

**A kitozán és a flagellin22 által indukált lokális és
szisztémikus védekezési válaszok etilén-, fény-, valamint
napszakfüggésének vizsgálata paradicsom növényekben**

Doktori (Ph.D.) értekezés

Czékus Zalán

Témavezetők:

Dr. Poór Péter

egyetemi docens

Dr. Ördög Attila

egyetemi adjunktus

Biológia Doktori Iskola
Növénybiológiai Tanszék

SZTE TTIK



Szeged

2022

Tartalomjegyzék

Tartalomjegyzék	2
Rövidítések jegyzéke	6
1. Bevezetés	9
2. Irodalmi áttekintés	10
2.1. A biotikus stressz növényekben	10
2.1.1. A növények védekezése patogéntámadás során	10
2.1.2. Lokális védelmi reakciók	12
2.1.3. Szisztémikus védelmi reakciók	17
2.2. A fény szerepe a növények védekezési folyamataiban	21
2.2.1. Fotoreceptorok a növényekben	21
2.2.2. A fény és a fotoszintézis szerepe a kórokozókkal szembeni védekezési válaszok szabályozásában	24
2.2.3. Cirkadián reguláció a növényi védekezésben	27
2.3. Az etilén	30
2.3.1. Az etilén bioszintézise és jelátvittele a növényekben	30
2.3.2. Az etilén fényregulációja a növényekben	32
2.3.3. Az etilén szerepe a növényi védekezési válaszokban	34
2.4. A kitozán	38
2.4.1. A kitin és a kitozán általános jellemzői és jelátvittele	38
2.4.2. A kitozán által indukált védekezési válaszok növényekben	40
2.4.3. Az etilén szerepe a kitozán által indukált védekezési válaszok szabályozásában	42
2.5. A flagellin	43
2.5.1. A flagellin általános jellemzői és jelátvittele	43
2.5.2. A flg22 által indukált védekezési válaszok növényekben	44
2.5.3. Az etilén szerepe a flg22 által indukált védekezési válaszokban	46
3. Célkitűzések	48
4. Anyagok és módszerek	50
4.1. Növénynevelési körülmények	50
4.2. Az alkalmazott kezelések	50
4.2.1. I. kísérleti elrendezés	51
4.2.2. II. kísérleti elrendezés	52

4.2.3. III. kísérleti elrendezés	52
4.2.4. IV. kísérleti elrendezés	53
4.3. Zárósejteken végzett kísérletek	54
4.3.1. Epidermisz-nyúzatok készítése	54
4.3.2. A sztómaapertúra vizsgálata	54
4.3.3. A zárósejtek ROS és NO produkciójának meghatározása	54
4.3.4. A zárósejtek klorofill fluoreszcencia indukciós paramétereinek meghatározása	55
4.4. Intakt leveleken végzett kísérletek	55
4.4.1. A szuperoxid gyökanion produkció meghatározása	55
4.4.2. A H ₂ O ₂ produkció meghatározása	56
4.4.3. A NO akkumulációjának meghatározása	56
4.4.4. Az intakt levelek klorofill fluoreszcencia indukciós paramétereinek meghatározása	56
4.4.5. A sztómakonduktancia és a CO ₂ asszimiláció meghatározása	57
4.4.6. Az ET produkció meghatározása	57
4.4.7. A SA- és a JA tartalom meghatározása	57
4.4.8. RNS izolálás, DNáz kezelés, cDNS írás, qRT-PCR	58
4.4.9. A fehérjetartalom meghatározása	60
4.4.10. A növényi kitináz aktivitás meghatározása	60
4.4.11. Western blot analízis	61
4.4.12. Statisztikai analízis	61
5. Eredmények	62
5.1. A CHT-indukálta lokális és szisztémikus védekezési válaszok fény-, valamint napszakfüggésének vizsgálata paradicsom növényekben	62
5.1.1. A sztómaapertúra méretének változása a különböző napszakokban alkalmazott CHT kezeléseket követően	62
5.1.2. A zárósejtek ROS-, valamint NO produkciójának változása a különböző napszakokban alkalmazott CHT kezeléseket követően	64
5.1.3. A zárósejtek fotoszintetikus aktivitásának változása a különböző napszakokban alkalmazott CHT kezeléseket követően	66
5.1.4. A mezofillum sejtek fotoszintetikus aktivitásának változása a különböző napszakokban alkalmazott CHT kezeléseket követően	69
5.1.5. A főbb védekezési hormonválasz gének expressziójának változása a különböző napszakokban alkalmazott CHT kezeléseket követően	72
5.2. A fény és az ET szerepének vizsgálata a CHT-indukálta lokális és szisztémikus védekezési válaszok szabályozásában	75

