő eredményeket kaptuk, és az alábbi összefüggéseket állapítottuk meg:

1. A hormon anyagcserében bekövetkezett változás tanulmányozása során natív PAGE utáni aktivitás festéssel megállapítottuk, hogy az IES-metabolizmusban fontos aldehid oxidáz (AO) izoenzim mintázata eltért a két kallusz típusban.
   Indol-aldehid (IAld) szubsztrát alkalmazásával az AO2 izoenzim igen nagy aktivitást mutatott a heterotróf szövetekben; jelezve, hogy az IES-lebontásnak az IAld-en keresztüli útjában az AO2 izoenzim fontos katalitikus szereppel bír.
   Az IES prekurzorát, az indol-3-acetaldehidet (IAAld) használva az AO enzim aktivitásának meghatározására kimutattuk, hogy az AO2 izoenzim indol-3-acetaldehid oxidáz aktivitással is rendelkezik, tehát nem ennek az enzimnek a hiánya limitálja a heterotróf kalluszsejtek IES bioszintézisét.
   Az autotróf kultúrában egy új izoenzim (AO1) is működött, amelynek különösen IAAld szubsztráttal volt jelentős aktivitása. Valószínű, hogy ez az újonnan aktiválódó - feltehetően eltérő szabályozottságú - AO1 izoenzim szerepet játszik az autotróf sejtekben az auxin szintézisében, az auxintól független növekedésben.

2. Az auxin autotróf kalluszok növekedésének intenzitása a hőmérséklet emelésével nagyobb mértékben nőtt, mint a heterotrófoké, még a heterotrófok számára már kedvezőtlen 35 ºC-on is jelentősen gyarapodott friss tömegük a 30 ºC-on tartottakhoz viszonyítva. Ez azt jelzi, hogy nemcsak a hormon metabolizmusuk változott meg, hanem stressztoleranciájuk is. NaCl ill. KNO_2 táptalajhoz adásával végzett kísérleteink az autotróf vonalak megnövekedett abiotikus stressztoleranciáját igazolták.

A vizsgált paraméterek közös eleme az oxidatív stressz, a reaktív oxigén formák képződése. A stressztolerancia részletesebb tanulmányozásához két hétig tartó, 100 mM NaCl kezelést alkalmaztunk, amely az autotróf szövetek növekedését csak kismértékben csökkentette, míg a heterotrófoké kb. 30 %-kal visszaesett.

3. Megállapítottuk, hogy a Na^+ felhalmozódás mindkét szövetben hasonlóan alakult, tehát a Na^+ felvétele az autotróf szövetekben nem gátlódott.
Az egyéb kationok közül a növényi sejtek turgorának, ionfelvételi folyamatainak és különböző enzimek működésének fenntartásához szükséges K^+ és Mg^{2+}, valamint a másodlagos jelátvivő funkcióval is rendelkező Ca^{2+} szintje magasabb volt a habituált szövetekben, a reaktív gyökök generálásában és az oxidatív stressz folyamatokban részt vevő vas mennyisége alacsonyabb volt. NaCl stressz esetén a különbség a két vonal között az iontartalmak alakulásában még kifejezettebb.
A változások jelzik, hogy az autotróf kalluszokban aktiválódtak az ionháztartás módosulásához vezető folyamatok, amelyek hozzájárulhatnak a sejtek növekedésének fenntartásához stressz esetén is.
4. Az antioxidáns enzimek közül a SOD- és kataláz aktivitást a két vonalban összehasonlítva az autotróf szövetben kb. 50 %-kal kisebb aktivitásokat mértünk, ezzel összhangban a sejtek alacsonyabb H_2O_2 tartalommal rendelkeztek. Sóstressz hatására szignifikánsan csak a heterotróf kalluszokban emelkedett meg a H_2O_2 eltávolításában fontos kataláz aktivitása, az autotróf szövetek valószínűleg más védekező mechanizmusokat indukálnak, amelyek eredményeként NaCl kezelés után az antioxidáns enzimek kismértékben aktiválódtak és még alacsonyabb H_2O_2 szint mutatható ki.

A GR aktivitása is indukálódik a heterotróf szövetekben NaCl hatására, míg az auxin autotrófokban alacsonyabb értékeket mérhetünk, és a két hetes sóstressz kezelést követően nincs szignifikáns aktiválódás.

5. A guajakol peroxidáz (GPX) aktivitás azonban magasabb volt az autotróf szövetekben. A peroxidázok egyik legfontosabb funkciója a növényi sejtekben a sejtfalkomponensek keresztkötéseinek kialakítása, amely akadályozza a sejt méretének további növekedését. A sejtfal-kötött peroxidázok aktivitásában meglévő különbség lehet közvetlen oka a heterotróf és autotróf vonal eltérő növekedésének. A kovalensen kötött peroxidáz aktivitás 100 mM NaCl jelenlétében a heterotróf szövetekben kb. 4-szeresére emelkedett, az autotróf kalluszokban nem változott. Ezzel magyarázhatjuk, hogy NaCl hatására a heterotróf szövetek növekedése gátlódott, az autotróf kalluszok ugyan lassabban nőttek, de az alkalmazott NaCl koncentráció nem idézett elő növekedésgátlást.

