

Doktori (Ph.D.) értekezés tézisei

**Az etilén státusz szerepe a paradicsom sóstressz
akklimatizációjában**

Borbély Péter Gábor

Témavezető:

Dr. Görgényi Miklósné Dr. *Habil.* Tari Irma

egyetemi docens

BIOLÓGIA DOKTORI ISKOLA

SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM

Természettudományi és Informatikai kar

Növénybiológiai Tanszék



Szeged

2019.

Bevezetés

A gáz halmazállapotú növényi hormon, az etilén (ET) fontos szereppel bír a növényi életfolyamatok szabályozásában, mint például a fotoszintézis vagy a reaktív oxigén- valamint nitrogénformák akkumulációja, továbbá kiemelt résztvevője az abiotikus stresszre adott növényi válaszok kialakításának. Az exogén forrásból származó ET-t számos tanulmány során használták a hormon hatásainak feltérképezésére. Ugyanakkor a természetes körülmények között, a gyökérszónában is jelenlévő ET prekuzornak, az 1-aminociklopropán-1-karbonsavnak (ACC) hatását eddig relatíve keveset vizsgálták. Ennek következtében az exogén ACC koncentráció- és idő függvényében kifejtett befolyása a növényekre, különösen a fotoszintézisre és az említett reaktív molekulák akkumulációjára nagyrészt ismeretlen. A növények aktuális ET-érzékenysége, vagy ET produkciójának alakulása (összefoglalva: ET státusza), fontos lehet az abiotikus stressz akklimatizáció során, különös tekintettel a stresszor megjelenése előtti állapotokra. Mindezek tükrében kiemelten fontos az exogén ACC gyökérszóna-béli jelenléte által kiváltott olyan hatások azonosítása, mely az utólag jelentkező, kedvezőtlen környezeti faktorok megjelenése esetén befolyásolhatják a stresszválaszt.

A talaj, vagy az öntözővíz magas sótartalma és az általa a növényekben kiváltott stresszhatás (sóstressz) a Földünk változó klímájában egyre nagyobb jelentőségűvé válik a mezőgazdasági növénytermesztésben. Ezért a növények sóstressz-válaszainak fiziológiai és molekuláris szintű felderítése alapvető szükségességet jelez. Az ET szerepe jelentős e folyamatok szabályozásában, ugyanakkor hatását nagyrészt hosszútávú sóstressz során vizsgálták, holott a stressz akklimatizáció korai időszakában – az óráktól néhány napig – történő események nagyban befolyásolják a növény későbbi sorsát. Ezen túlmenően, a reaktív oxigén- (ROF) és nitrogénformák (RNF) akkumulációjának kapcsolata a növény ET státuszával rövidtávú sókezelések során alig ismert. Ugyanez elmondható a fotoszintézis esetében is, különösen az I-es fotokémiai rendszer aktivitása tekintetében. Mindezeknek megfelelően, kísérleteink során kétféle megközelítést alkalmaztunk. Tanulmányoztuk egyrészt a gyökérközegben, hidropónikus kultúrában alkalmazott exogén ACC koncentráció sorozat (0,01-, 1,0- és 100 μM -os) hatását

paradicsomnövények legfontosabb fiziológiai folyamataira, amelyek szerepet játszhatnak az abiotikus stressz akklimatizáció folyamatában, mint a fotoszintézis, ionakkumuláció, ROF és RNF felhalmozódás stresszmentes körülmények között. A második megközelítésben exogén (10 μ M) ACC (elő)kezeléssel, valamint ET receptor mutációval (*Never ripe*) befolyásolt ET státuszú növényeket kezeltünk szubletális (növekedésgátló, de tolerálható), 100 mM-os vagy letális (néhány napon belül a növények pusztulását okozó), 250 mM-os NaCl koncentrációkkal 24 órán belül, több mérési időpontban. Vizsgáltuk az ET korai sóstressz-válaszban betöltött szerepét a már említett paramétereken kívül az oxidatív stresszt meghatározó legfontosabb enzimek expressziójának és aktivitásának monitorozásán keresztül.

Célkitűzések

A növényekre gyakorolt ET hatás koncentráció- illetve időfüggésének ismerete kiemelten fontos. A stressz hatására megemelkedett ET emisszió a stressz-ET koncentrációjától függően kedvezőtlenül hathat az akklimatizációra, azonban az ET szabályozhatja a stressz elleni védekezési mechanizmusokat is. Míg a stressz-ET fiziológiai szerepét széles körben vizsgálták, addig az ET prekursorának, az ACC-nek növényekre gyakorolt közvetlen hatását alig, holott az ACC természetesen előfordul a növény gyökérszónájában, mennyisége a talajoldatban változhat. Különböző koncentrációinak a stressz akklimatizációban fontos paraméterekre (mint például az elemtartalom, ROF és RNF felhalmozódás, valamint a fotoszintézis változásai) gyakorolt hosszútávú, időfüggő hatásairól keveset tudunk. Szintén hiányosak az ismereteink a növények ET-státuszának és a fotoszintézisnek a kapcsolatáról a só-akklimatizáció korai szakaszában, különös tekintettel a PSI szabályozására. Ezen túlmenően, a növények ET státuszának kapcsolata a ROF és RNF akkumulációval és annak szabályozásával szintén alig ismert rövidtávú sókezelés során. Továbbá fontos megjegyezni, hogy a levélben bekövetkező változások nehezen értékelhetők a gyökérben történtek ismerete nélkül.