5.2.1. A CHT sztómazáródásra gyakorolt hatásainak fény- és ET-függése.....	75
5.2.2. A ROS produkció fény- és ET-függő változása a CHT kezeléseket követően ..	76
5.2.3. A NO termelődésének fény- és ET-függő változása a CHT kezeléseket követően	77
5.2.4. Az ET jelátvitel és a fény szerepe a CHT-indukálta ET produkcióban	77
5.2.5. Az ET jelátvitel és a fény szerepe a CHT hatására indukálódó ET bioszintézis gének expressziójában.....	78
5.2.6. A CHT kitináz enzimek expressziójára és aktivitására gyakorolt hatásának fény- és ET-függése.....	79
5.2.7. A CHT által indukált UPR fény-, valamint ET-függése	81
5.3. A flg22 által indukált gyors napszakfüggő lokális és szisztémikus védekezési válaszok ET-általi regulációja intakt paradicsom növényekben.....	83
5.3.1. A flg22-indukálta ROS produkció napszak- és ET-függése	83
5.3.2. A flg22-indukálta NO produkció napszak- és ET-függése	84
5.3.3. Az ET, JA és SA flg22 által indukált, lokális és szisztémikus akkumulációjának változása különböző napszakokban és annak ET-függése.....	85
5.3.4. Az <i>SIERF1</i> , <i>SIDEF</i> és <i>SIPRI</i> expressziójának ET- és napszakfüggő változása, flg22 kezelést követően.....	87
5.3.5. A flg22 sztómazáródásra gyakorolt hatásának ET- és napszakfüggése.....	89
5.4. A fotoszintetikus aktivitás szerepe a flg22 által indukált, napszak-, valamint ET-függő lokális és szisztémikus védekezési folyamatokban	90
5.4.1. A mezofillum sejtek fotoszintetikus aktivitásának ET-függő változása a különböző napszakokban alkalmazott flg22 kezeléseket követően	90
5.4.2. A zárósejtek fotoszintetikus aktivitásának ET-függő változása a különböző napszakokban alkalmazott flg22 kezeléseket követően	92
5.4.3. A zárósejtek ROS-, valamint NO produkciójának ET-függő változása a különböző napszakokban alkalmazott flg22 kezeléseket követően	94
5.4.4. A sztómakonduktancia és a CO ₂ asszimiláció ET-függő változása a különböző napszakokban alkalmazott flg22 kezeléseket követően	95
6. Eredmények értékelése	97
6.1. A CHT által indukált lokális és szisztémikus védelmi válaszok fény- és napszakfüggése	97
6.2. A CHT által indukált gyors lokális és szisztémikus védelmi válaszok fény- és ET általi regulációja.....	103
6.3. Az ET szerepe a flg22 által indukált fény- és napszakfüggő, gyors lokális és szisztémikus védekezési válaszokban.....	109
6.4. A flg22 által indukált, hosszútávú lokális és szisztémikus védelmi válaszok napszak- és ET-függése	116
7. Összefoglalás.....	121

8. Summary.....	124
9. Irodalomjegyzék	127
10. Mellékletek	150
11. Publikációs lista.....	151
11.1. Referált folyóiratokban megjelent közlemények	151
11.2. Referált folyóiratokban megjelent absztraktok.....	152
11.3. Könyvfejezetek	152
11.4. Konferencia előadások.....	153
11.5. Poszterek.....	155
11.6. Ismeretterjesztő folyóiratcikkek	156
12. Köszönetnyilvánítás	157
13. Nyilatkozat	158

Rövidítések jegyzéke

AA	Nátrium-acetát puffer (Acetic Acid, sodium salt buffer)
ABA	Abszcizinsav (Absciscic Acid)
ACC	1-Aminociklopropán-1-karbonsav (1-AminoCyclopropane-1-Carboxylic acid)
ACO	ACC-oxidáz
ACS	ACC-szintáz
APX	Aszkorbát-peroxidáz
AS	Aminosav
Avr	Avirulencia
AzA	Azelainsav (Azelaic Acid)
BAK1	BRI1-Associated receptor Kinase 1
BIK1	<i>Botrytis</i> -Induced protein Kinase 1
BiP	Endoplazmatikus retikulum chaperon, Binding Protein
BSA	Borjú szérum albumin (Bovine Serum Albumin)
CAT	Kataláz (Catalase)
CCA1	<i>Circadian Clock-Associated 1</i> gén
CDPK/CPK	Kalcium-függő protein kináz (Calcium-Dependent Protein Kinase)
CERK1	Kitin elicitor receptor kináz 1 (Chitin Elicitor Receptor Kinase 1)
CHI	Kitináz (Chitinase)
CHT	Kitozán (Chitosan)
CSOS/COS	CHT oligoszacharid
CTOS	Kitin oligoszacharid
CRY	Kriptokróm (Cryptochrome)
DAF-FM DA	4-Amino-5-metilamino-2',7'-difluoro-fluoreszcein diacetát
DEF	Defenzin
EF	Elongációs faktor
EIN2	ET-inszenzitív 2 (Ethylene Insensitive 2), ET receptor
ER	Endoplazmatikus retikulum
ERF1	ET-válasz faktor 1 (Ethylene Response Factor 1)
ERQC	ER Quality Control
ET	Etilén
ETI	Effektor-indukálta immunitás (Effector-Triggered Immunity)
ETR1	ET-válasz 1 (Ethylene Response 1), ET receptor
Flg22	Flagellin 22 aminosavas epitóp
FLS2	Flagellin-érzékelő receptor 2 (Flagellin Sensing 2)
FT	Friss tömeg
Fv/Fm	A második fotokémiai rendszer maximális kvantumhatásfoka sötétadaptációt követően
G3P	Glicerín-3-foszfát
GLU	β -1,3-glükanáz
H ₂ DCFDA	2',7'-dikloro-fluoreszcein-diacetát
HPLC	Nagynyomású folyadékkromatográfia (High Pressure Liquid Chromatography)
HR	Hiperszenzitív válasz (Hypersensitive Response)
HRP	Torma-peroxidáz (Horseradish Peroxidase)
ICS1	Izokorizmat-szintáz 1 (Isochorismate Synthase 1)
ISR	Indukált szisztémikus rezisztencia (Induced Systemic Resistance)