   Az IES-lebontásban szerepet játszó peroxidázok aktivitását IES szubsztráttal meghatározva az auxin autotrófban mértünk magasabb értékeket, az enzim működése NaCl hatására indukálódott. Az eredmények a GPX aktivitásához hasonlóan alakultak. Ez arra utal, hogy az enzim aktivitásának növekedésében nem az endogén IES-szint a meghatározó, hanem egyéb, stresszhatásra is indukálódó elemek.

6. Magasabb volt a kéthetes autotróf szövetekben a heterotrófokhoz viszonyítva a glutation S-transzferáz aktivitás is; az enzim stressz esetén a sejtre káros vegyületek eltávolításában tölt be fontos szerepet: GSH-val konjugálva a nukleofil szubsztrátok toxikussága csökken és lehetővé válik vakuólumba történő kiválasztásuk. Néhány GST izoforma glutation peroxidáz (GSH-PX) aktivitással is rendelkezik. A növényi glutation peroxidáz aktivitás stressz hatásra indukálódik, szerepe lehet pl. a lipidperoxidáció termékeinek károsító hatásai elleni védelemben, a membránintegritás fenntartásában.

7. Kumén hidroperoxid (CHP) szubsztráttal mért glutation peroxidáz aktivitás az auxin autotróf dohány szövetekben kb. 5-ször nagyobb volt, mint a heterotrófokban, és NaCl kezelés hatására indukálódott. Ezzel összhangban a stresszhatás következtében keletkező malondialdehid (lipidperoxidációs termék) szintje csökkent az autotróf vonalban mind kontroll körülmények között, mind sóstressz hatására.

Ezek az eredmények jelzik, hogy az autotróf kalluszok nagyon hatékony akklimatizációs mechanizmussal rendelkeznek, a stressz-indukált oxidatív károsodás elleni enzimatikus védelemben a peroxidázok mellett a GST és különösen a GSH-PX aktivitás emelkedése játszik nagy szerepet.

8. A peroxidázok és a GST aktivitását is befolyásolhatja az etilén. A két kallusz etiléntermelését megmérve azt tapasztaltuk, hogy a heterotróf vonal kb. tízszer több etilént bocsát ki, mint az autotróf. NaCl hatására a hormon-függő heterotróf szövetek etilénszintézise megnő, ez szerepet játszhat pl. a peroxidázok sókezelés hatására bekövetkezett indukciójában.

   Az autotróf kultúrák azonban kevesebb etilént termeltek, mennyisége NaCl hatására nem emelkedett, peroxidáz aktivitásuk viszont magasabb volt, mint a heterotrófokban. Mindez az etilén eltérő szerepére utal a két kultúrában.

9. Az abiotikus stressz elleni védekezés fontos eleme a védekező mechanizmus reaktív oxigén formák általi indukciója, amit *GST* géneknél bizonyítottak.

   A kalluszok 0,01 - 10 mM H_2O_2-t tartalmazó táptalajra ültetésével két hét után vizsgáltuk a vonalak toleranciáját ill. GST- és GSH-PX aktivitásuk alakulását. A heterotróf kalluszok növekedése az autotrófokhoz viszonyítva alacsonyabb H_2O_2 koncentrációnál gátlódott, ami mutatja a habituáltak hatékonyabb H_2O_2-eliminálását, a sejtek pusztulása azonban mindkét vonalnál azonos exogén H_2O_2 koncentrációnál következett be. Az auxin-függő kalluszok GST aktivitása 0,1 - 5 mM exogén H_2O_2 koncentráció-tartományban a H_2O_2 növelésével emelkedett, GSH-PX aktivitásukban kisebb növekedés következett be.

   Az autotróf vonalakban a GST alapaktivitása nagyobb volt, de a külső H_2O_2 mennyiség emelésével kevésbé aktiválódott A GSH-PX aktivitás is csak az alacsonyabb exogén H_2O_2 koncentrációknál emelkedett meg, viszont 5 mM külső H_2O_2 koncentrációig legalább 50%-kal magasabb aktivitást mutatott, mint a heterotróf vonalban.

Több növényi *GST* promóterében azonosítottak *ocs*- (oktopin szintáz) vagy *ocs*-szerű szekvenciákat, amelyek felelősnek bizonyultak mind stressz-, mind biológiailag aktív hormonok és inaktív hormonanalógok-általi indukcióért.