A dolgozatban a következő kérdésekre kerestük a választ:

1. Hogyan befolyásolja a gyökérszóna megemelt ACC tartalma a VT paradicsomnövények vízháztartási paramétereit, ionakkumulációját, valamint a ROF és RNF képződést a koncentráció függvényében?
2. Hogyan befolyásolja a gyökérszóna megemelt ACC tartalma a vad típusú paradicsomlevelek fotoszintetikus aktivitását a koncentráció és az idő függvényében?
3. Milyen kapcsolatban vannak a gyökérszóna megemelt ACC tartalmával kapcsolatos fiziológiai változások a paradicsomnövények potenciális abiotikus stressztűrő képességével? Mivel a nem patogén mikroorganizmusok által kiváltott, indukált szisztémikus rezisztencia (ISR) is az ET jelátvitel aktiválásán keresztül hat, felmerülhet a kérdés, hogy az ET/ACC-indukált változások gyakorolhatnak-e hatást az abiotikus stresszakklimatizációra?
4. Milyen, a sóstressz kialakulásához köthető, etilénfüggő válaszokat tapasztalhatunk a NaCl többlet által előidézett sóstressz első támadási pontján, a gyökérben?
5. Miként módosítja az etilén jelátvitel ET receptor szintjén történő blokkolása és az exogén ACC kezeléssel megemelt szöveti ACC/etilén koncentráció a paradicsomnövények különböző sókoncentrációkra adott fiziológiai válaszait, valamint a ROF és RNF akkumulációját? A gyökérben bekövetkező változások miként vetülnek le a levélben?
6. Milyen ET státusz függő változások történnek a szubletális és letális sóstressz hatására az antioxidáns enzimek aktivitásában és ezek egyes izoenzimeinek expressziójában, és milyen különbségek figyelhetők meg a gyökérben és a levelekben lezajló folyamatok között?
7. Milyen kapcsolatban áll a paradicsomnövények ET státuszával a fotokémiai rendszerek aktivitása, szabályozása, illetve a CO₂ asszimilációval történő együttműködése a sóstressz korai szakaszában?

Anyagok és módszerek

Kísérleteinket hidropónikusan nevelt, kifejllett, 4-7 hetes *Solanum lycopersicum* Mill. L. cvar. Rio Fuego VT, valamint cvar. Ailsa Craig VT és homozigóta *Nr/Nr*, ET receptor mutáns növényeken végeztük, kétféle megközelítésben.

A vizsgálataink első szakaszában, a gyökérszóna megemelt ACC tartalmának hatását vizsgáltuk egyéb, specifikus stresszfaktor alkalmazása nélkül, *S. lycopersicum* Mill. L. cvar. Rio Fuego paradicsomfajta leveleiben és gyökereiben. A növények gyökérszónáját a tápoldathoz adott, a természetben is előforduló 0,01 μM -os és 1,0 μM -os, valamint a stressz ET mennyiségéhez hasonló ET-szintet generáló 100 μM -os ACC (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) kezelésnek tettük ki egy hetes intervallumban és vizsgáltuk azokat a paramétereket – a gyökérben és a kifejtett, nem öregedő levelekben (biomassza produkció, ionakkumuláció, ROF és RNF tartalom, cukortartalmak), illetve a fotoszintézis esetében a levelekben – melyek a stresszválaszok során is fontos szereppel bírnak.

A munkánk második szakaszában, kétféle erősségű sókezelés során vizsgáltuk az ET szerepét a sóstressz kialakulásának korai szakaszában, két lépcsőben, különböző ET állapotú növényeket alkalmazva, melyeket technikai okok miatt 2. és 3. kísérleti elrendezésként említünk. Elsőként VT és *Nr* mutáns gyökereket (főleg az 1 cm-es apikális szegmenst) használtunk, *S. lycopersicum* Mill. L. cv. Ailsa Craig genetikai háttérben. A hajtás gyökereztetése során kifejlődött, egyforma típusú, járulékos gyökereket hidropónikus kultúrában, a tápoldaton keresztül 100 mM-os – növekedésgátló, de tolerálható koncentrációjú, a továbbiakban „szubletális”, vagy 250 mM-os, néhány napon belül a növény pusztulását okozó, a továbbiakban „letális” koncentrációjú NaCl-dal kezeltük, majd vizsgáltuk a ROF és RNF akkumulációt, valamint a sejtek életképességét és különböző programozott sejthalál markereket. Ezt követően a kétféle erősségű, rövidtávú sókezelésre adott válaszreakció és a növények ET státuszának kapcsolatát VT, VT és exogén ACC kezelt, valamint *Nr* mutáns *S. lycopersicum* Mill. L. cv. Ailsa Craig paradicsomfajta gyökereiben és leveleiben vizsgáltuk. Ennek megfelelően, a VT növények egy része a tápoldaton keresztül, 1 óráig, 10 μM -os koncentrációjú – nem túl magas, de biztosan ET többletet generáló – ACC előkezelésben részesült, melyet a 100 mM-os, valamint 250 mM-os NaCl tápoldathoz adása követett, az ACC jelenlétének megtartása mellett. Ebben az időpontban, melyet a kísérlet kezdő, tehát 0. időpontjának tekintettünk, a VT növények fennmaradó része, továbbá a *Nr* mutánsok is részesültek az

említett sókezelésekben. A mintavételeket a kezelés megkezdését követő 1, 6, illetve 24 óra elteltével végeztük el.

A mérések során meghatároztuk a gyökerek és a levelek biomassza hozamát, az ET kibocsájtásukat gázkromatográfiával (Hewlett-Packard 5890 Series II, Hewlett-Packard, Wilmington, USA), az elemtartalmakat pedig atomabszorpciós spektroszkóp (Hitachi Z-8200, Tokió, Japán; 1. és 2. elrendezés) illetve ICP-MS segítségével (3. elrendezés). A ROF és RNF akkumulációt és a sejtek életképességét fluoreszcens mikroszkópia (Zeiss Axiowert 200M, Carl Zeiss Inc., Jena, Németország) és biokémiai módszerek (levél H_2O_2 és O_2^- tartalma) segítségével monitoroztuk. Mindkét növényi szervben vizsgáltuk az oldható cukor- illetve keményítőtartalmakat (3. elrendezés), az antioxidáns enzimek (kataláz, szuperoxid-dizmutáz, aszkorbát-peroxidáz, gvajakol-peroxidáz) specifikus aktivitásának meghatározása spektrofotometriás módszerrel történt (3. elrendezés). Az egyes antioxidáns izoenzimok expressziójának vizsgálatához (3. elrendezés) fenol-kloroform-izoamil alkoholos RNS kivonást és különböző tisztítási lépéseket követően cDNS-t írtunk, majd a Primer3 programmal tervezett primerpárok segítségével kvantitatív RT-PCR módszert (qTOWER, Analytik Jena, Németország) használtunk.