JA	Jázmonsav (Jasmonic Acid)
LAR	Lokális szerzett rezisztencia (Local Acquired Resistance)
<i>LHY</i>	<i>Late-Elongated Hypocotyl</i> gén
LOV	Fény-oxigén-feszültség-érzékeny domén (Light-Oxygen-Voltage-sensitive domain)
LRR	Leucin-gazdag ismétlődés (Leucin Rich Repeat)
LYK1	Lizin motívumot tartalmazó receptor-szerű kináz 1 (LysM-containing receptor-like Kinase 1)
LysM	Lizin motívum
MAMP	Mikroba-kapcsolt molekuláris mintázat (Microbe-Associated Molecular Pattern)
MAPK	Mitogén-aktivált protein kináz (Mitogen-Activated Protein Kinase)
MeSA	Metil-szalicilsav (Methyl-Salicylic Acid)
MTA	5'-metiladenozin
NAG	N-acetil-D-glükózamin
NB-LRR	Nukleotid-kötő LRR-gazdag receptor
NHP	N-hidroxi-pipekolinsav
NO	Nitrogén-monoxid
NPQ	A fényindukált energia disszipáció kvantumhatásfoka a második fotokémiai rendszerben (Non-Photochemical Quenching)
<i>Nr</i>	<i>Never ripe</i> (ET receptor) paradicsom mutáns
oANI	Orto-anizinsav
OST1	Open Stomata 1 kináz
PAL	Fenilalanin-ammónia-liáz (Phenylalanine Ammonia Lyase)
PAMP	Patogén-kapcsolt molekuláris mintázat (Pathogen-Associated Molecular Pattern)
PCD	Programozott sejthalál (Programmed Cell Death)
Pfr	Távoli vörös fényt abszorbeáló fitokróm forma
p-HBA	Para-hidroxi-benzoésav (P-HidroxyBenzoic Acid)
PHOT	Fototropin (Phototropin)
PHY	Fitokróm (Phytochrome)
PIF	Fitokróm interakciós faktor (Phytochrome-Interacting Factor)
Pip	Pipekolinsav
PM	Plazmamembrán
<i>p</i> -NP-(GlcNAc) <i>n</i>	<i>p</i> -nitrofenil <i>N</i> -acetil-β-D-glükózamidin
POD	Gvajakol-peroxidáz (Peroxidase)
Pr	Vörös fényt abszorbeáló fitokróm forma
PR	Patogenezishez kapcsolódó (Pathogenesis-Related) gén/fehérje
PRR	Mintázatfelismerő receptor (Pattern Recognition Receptor)
<i>PRR5/7/9</i>	<i>Pseudo-Response Regulator 5/7/9</i> gén
PsbS	Második fotokémiai rendszer S alegység (PSII Subunit S)
PSI/II	I/II-es fotokémiai rendszer (Photosystem I/II)
<i>Pst</i>	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i>
PTI	PAMP-indukálta immunitás (PAMP-Triggered Immunity)
qP	Fotokémiai kioltási együttható
qRT-PCR	Kvantitatív valós idejű polimeráz láncreakció (Quantitative Real-Time Polymerase Chain Reaction)
<i>R</i>	Rezisztencia gén
Rboh	NADPH-oxidáz (Respiratory burst oxidase homolog)

RLCK	Receptor-szerű citoplazmatikus kináz (Receptor-Like Cytoplasmic Kinase)
RLK	Receptor-szerű kináz (Receptor-Like Kinase)
ROS	Reaktív oxigénformák (Reactive Oxygen Species)
RT	Reverz transzkriptáz
SA	Szalicilsav (Salicylic Acid)
SABP2	SA-kötő protein 2 (Salicylic Acid-Binding Protein 2)
SAM	S-adenozil-L-metionin
SAR	Szisztémikus szerzett rezisztencia (Systemic Acquired Resistance)
SE	Standard hiba (Standard Error)
SLAC1	Slow Anion Channel-associated 1 anioncsatorna
SOD	Szuperoxid-dizmutáz
T3SS	3-as típusú szekréciós rendszer (Type-3 Secretion System)
TCA	Triklórecetsav (Trichloroacetic Acid)
TCV	Tarlórépa göndörödés vírus (Turnip Crinkle Virus)
TF	Transzkripció faktor
TMV	Dohány mozaik vírus (Tobacco Mosaic Virus)
<i>TOC1</i>	<i>Timing Of CAB Expression 1</i> gén
UPLC	Ultra nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia (Ultra Performance Liquid Chromatography)
UPR	Unfolded Protein Response
UVR	UV receptor
VT	Vad típus
Φ_{PSII}	A második fotokémiai rendszer effektív kvantumhatásfoka fényadaptációt követően

1. Bevezetés

A növények növekedését és fejlődését az abiotikus tényezőkkel szembeni tolerancia mellett szükségszerűen meghatározza a különböző patogénekkal szembeni védekezés hatékonysága, mely a mezőgazdasági növénytermesztés szempontjából is kiemelt jelentőségű. Ezen okból kifolyólag, napjainkban a növénybiológiai kutatások jelentős hányada irányul a növénypatogén kórokozókkal szembeni ellenállóképesség fokozására. Laboratóriumi körülmények között az egyik legelterjedtebben használt, növényi védekezési válaszok indukciójára képes elicitor molekulák a gomba sejtfal eredetű kitozán (CHT), valamint a bakteriális ostor felépítésében részt vevő flagellin 22 aminosavas epitópjá (flg22). A növény-patogén interakciók kimenetelét ugyanakkor alapvetően meghatározzák a külső környezeti körülmények, mint a fény jelenléte vagy hiánya, éppúgy, mint a napszak vagy a növények endogén cirkadián órája. Azonban annak ellenére, hogy a fény egyaránt befolyásolja a fotoszintézis hatékonyságát, a reaktív oxigénformák (ROS) és reaktív nitrogénformák termelődését, valamint a növényi stresszhormonok metabolizmusát, a biotikus stresszválaszok fényfüggésének pontos mechanizmusa még nagyrészt ismeretlen. Az egyik legfontosabb, növényi védekezésben szerepet játszó hormon a gáz halmazállapotú etilén (ET), ugyanakkor a biotikus stressz során betöltött pontos funkciójára, valamint fény általi regulációjára vonatkozó információk a szakirodalomban gyakran ellentmondásosak és hiányosak. Habár általában az adott környezeti tényező változása a növény egészét érinti, gyakran annak csak egy lokalizált része érzékeli ezt, mely különösen érvényes a patogénfertőzésekre. Az infekció helyén képződő, hosszútávú szignalizációban részt vevő jelátvivő molekulák ugyanakkor lehetővé tehetik a gyors akklimatizációt, valamint a szisztémikus rezisztencia kialakulását, ezáltal biztosítva a túlélést. Ezen szisztémikus szignálok aktivációjának fény-, napszak-, illetve ET-függése szintén napjaink stresszbiológiai kutatásainak az egyik legújabb területe.