10. *mas1'*::GUS génfúziót tartalmazó transzgénikus vonalainkban az auxin- és stressz által indukálható *mas1'*::GUS géntermék és a glutation S-transzferáz aktivitását hasonlítottuk össze különböző IES vagy 2,4-D koncentrációjú táptalajon nőtt kalluszokban.

    A GST aktivitás a koncentráció emelésével nőtt mindkét vonalnál, mindkét auxin esetében. Az autotróf szövetek GST aktivitása magasabb volt, mint a heterotrófoké, az auxin hatására bekövetkező indukció kifejezettebb volt, különösen a 2,4-D esetében. A *mas1'* promóter aktivitás azonban az autotrófokban volt alacsonyabb, auxin hatására általában nőtt, de nem mutatott korrelációt az auxin koncentrációjával. Az indukció mértéke az autotróf kultúrában 2,4-D alkalmazásánál 3-5-szörös volt.

    Az etiléntermelést különböző 2,4-D koncentrációk esetében meghatározva megállapítottuk, hogy a szintetikus auxin megemelte mind a heterotróf, mind az autotróf szövetek etilén produkcióját. Az etilénről kimutatták, hogy transzkripciós szinten aktivál *GST* gént is.

11. A heterotróf szövetek GST aktivitását az auxin és az etilén is befolyásolta. A GST aktivitását mind a legalacsonyabb 0,5 μM, mind a magas külső 2,4-D koncentrációk indukálták.

    Az etilén jelátvitel gátlása az etilén-receptorokhoz kapcsolódó NBD-vel megnövelte a 2,4-D-indukálta GST és *mas1'*::GUS aktivitást, bizonyítva, hogy a gáznemű hormon az auxinnal ellentétes hatást fejt ki a heterotróf szövetekben. Ebből arra következtethetünk, hogy a 2,4-D megemelte mind az etilén, mind a GST bioszintézisét, de az etilén hatásai között szerepel bizonyos gének expressziójának gátlása, köztük *GST* géneké is.

    Az autotróf szövetekben ellenben a GST aktivitást a norbornadién kezelés nem befolyásolta. Az autotróf vonalakban tapasztalt magasabb GST aktivitás oka lehet pl.

az expresszálódásuk folyamatára kifejtett auxin-etilén interakció megváltozása, ami a transzkripciós faktorok szintézisének és lebontásának aránymódosulásából ered.

Az etilén receptorok gátlása még alacsonyabb *mas1'*::GUS aktivitást eredményezett az autotróf szövetekben, és nem mutatott 2,4-D koncentrációtól való függőséget. Ez arra utal, hogy az auxin autotróf kalluszokban elsődlegesen az etilén a felelős a *mas1'* promóter aktivitásának indukciójáért. Arra következtethetünk, hogy a *mas1'* promóter aktivitása az autotróf szövetekben elsődlegesen etilén kontroll alatt áll, míg a heterotróf szövetekben sokkal inkább auxin befolyása alatt van.

A TÉMÁVAL KAPCSOLATOS KÖZLEMÉNYEK

Csiszár, J. and Szabó, M. (1995) Growth and ethylene evolution of tissue cultures in presence of nitrite. Acta Biol. Szeged 40 : 133-135.

Szabó, M., Molnár, J., **Csiszár, J.** and Motohashi, N. (1995) Effect of chlorpromazine and benzo[*a*]phenothiazines on auxin heterotrophic and autotrophic tobacco tissue cultures. Anticancer Research 15 : 2113-2116.

Szabó, M., **Csiszár, J.**, Rausch, H., Molnár, J. and Motohashi, N. (1997) Influence of benzo(a)phenothiazines on the element content of two tobacco tissue cultures differing in hormone requirement. Anticancer Research 15 : 2113-2116.

J. Csiszár, M. Szabó, I. Tari and L. Erdei (2001) Control of the glutathione S-transferase and *mas1´* promoter-driven GUS activity in auxin heterotrophic and autotrophic tobacco calli by exogenous 2,4-D-induced ethylene. Physiol. Plant. 113 : 100-107.

J. Csiszár, M. Szabó, E. Illés, K. Kurucz (2002) Investigations of glutathione S-transferase and peroxidase activities in auxin heterotrophic and autotrophic tobacco calli under salt stress conditions. Acta Biol. Szeged 46 : 79-80.

J. Csiszár, M Szabó, L Erdei, L Márton, F Horváth and I Tari (2003) Why do auxin autotrophic tobacco callus tissue resist oxidative stress: the importance of the glutathione S-transferase and peroxidase activities in auxin heterotrophic and autotrophic calli. J Plant Physiol (Accepted)

AZ ÉRTEKEZÉS TÉMÁJÁHOZ KAPCSOLÓDÓ POSZTEREK, ELŐADÁSOK

Szabó, M., Köves, E., Stefanov, I., **Csiszár, J**. (1992) Auxin autotrophy in tobacco tissue cultures. 8th Congress of FESPP. Antwerpen, Belgium, August 23-28, 1992., Phys. Plant. 85(3); Part 2: A30.