A gyökércsúcsok fehérjetartalmát és proteolitikus aktivitását biokémiai reakciókon alapuló fotometriás meghatározással, elektrolit kieresztését konduktométer segítségével, DNS fragmentációját agaróz gélelektroforézissel detektáltuk (2. elrendezés).

Meghatároztuk továbbá a levelek vízpotenciálját nyomáskamra használatával (3. elrendezés), a pigmenttartalmakat fotometriás kimutatással, a CO_2 asszimilációt és a sztómakonduktanciát (1. és 3. elrendezés) infravörös gázanalizátorral szerelt fotoszintézis mérőműszer segítségével (Li-6400, Li-Cor, Lincoln, NE, USA). A fotoszintetikus elektrontranszport és a fotokémiai rendszerek működésének vizsgálatát a klorofill *a* fluoreszcencia és a PSI (P700) abszorbancia változásait (1. és 3. elrendezés) szimultán monitoroztuk egy korszerű fluoriméter és P700 analizátor (DUAL-PAM-100, Heinz-Walz, Effeltrich, Germany) segítségével.

Az adatok statisztikai analízisét Student-t teszt, illetve egyutas varianciaanalízist követő Duncan vagy Student-Newman-Keuls (SNK) teszt alkalmazásával végeztük.

Összefoglalás

A paradicsomnövények etilén (ET) érzékenységét és ET státusztól függő sóstressz-válaszait kétféle megközelítésben vizsgáltuk. Elsőként választ szerettünk volna kapni arra a kérdésre, hogy milyen hatást gyakorol a gyökérközegben, külső tényezők hatására megemelkedett ACC koncentráció azokra a mechanizmusokra, amelyek szerepet játszhatnak az indukált szerzett rezisztenciához hasonlóan egy ezt követő abiotikus stressz akklimatizáció folyamatának gyorsításában. A második megközelítésben az ET, illetve az ET státusz szerepét vizsgáltuk a paradicsomnövények eltérő erősségű sókezelés indukálta stressz-állapot kialakulásának korai időszakában.

Eredményeink alapján a következő megállapításokat fogalmaztuk meg:

- 1. A gyökérkezelésként adott ACC többlet egy koncentrációs küszöbértéket meghaladva indukál szignifikáns ET emissziót, ami a gyökerekben nagyobb mértékű, azonban ennek elérése nélkül is fiziológiai válaszokat vált ki.**
- 2. A gyökérszónában bekövetkező, nagyon enyhe ACC koncentráció emelkedés (0,01-1 μM) növeli a száraz biomassza gyarapodást a paradicsomnövények hajtásában, nitrozatív stresszt gátló környezetet alakít ki a ROF és RNF molekulák akkumulálódási mintázatában, a gyökércsúcsokban és a levélben egyaránt.** Ugyanakkor a magas (100 μM) ACC koncentráció száraztömeg csökkenést, valamint a ROF és RNF felhalmozódását eredményez. Az exogén ACC kezelés tehát növényi szerv- és koncentráció-függő módon fokozta a H_2O_2 felhalmozódást, valamint befolyásolta a NO és a ONOO⁻ akkumulációs mintázatát. Ugyanakkor a nagy koncentrációjú ACC kezelés sem okozta a növények pusztulását és az enyhe oxidatív stressz kedvező lehet az antioxidáns folyamatok aktiválásának elősegítésében.
- 3. Az exogén ACC jelenléte a gyökérszónában koncentráció és expozíciós idő függvényében serkentheti vagy gátolhatja a fotoszintézist és befolyásolja a két fotokémiai rendszer működését nem öregedő paradicsomlevelekben.** Az alacsony

0,01 és 1,0 μM -os ACC koncentrációk a kezelés utáni első két napon serkentőleg hatnak a nettó CO_2 fixációra, a **0,01 μM -os ACC szignifikánsan emeli a PSI kvantumhatékonyságát és megváltoztatja a nem fotokémiai kioltási profilját**, míg a PSII-re gyakorolt hatása csekély. A 100 μM -os ACC kezelés kifejezetten gátolja a nettó CO_2 asszimilációt és a PSII effektív kvantumhatékonyságát, ezzel szemben a PSI kvantumhatásfoka kisebb érzékenységet mutat. **Az ACC kezelések – eltérő idő és intenzitásbéli lefolyással – indukálták a fényvédelmi folyamatokat, elsősorban a PSI ciklikus elektronáramlás (CEF-PSI) kapcsolt nem fotokémiai kioltás (NPQ) fokozásán keresztül.**

4. A K^+/Na^+ arányokban a 100 μM ACC kezelés hatására kialakuló csökkenés enyhe sóstressznek tekinthető, ami priming hatású is lehet egy azt követő ozmotikus-/sóstressz akklimatizáció során, ennél fogva az ACC által kiváltott eustresszként definiálható. A 0,01-1,0 μM ACC növeli az oldható cukor és szorbitol tartalmakat, ami szintén hozzájárulhat egy ozmotikus komponens is tartalmazó abiotikus stressztolerancia kialakításához.