Munkánk során célul tűztük ki a CHT és flg22 által okozott gyorsan és lassan indukálódó védekezési válaszok napszak-, illetve fényfüggésének feltárását, mely az irodalmi adatok alapján még nem ismert. A lokális rezisztencia mellett az egész növényre kiterjedő, szisztémikus válaszokat az intakt paradicsom növények disztális leveleinek vizsgálatával határoztuk meg. Az ET különböző elicitorok által indukált fény- és napszakfüggő lokális és szisztémikus védelmi válaszokban betöltött szerepét tisztázva kísérleteinket ET receptor mutáns (*Never ripe*) paradicsom növényeken is elvégeztük.

2. Irodalmi áttekintés

2.1. A biotikus stressz növényekben

2.1.1. A növények védekezése patogéntámadás során

A növények számára, szesszilis életmódjukból adódóan nélkülözhetetlen a dinamikusan változó abiotikus környezeti tényezők, valamint a különböző patogének támadásainak mihamarabbi érzékelése a hatékony védekezési válaszok generálása céljából, ezáltal biztosítva az akklimatizációjukat és túlélésüket (Zandalinas és mtsai. 2019). Ennek érdekében a növényi „immunitás” a mikrobiális homeosztázis folyamatos monitorozására specializálódott, mely szorosan kapcsolódik az abiotikus stressz érzékeléséhez (Saijo és Loo, 2020). A növények elsődleges, passzív védelmi rendszere olyan fizikai gátakat foglal magában, mint az epidermiszt borító kutikula és viasz, vagy a trichómák jelenléte, emellett azonban speciális kémiai vegyületeket (pl.: szaponinok) is szekretálnak a patogéntámadás megakadályozása érdekében (Taiz és Zeiger, 2006; Bednarek és Osbourn, 2009). Abban az esetben azonban, ha a mikrobák áttörik ezeket a fizikai gátakat, a kórokozók felismerésének kifinomult mechanizmusai aktiválódnak a növényekben (Bigeard és mtsai. 2015).

A növény-patogén kölcsönhatások leírására a legáltalánosabban elfogadott elképzelés a Jones és Dangl-féle (2006) cikcakk modell, mely a növényi immunitás elsődleges és másodlagos védelmi vonalait különbözteti meg. A növények a patogéneket különböző, evolúciósan konzervált molekuláris mintázatok felismerése útján érzékelik, a sejtfelszínen lokalizálódó mintázatafelismerő receptorok (PRR) segítségével (Jones és Dangl, 2006). Ilyen PRR-ek a leucin-gazdag ismétlődéseket (LRR) tartalmazó receptor-szerű kinázok (RLK), mint az FLS2 (Flagellin Sensing 2) és az EFR, melyek a bakteriális flagellin (flg22 epitóp), illetve az elongációs faktor (EF)-Tu (elf18/elf26 epitóp) felismeréséért felelősek, valamint a lizin motívumot (LysM) tartalmazó RLK kitin elicitor receptor kináz (CERK1), mely a gomba eredetű kitin oligomereket detektálja (Couto és Zipfel, 2016). A hagyományos, patogén-kapcsolt molekuláris mintázat (PAMP) helyett ma már előnyben részesítik a mikroba-kapcsolt molekuláris mintázat (MAMP) kifejezés használatát, mivel a legtöbb mikroba patogenitásától függetlenül rendelkezik azon speciális struktúrákkal, melyek elicitorokként funkcionálhatnak (Bittel és Robatzek, 2007; Boller és Felix, 2009). A MAMP-ok érzékelését követően, ko-receptorok kapcsolódása révén olyan

komplexek alakulnak ki, melyek elősegítik a receptor-szerű citoplazmatikus kinázok (RLCK) leválását, ezáltal aktiválva a PRR-eket (Saijo és Loo, 2020). A ligandumok receptorhoz kötődése emellett Ca^{2+} beáramlást indukál a citoplazmába, mely fontos jelátviteli szerepet tölt be, valamint aktiválja a Ca^{2+} -kapcsolt citoplazmatikus protein kinázokat (CDPK/CPK) (Saijo és Loo, 2020). Mindezek együttes eredményeként alakul ki egy alapszintű védelmi állapot, a növények elsődleges védelmi vonalát jelentő PAMP-indukálta immunitás (PTI) (Iqbal és mtsai. 2021).