Szabó, M., Rausch, H., Molnár, J., Motohashi, N. and **Csiszár, J**. (1996) Influence of benzo(a)phenothiazines on ion composition in tobacco tissue cultures. 8th International Conference on phenotiazines and structurally related psychotropic compounds. February 26-29. 1996., Jaipur, India.

Szabó, M., Molnár, J., **Csiszár, J.** (1997) The effect of verapamil, omeprasole and phenothiazines on the proliferation of tobacco calli. International Conference on Reversal of Drug Resistance. June 1-3, 1997 Szeged, Hungary.

Csiszár, J., Szabó, M. and Deme, E. (1998) Effects of IAA and 2,4-D on glutathione S-transferase activities of auxin autotophic and heterotrophic tobacco calli. The 11th Congress of the FESPP, Varna, Bulgaria 7-11. September, 1998

J. Csiszár, M. Szabó, E. Illés and I. Tari (2002) Glutathione S-transferase and peroxidase activities in auxin heterotrophic and autotrophic calli. 13th Congress of FESSP, Hersonissos, Heraklion, Crete, Greece, 2-6. September, 2002.

J. Csiszár, M. Szabó, É. Király, E. Illés, L. Erdei and I. Tari (2002) Scavenging enzyme activities under oxidative stresses in auxin heterotrophic and autotrophic tobacco calli. (Lecture) In HU/FL Mini-Symposium: Abiotic stress and signalization in plants, Szeged, Hungary, December 20-21, 2002.

Csiszár J, Szabó M, Illés E, Tari I, Erdei L (2003) Hormonális tényezők és oxidatív stressz dohány kalluszban. Előadás. XXXIII. Membránszport Konferencia, Sümeg, 2003 május 20-23.

EGYÉB PUBLIKÁCIÓK

Szabó, M., **Csiszár, J.,** Köves, E. (1983) A glifozát hatása búza csíranövények növekedésére, klorofill tartalmára és fenolanyagcseréjére. Bot. Közlem. 70; 151-158.

Csiszár, J., Szabó, M. (1985) Glifozát hatása búza gyökér membránhoz kötött ATP-áz aktivitására. Bot. Közlem. 72; 249-256.

Csiszár, J. (1988) Glifozát hatásmechanizmusának tanulmányozása búza csíranövényeken. Egyetemi doktori értekezés, Szeged.

Növényélettani gyakorlatok. Munkafüzet. (1993) (Összeáll. Csiszár Jolán, Köves Erzsébet, Nagy Mária, Pécsváradi Attila, Szabó Margit, Tari Irma, Zsoldos Ferenc, Horváth Gábor.) JATEPressz, Szeged

Speciális vizsgálati módszerek (Növényélettan) (2000) Egyetemi jegyzet. JATEPressz, Szeged, 2000. (Erdei László, Görgényi Miklósné, Mainé Csiszár Jolán, Pécsváradi Attila, Horváth Ferenc, Vashegyi Ágnes, Szegletes Zsolt)

E. Illés, M. Szabó, **J. Csiszár** (2002) Stress tolerance in auxin heterotrophic and autotrophic tobacco tissue cultures. Acta Biol. Szeged 46 : 83-84.

Á. Gallé, J. **Csiszár, I.** Tari. L. Erdei (2002) Changes in water and chlorophyll fluorescence parameters under osmotic stress in wheat cultivars. Acta Biol. Szeged 46 : 85-86.

I. Tari, **J.Csiszár**, G. Szalai, F. Horváth, A. Pécsváradi, G. Kiss, Á. Szepesi, M. Szabó, L. Erdei (2002) Acclimation of tomato plants to salinity stress after a salicylic acid pre-treatment. Acta Biol. Szeged 46 : 55-56.

I. Tari and **J. Csiszár** (2003) Effects on NO_2^- or NO_3^- supply on polyamine accumulation and ethylene production of wheat roots at acidic and neutral pH: implications for root growth. Plant Growth Regul (Accepted)

TÁRSSZERZŐI LEMONDÓ NYILATKOZAT

Alulírott nyilatkozom, hogy a Jelölt téziseit ismerem, a tézisekben foglalt tudományos eredményeket tudományos fokozat megszerzéséhez nem használtam fel, és tudomásul veszem, hogy azokat ilyen célból a jövőben sem használhatom fel.

Szeged, 2003. május 8.

Illés Emese ……..

Dr. Molnár József ……..

Dr. Rausch Henrik ……..

Dr. Szabó Margit ……..