5. Az ET receptor mutációja a *Nr* paradicsomnövényekben fokozott érzékenységet eredményez a supraoptimális sókoncentrációkkal szemben, a gyökércsúcsok már szubletális stressz esetén is mutatják a sejthalál jellegzetes fiziológiai tüneteit. Ennek oka a gyökércsúcsokban a szubletális (100 mM) és letális (250 mM) NaCl kezelés által kiváltott ROF és RNF akkumuláció. A VT gyökércsúcsokban a $\text{O}_2^{\bullet-}$ a letális sókoncentráció hatására akkumulálódott, míg a H_2O_2 megnövekedett akkumulációja a tolerálható sóstressz esetén alakult ki. Az ET jelátvitelben blokkolt *Nr* növényekben a VT növények számára még tolerálható, 100 mM NaCl koncentrációnál is magas $\text{O}_2^{\bullet-}/\text{H}_2\text{O}_2$ arány alakult ki, ami kedvező a programozott sejthalál (PCD) indukciója szempontjából. A detektált ROF/RNF akkumuláció következtében a nitro-oxidatív stressz jelentősebb lehet a *Nr* gyökerekben már alacsony NaCl koncentrációnál is. Ez nagyobb elektrolit-kieresztésben, fokozott DNS degradációban és a proteolízis, valamint a cisztein proteázok aktivitásának emelkedésében nyilvánult meg.

6. Az ET sóstressz akklimatizációban betöltött szerepét különböző ET státuszú növényekben vizsgáltuk. Megállapítottuk, hogy a *Nr* mutáció növelte a K^+/Na^+ arány csökkenésében megnyilvánuló ionikus stresszt, míg az exogén ACC kezelés jelentősen mérsékelte a levélszövetek vízpotenciáljának csökkenését sóstressz alatt, ami a só-indukált ozmotikus stressz csökkenésére utal. Az ET tehát a sóstressz ozmotikus és ionikus komponensét is szabályozza.

7. A növények ET státusza szabályozza a ROF és RNF molekulák akkumulációját a sóstressz kialakulása során. A gyökércsúcsokban mind az exogén ACC által indukált ET/ACC többlet, mind az ET jelátvitel blokkolása oxidatív, illetve nitrooxidatív stresszt váltott ki letális sóstressz alatt, amelynek háttérében eltérő mechanizmus áll. Bár mindkét esetben megemelkedett a $O_2^{\cdot-}$ és ONOO⁻ akkumuláció, ez exogén ACC kezelés mellett erőteljesebb. Míg a $O_2^{\cdot-}$ akkumulációt a *Nr*-ban elsősorban a SOD gátlás okozza, a H_2O_2 elbontásához a mutánsban kisebb mértékben járul hozzá a KAT és rövid távon az APX, mint az ACC kezelt gyökerekben. Letális sóstressznél a gyökércsúcsok ET státuszának változása (exogén ACC, *Nr*) növeli a sóérzékenységet.

Tolerálható sóstressznél azonban az exogén ACC kezelés jelentősen csökkenti a $O_2^{\cdot-}$ felhalmozódását rövid távon, viszont nem csökkenti a H_2O_2 akkumulációt, ami mérsékeli az oxidatív stresszt. A korai H_2O_2 akkumuláció a VT gyökércsúcsokban lehetővé teszi olyan antioxidáns enzimek korai expresszió indukcióját (*SIAPX2*) és enzimatisz aktiválódását, mint az APX, míg a letális sókoncentrációnál a H_2O_2 lebomlásához a POD és a KAT aktivitás indukciója nagyobb mértékben járul hozzá, utóbbi különösen az ACC kezelt mintákban és a *Nr*-ban jelentős. Ezekben a gyökércsúcsokban azonban az antioxidáns enzimek aktiválódásának ellenére a sóstressz hatására csökken a sejtek életképessége.

8. A levelek 24 órán belül kisebb érzékenységet mutatnak a sóstresszel szemben, mint a gyökerek. Összehasonlítva a tolerálható és sejthalált indukáló sóstressz hatását a levelekben megállapíthatjuk, hogy a letális sókoncentráció hatására jóval több $O_2^{\cdot-}$ akkumulálódik a levélszövetekben is, mint szubletális sóstressz esetén, amit csökkent az exogén ACC előkezelés és a *Nr* mutáció. Ehhez hasonlóan a H_2O_2 is

nagyobb mértékű felhalmozódást mutat a 250 mM NaCl-dal kezelt növényekben, amit a 6 órás mintavételnél az ACC előkezelés és a *Nr* mutáció tovább fokoz, így a szövetek komoly oxidatív stressznek vannak kitéve. Rövid távon sem a NO sem a ONOO⁻ szintek nem növekedtek drámaian a kezelésekre hatására. Szubletális sóstressznél az ACC kezelt VT-ben és a *Nr* mutánsokban megemelkedő NO inkább a sótoleranciát fokozza, míg kisebb nitrozatív stressz kialakulhat a fokozott ONOO⁻ akkumuláció hatására a letális sókezelés 24. órájában, ezt azonban az exogén ACC mérsékeli.

A nagy O₂^{•-} tartalmak kialakulásához a képződést elősegítő folyamatok (PM-kötött NADPH oxidáz aktivitásának emelkedése, fotoszintetikus elektrontranszport) is hozzájárulhatnak. A SOD aktivitás gyors emelkedése a gyökérrel ellentétben a letális sóstressznél csökkenti a O₂^{•-} koncentrációt 24 óra múltán. Az ACC előkezelt és a *Nr* mutáns levelekben ugyanakkor a VT-hez képest csökkent O₂^{•-} akkumuláció figyelhető meg 24 óra elteltével, melyet azonban mérséklődött SOD specifikus aktivitás kísér, ami a O₂^{•-} generáló folyamatok csökkenésére utal. Letális sóstressz során, a H₂O₂ ET státuszfüggő, korai akkumulációjáért az APX aktivitás csökkenése és a SOD aktivitás emelkedése okolható. Az intenzívebb SOD aktivitás generálta H₂O₂ felhalmozódást a KAT és a POD, valamint az APX specifikus aktivitásának növekedése sem volt képes ellensúlyozni a 6. órában, az ACC kezelt vagy a *Nr* levelekben. **A letális sóstressz korai óráiban a SOD és H₂O₂ bontó enzimek aktivitásának finomhangolása szabályozza a levél H₂O₂ tartalmát, mely nagyban függ a levelek ET állapotától.**