A mikrobiális fitnesz fokozása érdekében a patogének ugyanakkor olyan speciális, fajra jellemző effektor molekulákat (virulencia faktorokat) termelhetnek, melyek a PTI során kialakult rezisztenciát legyőzve lehetővé teszik a kórokozók további terjedését (Thomma és mtsai. 2011). Baktériumok esetében az egyik legnagyobb jelentőséggel rendelkező effektor molekulák a koronatin, valamint a III-as típusú szekréciós rendszer (T3SS), melyen keresztül nagyszámú virulenciát fokozó effektor juthat a gazdaszervezetbe (Toruño és mtsai. 2016). A gombák elsődleges virulenciafaktoraiként a mikotoxinok (pl.: fumonizinek) funkcionálnak (Blacutt és mtsai. 2018). Ezen effektorok érzékelésére azonban a növényekben olyan speciális, nukleotidkötő motívumokat tartalmazó LRR receptorok (NB-LRR) alakultak ki, melyek aktiválódásukat követően hatékonyan képesek további immunválaszok kiváltására, melyek együttesét összefoglalóan effektor-indukálta immunitásnak (ETI) nevezzük (Dodds és Rathjen, 2010). Az effektor proteinek (régőbbi elnevezésük szerint avirulencia fehérjék, Avr) felismeréséért felelős NB-LRR receptorokat speciális betegség rezisztencia (*R*) gének kódolják (Jones és Dangl, 2006; Thomma és mtsai. 2011).

Az ETI a PTI-hez képest gyorsabban aktiválódó, tartósabban fennálló, gyakran a fertőzés helyén kialakuló hiperszenzitív válasszal (HR) kísért folyamat, melynek során az infekciós pontot körülvevő sejtek programozott sejthalállal (PCD) elpusztulnak, megakadályozva a patogének további terjedését az egészséges szövetek felé (Caplan és mtsai. 2008). A HR nem szükségszerű, de gyakori kísérője az ETI válasznak (Jones és Dangl, 2006). A PTI és az ETI aktiválódása is kiválthatja a lokális rezisztenciát (Thomma és mtsai. 2011). Az ETI szerepe ugyanakkor nem kizárólag a lokális rezisztencia biztosítására korlátozódik, mivel hosszútávú transzportra képes szignalizációs molekulák generálása révén az egész növényre kiterjedő, szisztemikus szerzett rezisztencia (SAR) kiváltásához is hozzájárul (Fu és Dong, 2013). A természetes szelekció eredményeként azonban számos patogén az ETI válaszok kivédésére is képes, így egy folyamatos, evolúciós versenyfutás zajlik a növények és kórokozók közt, melynek kimenetelét az újabb

védelmi stratégiák minél gyorsabb mozgósíthatósága mellett nagymértékben meghatározza a változó környezeti feltételekhez való alkalmazkodóképesség is (Roden és Ingle, 2009; Anderson és mtsai. 2010; Thomma és mtsai. 2011).

2.1.2. Lokális védelmi reakciók

A növények optimális fejlődésének és reprodukciójának biztosítása érdekében kulcsfontosságú, hogy a különböző környezeti faktorokra, valamint a patogéntámadásra rövid időn belül válaszoljanak (Klessig és mtsai. 2018; Fichman és Mittler, 2020). Kollist és mtsai. (2019) a gyors növényi válaszokat olyan fiziológiai, molekuláris, biokémiai vagy metabolikus reakciókként definiálták, melyek mindössze perceken, vagy akár másodperceken belül aktiválódnak abiotikus vagy biotikus stressz esetén.

A citoszolikus Ca^{2+} koncentráció növekedése biztosítja az egyik legkorábbi szignált biotikus stressz során, mely akár 30 másodpercen belül indukálódik, majd 4-6 percen belül tetőzik, ezáltal pedig a növényi immunszignalizációs hálózatok egyik központi elemeként funkcionál (Bigeard és mtsai. 2015; Aldon és mtsai. 2018). A növényi sejtekben az intracelluláris Ca^{2+} koncentrációban történő változások lokális- és hosszútávú válaszokká alakításáért speciális, Ca^{2+} szenzor proteinek felelősek, melyek közül a legismertebb a CDPK/CPK család (Kudla és mtsai. 2010; Delormel és Boudsocq, 2019). Ehhez hasonlóan, perceken belül aktiválódnak a mitogén-aktivált protein kináz (MAPK) kaszkádok, amelyek foszforilációs változások közvetítésével transzkripcionális átprogramozást eszközölhetnek a növényekben (Yu és mtsai. 2017).

A biotikus stresszre adott gyors válaszreakció az oxigén nem teljesen redukált származékainak (reaktív oxigénformák, ROS) akkumulációja, melyek közül a legtöbbet tanulmányozott a szinglet oxigén ($^1\text{O}_2$), a szuperoxid gyökanion (O_2^-), a hidrogén-peroxid (H_2O_2), valamint a hidroxilgyök ($\cdot\text{OH}$) (Camejo és mtsai. 2016). Az extenzív ROS produkció károsíthatja a proteinek és a DNS struktúráját, valamint a membránlipidek peroxidációját idézheti elő, ami végső soron sejthalálhoz vezethet (Czarnocka és Karpiński, 2018). A ROS molekulák számos helyen keletkezhetnek a növényi sejtben, patogénfertőzés esetén ez azonban elsősorban a plazmamembránban (PM) lokalizált NADPH-oxidáz (Rboh), valamint a sejtfal-peroxidázok (PRX33/34) aktivitásának tulajdonítható, melynek során O_2^- akkumulálódik a PM apoplastikus oldalán, melyből annak dizmutációja során rövid időn belül H_2O_2 képződhet (Qi és mtsai. 2018a; Zhang és mtsai. 2018). Ennek fő oka, hogy a növény-mikroba kölcsönhatások legfontosabb színtere