9. Az ET státusz befolyásolja a fotoszintetikus aktivitást és a cukorháztartást paradicsomnövényekben sóstressz alatt. A 100 mM-os NaCl rövid időn belül csökkentette a sztómakonduktanciát a VT paradicsomlevelekben, mely a 250 mM-os kezelés esetében jóval erősebbnek bizonyult, de az ACC előkezelés mindkét esetben mérsékelt a sóstressz hatását. A nettó CO₂ asszimiláció mértéke és a C_i/C_a arány a szubletális sókezelést követően jól követte a sztómakonduktancia változásait, mely azt mutatja, hogy az ET tolerálható sókoncentrációnál 24 órán belül elsősorban a CO₂ elérhetőségén keresztül befolyásolta a CO₂ fixációt. Ugyanakkor letális sóstressz során, a sztomatikus faktorokon kívül egyéb folyamatok CO₂ asszimilációt gátló hatása is

felmerülhet, amire a C_i/C_a arány növekedése utal. Érdekes, hogy az A_N csökkenése letális stressz esetén az ACC kezelt növények leveleiben vagy a *Nr* mutánsokban kisebb mértékben következett be, mint a megfelelő sókezelést kapott VT növények esetében. **Az ET tehát részt vesz a stressz mértékének megfelelő válaszok kialakításában. A hormon mennyisége vagy éppen a jelátvitelének hiányossága ellentétes hatást válthatnak ki szubletális és letális stressz során a CO₂ asszimilációban.**

10. A sókezelések nem növelték a fotoinhibíciót 24 órán belül, mivel az F_v/F_m , F_0 és a $Y(NO)$ klorofill fluoreszcencia paraméterekben nem tapasztaltunk jelentős változást. A 100 mM-os NaCl kezelés nem befolyásolta a PSII és a PSI aktivitását az Ailsa Craig fajta VT leveleiben. Ugyanakkor 100 mM NaCl hozzáadására a *Nr* mutánsok $Y(II)$ értéke jelentős azonnali csökkenéssel válaszolt, melynek háttérében a mutánsokban megfigyelhető magas NPQ áll, melyet a 100 mM-os só kezelés tovább fokoz.

A letális sókezelés indukálta $Y(II)$ csökkenéssel összhangban, a PSI donor oldali limitációja megnőtt, ugyanakkor szimultán csökkent a $Y(NA)$ mértéke, mely az erőteljesen aktiválódott CEF-PSI-nek köszönhető, ami a *Nr* levelek esetében még tovább fokozódott mindkét sókoncentráció esetében. **A 100 mM-os és 250 mM-os NaCl kezelést követően a *Nr* levelek jelentős mértékben megemelkedett, fényregulált NPQ értékeiért a CEF-PSI megemelkedése felelős.** Az exogén ACC kezelés a 250 mM-os NaCl hozzáadását követő 6 óra elteltéig gátolta a CEF-PSI növekedését és így a NPQ indukcióját, mely megakadályozta a $Y(II)$ csökkenést, valamint a $Y(ND)$ megemelkedését. Ez egyúttal azt is jelenti, hogy a PSII gátlását az exogén ACC kezelés késleltette, ugyanakkor a $Y(NA)$ szimultán megemelkedésével megnövelte az esélyét az elektronok O₂-re jutásának, illetve a PSI fotoinhibíciójának. **Az ET tehát képes szabályozni a CO₂ asszimilációt a sztómakonduktanciától függő és független módon, a fotoszisztémák kvantumhasznosítását és a fotoprotektív folyamatokat, így PSI-CEF működését a *Nr* receptoron és az ACC elérhetőségén keresztül sóstressz során. Mindezek alapján PSI-CEF fontos és eddig ismeretlen résztvevőként javasolható abban a folyamatban, mely során az ET represszálja a NPQ legnagyobb hányadát**

adó, energia-függő kioltáshoz kapcsolódó xantofill ciklus egyik kulcsenzimének, a violaxantin-deepoxidáznak (VDE) az aktiválódását.

11. A *Nr* mutáns levelek a csökkent CO₂ fixáció ellenére sokkal magasabb keményítő tartalommal rendelkeztek, mint a VT társaik, mely arra enged következtetni, hogy **az ET jelátvitel szerepet játszik a keményítő bioszintézis/lebontás és a fotoszintézis közti egyensúly kialakulásában.**

12. **Az ET státusz változására a levél és a gyökér eltérően reagált.** A gyökércsúcsok életképességét a sóstressz az ET státusztól függetlenül csökkentette, viszont mind az ACC előkezelt, mind a *Nr* gyökerek érzékenyebbek bizonyultak a szubletális sóstresszre a VT-nál. Ez azonban még nem okozza a növényegyedek pusztulását, mert a hajtás sikeres akklimatizációja esetén újabb járulékos gyökerek indukálódhatnak. A levelekben az exogén ACC a *Nr* mutációval ellentétben több esetben növelte a sztómakonduktanciát és rövid távon a nettó CO₂ asszimiláció mértékét, és a *Nr* mutációval szemben emelte a PSII kvantumhatékonyságát is, ami elősegítheti a hajtás adaptációját. **Ugyanakkor, letális sókoncentráció jelenlétében, a *Nr* mutáció rövidtávon okozhat pozitív hatást egyes fiziológiai folyamatokra, mint például a fotokémiai rendszerek hatékonyabb fényvédelme és a megtartott CO₂ asszimilációs aktivitás. Ez azt mutatja, hogy a sikeres sóstressz akklimatizációt mind az ET többlet, mind az ET jelátvitel blokkolása gátolhatja szubletális sóstressz során, azonban eltérő kinetikával. Fontos azonban megjegyezni, hogy a különböző fiziológiai folyamatok finomszabályozottsága miatt ez nem közvetlenül vezet a növényegyedek pusztulásának fokozódásához. Ugyanakkor, csupán a *Nr* mutáció befolyásolta negatívan a levelek fotoszintetikus aktivitását szubletális sóstressz során a csökkent sztómakonduktancia és a túlérzékeny fényvédelmi mechanizmusok miatt. Eredményeink előrevetítik, hogy az ET tartalom és/vagy szignalizáció finomhangolása a stressz kifejlődésének bizonyos időpontjaiban, illetve az ET-termelés kinetikájának megváltoztatása viszont segítheti a sóstressz akklimatizációt.**

Köszönetnyilvánítás

A dolgozat megvalósításához anyagilag hozzájárultak az OTKA K101243 és a HUSRB/120/221/173 PLANTTRAIN IPA pályázatok. A jelölt tanulmányait a Szegedi Tudományegyetem Biológia Doktori Iskolája állami ösztöndíjjal finanszírozta.

Publikációs lista

MTMT azonosító: 10037573

A doktori eljárás alapját képező 2 db közlemény:

- Borbély P., Bajkán Sz., Poór P., Tari I (2019) Exogenous 1-amiocyclopropane-1-carboxylic acid controls photosynthetic activity, accumulation of reactive oxygen or nitrogen species and macroelement content in tomato in long-term experiments. *Journal of Plant Growth Regulation*. 1-17. **IF: 2,179** (2018)
- Péter Poór, Judit Kovács, Péter Borbély, Zoltán Takács, Ágnes Szepesi, Irma Tari (2015) Salt stress-induced production of reactive oxygen- and nitrogen species and cell death in the ethylene receptor mutant *Never ripe* and wild type tomato roots *Plant Physiology and Biochemistry* 97:pp. 313-322. **IF: 2,756**
Nyilvános idézők összesen: 14 Független: 10 Független: 4

Referált folyóiratban megjelent közlemények:

- Poór, Péter; Borbély, Péter; Czékus, Zsolt; Takács, Zoltán; Ördög, Attila; Popović, Boris; Tari, Irma (2019) Comparison of changes in water status and photosynthetic parameters in wild type and abscisic acid-deficient sitiens mutant of tomato (*Solanum lycopersicum* cv. Rheinlands Ruhm) exposed to sublethal and lethal salt stress *Journal of Plant Physiology* 232, pp. 130-140, 11 p. **IF: 2,825**
- Poór P, Borbély P., Bódi N, Bagyánszky M, Tari I (2019) Effect of salicylic acid on photosynthetic activity and chloroplast morphology under light and prolonged darkness. *Photosynthetica* 57, 367-376. **IF: 2,365**
- Zoltán Takács; Péter Poór; Péter Borbély; Zsolt Czékus; Gabriella, Szalai; Irma Tari (2018) H₂O₂ homeostasis in wild-type and ethylene-insensitive *Never ripe* tomato in response to salicylic acid treatment in normal photoperiod and in prolonged darkness *Plant Physiology and Biochemistry*, 126, pp. 74-85. **IF: 3,404**
- Poór P, Takács Z, Patyi G, Borbély P., Becsik O, Szekeres A, Tari I (2018) Dark-induced changes in the activity and the expression of tomato hexokinase genes depend on the leaf age. *South African Journal of Botany*, 118, 98-104. **IF: 1,504**
- Poór P, Ördög A, Czékus Z, Borbély P., Takács Z, Kovács J, Tari I (2018) Regulation of the key antioxidant enzymes by developmental processes and environmental stresses in the dark. *Biologia Plantarum* 62, pp 201–210. **IF: 1,384**
- Poór P, Borbély P., Kovács J, Papp A, Szepesi Á, Takács Z, Tari I (2014) Opposite extremes in ethylene/nitric oxide ratio induce cell death in cell suspension culture and in root apices of tomato exposed to salt stress. *Acta Biologica Hungarica* 65:pp. 428-438. **IF: 0,589**

Összesített IF: 17,007

Egyéb folyóiratcikkek:

- Orbán Cs., Csajbók Cs., É. Hegedűs N., Borbély P. (2015): Alteration of peroxidase activity, chlorophyll content and antioxidant-capacity of corn salad (*Valerianella locusta*) during storage. *Biotechnology: An Indian Journal*. 11(2):66-70.

A doktori disszertációhoz kapcsolódó konferencia közlemények:

- Borbély Péter; Poór Péter; Hegedűs Dóra; Tari Irma (2019) Oxidatív stresszválasz kialakulása különböző etilén státuszú paradicsomban sóstressz alatt In: Poór Péter; Blázovics Anna (szerk.) *Magyar Szabadgyök-*

- Kutató Társaság X. Kongresszusa: Program és összefoglalók Szeged, Magyarország: Szegedi Tudományegyetem, (2019) p. 26
- Borbély Péter, Poór Péter, Tari Irma (2018) Az etilén prekursor, 1-aminociklopropán-1-karbonsav hatása paradicsommövények fotoszintetikus aktivitására Hazai Fotoszintézis-kutatók Találkozója 2018. november 7-9. Mátrafüred (előadás)
- Borbély P. Czékus Z, Hegedűs D, Kurtulus G, Péter P, Tari I. (2017) Az etilén szerepe a reaktív oxigén- és nitrogénformák akkumulációjának szabályozásában sóstressznek kitett paradicsommövényekben. A Magyar Szabadgyök-Kutató Társaság 9. Kongresszusa, 2017. aug. 25-26., Gödöllő, Absztraktgyűjtemény 25. old. (előadás)
- Péter Borbély, Zoltán Takács, Orsolya Csíkos, Péter Poór, Irma Tari (2017) Exogenous ACC treatment affects photosynthetic activity and related parameters of tomato plants by a concentration dependent manner. A Magyar Növénybiológiai Társaság 12. kongresszusa, Szeged, 2017. aug. 30-szept. 1. (poszter)
- Péter Borbély, Péter Poór, Gábor Patyi, Irma Tari (2015) Effect of Ethylene Precursor ACC Pre-Treatment on Photosynthesis Under Salt Stress In: Jian-kang Zhu, Alisher Touraev (szerk.) Plant Abiotic Stress Tolerance III: Programme and Abstracts. Konferencia helye, ideje: Bécs, Ausztria, 2015.06.29.p. 63 (poszter)