az apoplaszt, ahol a patogének inváziója az oxidatív robbanás generálása révén fékezhető meg a leggyorsabban (Miller és mtsai. 2017). Miután egy sejtben fokozódik a ROS produkció, autokatalitikus módon önmaga, valamint a környező sejtek ROS termelését is fokozhatja, ezáltal ROS hullámot generálva (Suzuki és mtsai. 2013). A patogéntámadás helyén indukálódó HR fontos eleme a gyors oxidatív robbanás, melynek során az infekciós pontot körülvevő sejtek PCD során elpusztulnak, megakadályozva a biotróf patogének további invázióját (Wu és mtsai. 2014). A HR mellett az apoplasztikus ROS produkció fontos szerepet játszik a sejtfal erősítésében a kallóz depozíció fokozásával, mely *Magnaporthe grisea* fertőzés esetén paradicsomban már az infekciót követő 24 órán belül megfigyelhető (Uma és Podile, 2015). Kimutatták azonban, hogy dohány növényben a nekrotróf *Botrytis cinerea* által indukált kloroplasztikus ROS termelés nagymértékben hozzájárul a fertőzés sikerességéhez (Rossi és mtsai. 2017).

A ROS molekulák amellet, hogy a sejthalál folyamatának kulcsfontosságú elemei, másodlagos szignálként funkcionálva fontos szerepet játszanak a kórokozókkal szembeni rezisztencia kialakításában is, melynek során, mint intracelluláris kapcsolók, a sejtek normál metabolizmusához kapcsolódó folyamatok helyett a stresszel szembeni akklimatizációs és védekezési programokat aktiválják (Gaupels és mtsai. 2017; Turkan, 2018; Fichman és Mittler, 2020). A H_2O_2 , mivel az egyik leghosszabb félélettíddel és a legnagyobb migrációs távolsággal rendelkező ROS, különösen fontos szerepet játszik a sejtek közötti információátadásban (Mittler, 2017). A Ca^{2+} és ROS hullámok szoros interakciók által erősítik egymást, mivel a Ca^{2+} kötődését követően a CPK5 foszforilálja, ezáltal pedig aktiválja a NADPH-oxidázt (Dubiella és mtsai. 2013). A képződött H_2O_2 a disztális szövetekbe jutva segíti a patogénrezisztencia kialakulását, valamint még ismeretlen módon fokozza a Ca^{2+} csatornák nyitódását (Gilroy és mtsai. 2014; Vlot és mtsai. 2021).

A ROS mellett jól ismert, hogy a reaktív nitrogénformák káros hatásai mellett szintén képesek szignalizációs funkció betöltésére (Corpas és mtsai. 2007). Ezen molekulák alatt elsősorban a nitrogén-monoxidot (NO), valamint annak oxidált származékait értjük, mint például a nitrogén-dioxid (NO_2) vagy a dinitrogén-trioxid (N_2O_3) (Hardy és mtsai. 2018). A NO O_2^- jelenlétében, azzal reakcióba lépve peroxinitrit ($ONOO^-$) képződését eredményezheti, mely rövid időn belül NO_2 valamint $\cdot OH$ molekulákká alakulhat, mely utóbbi súlyos oxidatív károsodást eredményezhet a membránlipidek peroxidációja révén (Lamattina és mtsai. 2003). A NO hatását azonban elsősorban közvetetten, származékainak különféle makromolekulákkal való kölcsönhatásai

során, azok poszttranszlációs módosításai által fejtik ki, melyek egyaránt befolyásolhatják az adott reakciópartner aktivitását vagy funkcióját a növényekben (Lindermayr és mtsai. 2005). Ilyen, reaktív nitrogénformák által közvetített folyamatok a cisztein tartalmú fehérjék tiol csoportjainak *S*-nitrozilációja, melynek során *S*-nitrozotiolok képződnek; a fémion kofaktorokat tartalmazó metalloproteinek nitrozilációja, mely fém-nitrozil-komplexek képződését eredményezi, valamint a fehérjék tirozin oldalláncainak irreverzibilis modifikációja nitrotirozinná (Lindermayr, 2018). Mivel ez utóbbi folyamat elsősorban az ONOO⁻ közreműködése által valósul meg, a tirozin nitrációs szint az ONOO⁻-produkció egyik legfontosabb markerének tekinthető (Lindermayr, 2018). A redukált glutation (GSH), valamint a NO interakciója során, *S*-nitroziláció révén *S*-nitrozoglutation (GSNO) képződik, mely a sejten belüli egyik legfontosabb NO rezervoárnak tekinthető (Corpas és mtsai. 2013). A növényi sejtekben NO a legnagyobb valószínűséggel a nitrát-reduktáz működése során képződik, mivel az állati rendszerekhez hasonló, NO-szintáz (NOS)-szerű enzimet máig kizárólag algákban azonosítottak (Hussain és mtsai. 2022). A NO amellett, hogy közvetlenül gátolja a gombaspórák csírázását, exogén alkalmazása esetén fokozza a betegségrezisztencia kialakulását a növényekben (Lai és mtsai. 2014; Yu és mtsai. 2020). Koncentráció-függő módon, valamint a különböző környezeti szignálok és a sejt redox állapotának függvényében egyaránt elősegítheti vagy gátolhatja a PCD progresszióját (Wang és mtsai. 2010). A HR során szintén fontos szerepet játszik, valamint olyan szignalizációs folyamatokban vesz részt, melyek számos védekezésben szerepet játszó gén expresszióját, valamint antimikrobiális metabolitok (pl.: fitoalexinek) termelődését fokozzák, koncentráció-függő módon (Mur és mtsai. 2017; Martínez-Medina és mtsai. 2019).