Egyéb közlemények, poszterek, konferencia közlemények

- Marschall Marianna, Borbély Péter (2018) Újranedvesedés alatti fényvédelmi és regenerációs mechanizmusok háttérfolyamatainak, komponenseinek vizsgálata kiszáradástűrő és kiszáradásérzékeny mohafajokban. Hazai Fotoszintézis-kutatók Találkozója 2018. november 7-9. Mátrafüred (előadás)
- Marschall, M; Borbély, P; Pné-Kónya, E ; Sütő, Sz: Background processes and the components of photoprotection and regeneration under rehydration in desiccation-tolerant and desiccation-sensitive bryophytes Paper: 29. 1 p. In: Plant Biology Europe 2018 Conference : Photosynthesis Diversity Copenhagen, Dánia (2018) p. 1 (poszter)
- Zalán, Czékus; Orsolya, Csíkos; Dóra, Hegedűs ; Péter, Borbély ; Attila, Ördög ; Péter, Poór: Investigation of dark modulated endoplasmatic reticulum (ER) stress in tomato plants p. 116 In: Tamás, László; Zelenyánszki, Helga (szerk.) Fiatal Biotechnológusok Országos Konferenciája "FIBOK 2018": Abstract Book, Szeged, Magyarország: JATEPress Kiadó, (2018) (előadás)
- Poór Péter, Czékus Zalán, Borbély Péter, Takács Zoltán, Tari Irma: Növényi antioxidáns enzimek szalicilsav kezelést követő etilénfüggő szabályozása sötétben In: Mézes Miklós (szerk.) Magyar Szabadgyök-Kutató Társaság IX. Kongresszusa és az MTA ÉKB Mikroelem Munkabizottságának Tudományos Ülése. 2017.08.25 Gödöllő, Magyarország. (előadás)
- Marschall M, Borbély P, Sütő Sz (2017) Újranedvesedés alatti fényvédelmi és regenerációs mechanizmusok háttérfolyamatainak, komponenseinek vizsgálata kiszáradástűrő és kiszáradásérzékeny mohafajokban In: Györgyey János (szerk.) A Magyar Növénybiológiai Társaság XII. Kongresszusa. 72 p. 2017.08.30. Szeged, Magyarország. (előadás)
- Kovács J, Poór P, Borbély P, Czékus Z, Tari I (2017) Sóstresszre adott válaszreakciók paradicsomban: nitrogénmonoxid, reaktív oxigénformák és proteolízis indukciója abszcizinsav hiányos paradicsom mutánsokban. A Magyar Szabadgyök-Kutató Társaság 9. Kongresszusa, 2017. aug. 25-26., Gödöllő, Absztraktgyűjtemény 24. old. (előadás)
- Poór Péter; Zoltán, Takács ; Péter, Borbély ; Zalán, Czékus ; Irma, Tari (2017) Ethylene dependent changes in hydrogen-peroxide homeostasis after salicylic acid treatment in tomato p. 21 In: Andreas, Bachmair; Alisher, Touraev (szerk.) International Conference Plant Molecular Physiology: Programme and Abstracts (2017) 2017.02.23 (poszter)
- Poór Péter, Judit Kovács, Ágnes Szepesi, Péter Borbély, Gábor Patyi, Irma Tari (2016) Salt stress-induced oxidative stress in ethylene signaling mutant, Never ripe tomato. HUSBR/1203/221/173 „PLANTTRAIN”: Joint development of higher education and training programmes in plant biology in support of knowledge-based society. Closing Conference. 2016.05.23. Novi Sad, Serbia. (előadás)
- Zoltán Takács, Zalán Czékus, Péter Poór, Péter Borbély, Irma Tari (2016) Effect of light on the salicylic-induced oxidative stress in tomato. HUSBR/1203/221/173 „PLANTTRAIN”: Joint development of higher education and training programmes in plant biology in support of knowledgebased society. Closing Conference. 2016.05.23. Novi Sad, Serbia (előadás)

- Péter Poór, Zoltán Takács, Péter Borbély, Zalán Czékus, Gábor Patyi, Irma Tari (2016) Involvement of ethylene in hydrogenperoxide metabolism in the leaves of salicylic acid treated tomato. *Plant Biology Europe EPSO/FESPB 2016 Congress*. 2016.06.26 Prága, Csehország (poszter)
- Péter Poór, Zalán Czékus, Gábor Patyi, Péter Borbély, Judit Kovács, Zoltán Takács, Irma Tari: Investigation of Salt Stress-induced Changes in Water Status, Photosynthetic Parameters and Cysteine Protease Activity in Wild Type and Abscisic Acid-Deficient Stitens Mutant of Tomato (*Solanum Lycopersicum* cv. Rheinland Ruhm). In: Andreas Bachmair, Klaus Palme, Alisher Touraev (szerk.) *Programme and Abstracts: Plant Model Species: Fundamentals and Applications*. 2016.02.04. Bécs. Ausztria. p.23. (poszter)
- Tari Irma, Borbély Péter, Csiszár Jolán , Horváth Edit , Poór Péter, Szepesi Ágnes , Takács Zoltán (2016) Szalicilsav kémiai edzés hatása a paradicsom sóstressz toleranciájára In: Rajnai Zoltán, Fregán Beatrix , Marosné Kuna Zsuzsanna (szerk.) *Tanulmánykötet a 7. BBK előadásából*. 1-2. kötet . 1159 p. Konferencia helye, ideje: Budapest, Magyarország 2016.05.19 -2016.05.20. Budapest: Óbudai Egyetem, Bánki Donát Gépész és Biztonságtechnikai Mérnöki Kar, 2016. pp. 407-416. (ISBN:978-615-5460-97-5) (előadás és kiadvány)
- Poór, P., Kovács, J., Borbély, P., Takács, Z., Szepesi, Á., Tari, I. (2015) Sóstressz indukált változások a reaktív oxigén és nitrogénformák akkumulációjában etilénreceptor mutáns *Never ripe* és vad típusú paradicsomban. A Magyar Szabadgyök-Kutató Társaság VIII. Kongresszusa, Budapest, 2015. november 5-6. Absztraktfüzet, pp. 32.
- Péter Poór, Attila Ördög , Barnabás Wodala , Péter Borbély , Ionel Samfira , Monica Butnariu , Dóra Hegedűs , Katalin Szabó , Attila Pécsvárdi , Irma Tari (2015) Effect of Salinity Stress on Ion Accumulation and on the Photosynthetic Activity of a New Energy Plant, *Phalaris arundinacea* Cultivars. In: Alapi Tünde, Ilisz István (szerk.) *Proceedings of the 21st International Symposium on Analytical and Environmental Problems* . 445 p. Konferencia helye, ideje: Szeged, Magyarország , 2015.09.28 Szeged: Szegedi Tudományegyetem Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék, 2015. p. 392-4. (ISBN:978-963-306-411-5) (poszter és kiadvány)
- Péter Poór, Zoltán Takács, Péter Borbély, Ágnes Szepesi, Irma Tari (2015) Light and Darkness Modulate the Oxidative Burst And Enzymatic Antioxidant Systems In Salicylic Acid-Treated Tomato Leaf In: Laura De Gara, Massimo Delledonne (szerk.) *12th International Conference on Reactive Oxygen and Nitrogen Species in Plants: from model systems to field.*. Konferencia helye, ideje: Verona, Olaszország, 2015.06.24-2015.06.26.p. 111. (poszter)
- Ágnes Szepesi, Péter Borbély, Ágnes Hurton, Zoltán Takács, Szabolcs Tóth, Izabella Kovács, Christian Lindermayr, Irma Tari (2015) Polyamine catabolism under salt stress: inhibiting diamine oxidase by aminoguanidine. In: Irma Tari, Dániel Benyó Joint development of higher education and training programmes in plant biology in support of knowledge-based society: Opening Conference, BOOK OF ABSTRACTS. 2015.04.20 Szeged, Magyarország, Szeged: p. 12. 1 p. (előadás)
- Tari Irma , Borbély Péter , Csiszár Jolán , Gémes Katalin , Horváth Edit , Kovács Judit, Poór Péter, Szepesi Ágnes, Takács Zoltán (2014) Sóstressz tolerancia fokozása szalicilsavval paradicsomban: az abszcizinsav szerepe. In: Fodor F (szerk.) Paál Árpádtól a molekuláris növénybiológiáig: Tudományos ülés Paál Árpád születésének 125. és intézetigazgatói kinevezésének 85. évfordulója alkalmából. Konferencia helye, ideje: Budapest, Magyarország, 2014.12.16 Budapest: ELTE Biológiai Intézet Növényélettani és Molekuláris Növénybiológiai Tanszék, 2014. pp. 55-59. (ISBN:978-963-284-561-6) (előadás és kiadvány)
- Poór Péter, Kovács Judit, Borbély Péter Gábor, Takács Zoltán, Szepesi Ágnes, Tari Irma (2015) Exogén NO hatása a sóstressz indukált fiziológiai válaszreakciókra paradicsomban. Magyar Tudomány Ünnepe, Az MTA SZAB Biológiai Szakbizottság ünnepi tudományos ülése, Reprezentatív előadások a biológiai munkabizottságok kutatási területeiről. 2014. november 26: Szeged, Magyarország. (előadás)
- Péter Borbély, Péter Poór, Judit Kovács, Zoltán Takács, Gábor Patyi, Ágnes Szepesi, Irma Tari (2015) Exogenous sodium nitroprusside alleviates salt-induced changes in photosynthesis of tomato leaves. In: Györgyey J (szerk.): 11th Congress of the Hungarian Society of Plant Biology: Book of Abstracts.: MTA Szegedi Biológiai Központ, Szeged, Magyarország, p. 61. 2014.09.27. (poszter)

Nyilatkozat

Mint az alábbi közlemények felelős szerzője igazolom, hogy Borbély Péter Gábor Ph.D. jelölt jelentős mértékben hozzájárult az alábbi tudományos publikáció létrehozásához, és tézisében közölt eredményeit más Ph.D. értekezésben nem használjuk fel.

Borbély P, Bajkán Sz, Poór P, Tari I (2019) Exogenous 1-amiocyclopropane-1-carboxylic acid controls photosynthetic activity, accumulation of reactive oxygen or nitrogen species and macroelement content in tomato in long-term experiments. *Journal of Plant Growth Regulation*. 1-17.

Szeged, 2019. szeptember 23.



Dr. Görgényi Miklósné Dr. *Habil.* Tari Irma

egyetemi docens

SZTE-TTIK Növénybiológiai Tanszék

Péter Poór, Judit Kovács, Péter Borbély, Zoltán Takács, Ágnes Szepesi, Irma Tari (2015) Salt stress-induced production of reactive oxygen- and nitrogen species and cell death in the ethylene receptor mutant *Never ripe* and wild type tomato roots *Plant Physiology and Biochemistry* 97: pp.313-322.

Szeged, 2019. szeptember 23.



Dr. Poór Péter

egyetemi adjunktus

SZTE-TTIK Növénybiológiai Tanszék



Dr. Görgényi Miklósné Dr. *Habil.* Tari Irma

egyetemi docens

SZTE-TTIK Növénybiológiai Tanszék