A patogéntámadás helyéről diffundálódó szignálok közvetítésével, már közvetlenül a HR által érintett terület környezetében kialakulhat a lokális szerzett rezisztencia (LAR) (Cordelier és mtsai. 2003). A LAR létrejöttében kulcsfontosságú a gyors sztómazáródás, a védekezésben szerepet játszó, patogenezishez kapcsolódó (PR) fehérjék akkumulációja, valamint a fenilpropanoid útvonalon keresztül szintetizálódó enzimek termelődése (Cordelier és mtsai. 2003).

Mivel a gombákkal ellentétben a baktériumok nem képesek közvetlenül az epidermiszbe hatolni, a sebzési felületeken kívül a zárósejtek által formált gázcserenyílás szolgálhat számukra potenciális infekciós kapuként a fertőzésük során (Melotto és mtsai. 2006). Éppen ezért, patogéntámadás alkalmával az egyik legjelentősebb, percekben belül aktiválódó védelmi válasz a sztómazáródás, mely a növényi védekezés egyik elsődleges

védelmi vonalát biztosítja (Wang és Gou, 2021). Patogénfertőzés során a NADPH-oxidáz és sejtfa-peroxidázok által termelt O_2^- a sztómazáródás egyik fő kiváltója, azonban a NO is szükséges hozzá (Melotto és mtsai. 2006; Kadota és mtsai. 2014). Mivel mind az abszcizinsav (ABA) jelátvitel, mind a patogéntámadás által indukált sztómazáródás számos szignalizációs komponense megegyezik (pl.: ABA receptor regulátorok, 2CA protein foszfataz (PP2CA), OPEN STOMATA 1 (OST1) kináz, ROS, NO, Ca^{2+} , G protein α alegység, SLOW ANION CHANNEL-ASSOCIATED 1 (SLAC1)- és K^+ csatornák), az ABA fontos szerepet játszhat a patogéntámadás által indukált sztómaválaszokban is (Melotto és mtsai. 2017).

A PR fehérjék a növények fontos fegyvereiként funkcionálnak a különböző patogéntámadások során. Habár funkciójuk intenzíven kutatott, többek közt ismert, hogy képesek toxinok vagy virulenciafaktorok hatástalanítására, valamint a sejtfa megerősítésével a további patogéntámadás megfékezésére, működésük molekuláris mechanizmusa még nem teljesen feltárt (Jiang és mtsai. 2015; Kushalappa és mtsai. 2016). A durva felszínű endoplazmatikus retikulumon (ER) keresztül történő szintézisüket követően, a kis molekulatömegű PR fehérjék (5-75 kDa) szekretálódnak, majd a vakuólumba vagy az apoplastba kerülnek (Edreva, 2005). Normál körülmények között kis mennyiségben szintetizálódnak a növényi szövetekben, azonban patogénfertőzés hatására mind a lokális, mind a szisztémikus expressziójuk szignifikánsan fokozódik, hozzájárulva a HR és SAR kialakításához (Návarová és mtsai. 2012; Ali és mtsai. 2017; Jain és Khurana, 2018).

Biokémiai és molekuláris sajátásaik alapján 17 családba sorolhatók a PR fehérjék (Sels és mtsai. 2008). A PR-1 fehérjecsalád tagjai a legnagyobb mennyiségben termelt fehérjék patogéntámadás során, fertőzött dohánylevélben kimutatták, hogy akár a teljes fehérje mennyiség 2%-át is kitehetik (Alexander és mtsai. 1993). Valószínűleg azonban kiemelt jelentőségük van a növényi fejlődési folyamatok és egyéb stresszválaszok regulációjában is, mivel az ismert növényi genom adatbázisok nem rendelkeznek feljegyzett *PR-1* génkiütéses (knockout) mutánsokkal (Lincoln és mtsai. 2018). A legtöbb PR1 fehérje az apoplastikus térben akkumulálódik, viszont a vakuólumban is felhalmozódhatnak (Sessa és mtsai. 1995). A *PR-1* expressziója hosszú ideje a szalicilsav (SA) által szabályozott SAR indukciójának az egyik legáltalánosabban használt markere, mivel kifejeződése mind a lokális, fertőzött és a disztális, szisztémikus levelekben fokozódik patogéntámadást követően (Breen és mtsai. 2017). Megfigyelték, hogy hatékonyan gátolja mind a nekrotróf (*Pyrenopora teris*) és biotróf (*Blumeria graminis*)

gomba-, bakteriális patogén-, valamint a dohány mozaik vírus (TMV) fertőzést, működésének molekuláris mechanizmusa azonban még ismeretlen (Ali és mtsai. 2018; Lincoln és mtsai. 2018; Shoaib és mtsai. 2020).

Ugyancsak a SA szignalizációs útvonalon keresztül, biotróf patogéntámadás során fokozódik a PR-2 (savas β -glükánáz), valamint a PR-5 (thaumatin-szerű fehérje) expressziója, lokálisan és szisztemikusan egyaránt (Breen és mtsai. 2017; Ali és mtsai. 2018). Ezzel szemben a nekrotróf patogének a jázmonsav (JA) szignalizációs útvonalon keresztül aktiválódó PR-3 (kitináz), PR-4 (hevein-szerű proteáz), valamint PR-12 (defenzin) lokális akkumulációját indukálják, melyek alapvető szerepet játszanak a LAR kialakulásában (Ali és mtsai. 2018).

A szekréciós fehérjék negyedleges térszerkezetének megfelelő kialakítása („folding”) az ER-ban lezajló folyamat, mely egyaránt nélkülözhetetlen azok irányított transzportjához, valamint biológiai funkciójuk betöltéséhez (Afrin és mtsai. 2020). Gyakori jelenség azonban, hogy a védekezési válaszok kivitelezése során a hirtelen, nagy mennyiségben képződő fehérjék negyedleges térszerkezetének precíz kialakítását az ER folding kapacitása nem képes biztosítani, melynek következtében „unfolded” vagy „misfolded” proteinek akkumulálódnak az ER-ben, ER stresszt generálva (Bao és Howell, 2017). A hibás térszerkezetű fehérjék felhalmozódása ún. „unfolded protein választ” (UPR) vált ki, mely a foldingot elősegítő, vagy a fehérjék eltávolítását végző fehérjék upregulációját segíti transzkripcionális vagy transzlációs folyamatok révén (Deng és mtsai. 2013). Az „unfolded” proteinek jelenlétét az ERQC (ER quality control) rendszer érzékeli, melynek komponensei ezt követően fokozottan expresszálódnak (pl.: chaperonok, (N)-glikán modifikációt segítő enzimek) (Iwata és Koizumi, 2012; Strasser, 2018; Nagashima és mtsai. 2020). Az ER stressz érzékelése a növényekben két fő útvonalon keresztül valósul meg, melyben ER membrán-kötött fehérjék vesznek részt. Normál körülmények között az ER lumenális kötőfehérje (BiP) asszociációja az IRE1 (Inositol Requiring Enzyme 1) fehérjével meggátolja annak dimerizációját, mely szükséges biológiai funkciójának betöltéséhez, míg a bZIP28/17 transzkripciós faktorokat (TF) az ER membránhoz horgonyozva a BiP meggátolja azok Golgi-apparátusba történő transzportját, mely szintén az UPR aktivációját eredményezné (Howell, 2021). ER stressz során azonban az unfolded proteinek akkumulációja elősegíti a BiP disszociációját, így a hibás térszerkezetű fehérjék foldingját, mely egyúttal az UPR szignalizációs útvonalakat is aktiválja (Singh és mtsai. 2021). A BiP az egyik legfontosabb chaperon, mely az (N)-glikán-független fehérjemodifikációs útvonalban vesz részt, így expressziója

jelentősen fokozódik az UPR során (Wan és Jiang, 2016; Wang és mtsai. 2017a). A BiP akkumulációját a SA szignalizáció pozitívan regulálja, azonban az egyéb hormonok, különösen az etilén (ET) szerepe még nem tisztázott a folyamatban (Malerba és mtsai. 2010; Poór és mtsai. 2019a).

2.1.3. Szisztémikus védelmi reakciók

Mivel a növények nem rendelkeznek mobilis immunsejtekkel, a szisztémikus szignálok kiemelten fontos szerepet játszanak az egész szervezetre kiterjedő védekezési válaszok kialakításában (Ausubel, 2005). Mind az ETI és PTI fokozza a SAR indukciójához szükséges hosszútávú szignalizációs molekulák produkcióját, mely laboratóriumi körülmények között kiváltva általában 3-10 napig tartó védelmet biztosít (Vlot és mtsai. 2009; Vlot és mtsai. 2021). A SAR megvalósításában a lokális fertőzés jellegétől független, arra nem specifikus komponensek vesznek részt (Fu és Dong, 2013). Az utóbbi években számos molekulát azonosítottak, mint potenciális hosszútávú szignalizációs jelátvivő, melyek mindössze néhány másodperc vagy perc alatt aktiválódnak biotikus stressz során. Ezek közt, a ROS és reaktív nitrogénformák mellett a legfontosabbak a metil-szalicilsav (MeSA), azelainsav (AzA), pipekolinsav (Pip), N-hidroxi-Pip (NHP), ET, JA, valamint a monoterpének (Shah és Zeier, 2013; Fichman és Mittler, 2020; Gao és mtsai. 2021).

A lokális és szisztémikus válaszok integrálása génexpressziós változásokon keresztül történik, melyek legfontosabb szabályozói a ROS és Ca^{2+} hullámok (Kollist és mtsai. 2019). A ROS és Ca^{2+} szerepét a gyors, szisztémikus szignalizációban *rboh*d és *cpk5* mutáns *Arabidopsis* növények segítségével igazolták, melyek disztális leveleiben csökkent a rezisztencia mértéke *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (*Pst*) fertőzést követően (Dubiella és mtsai. 2013; Wang és mtsai. 2014). Emellett ismert, hogy a lokális NO kezelés képes a SAR indukciójára, melynek hatása a ROS-hoz hasonlóan koncentrációfüggő (Wang és mtsai. 2014). A legújabb kutatások azonban azt bizonyítják, hogy – habár nélkülözhetetlenek a szisztémikus válaszok koordinálásához a növény különböző szervei között sejt-sejt közötti szignálmolekulaként funkcionálva – nem valószínű, hogy a SAR kialakulásának alapvető elemei lennének (Fichman és Mittler, 2020; Eichstädt és mtsai. 2021).

Hosszú ideig a SA-at tartották a SAR legfontosabb, hosszútávú szignalizációs molekulájának, átoltásos kísérletekkel, a SA lebontásában részt vevő SA-hidroxilázt

kódoló *NahG* transzgént expresszáló dohány növényekben azonban igazolták, hogy nem a SA a legfőbb mobilis szignál (Vernooij és mtsai. 1994). A SA szisztemikus, nem fertőzött szövetekben történő *de novo* szintézise ugyanis sokkal nagyobb jelentőségű, mint a fertőzött szövetekből való transzportja (Shah és Zeier, 2013). A fertőzés helyén kiváltott, lokális SA akkumuláció elsősorban az izokorizmat-szintáz (ICS1) aktivitásának köszönhető, a képződött SA jelentős része azonban még itt, a SA-metiltranszferáz (SAMT) közreműködésével MeSA-vá alakul (Li és mtsai. 2018; Zhang és Li, 2019). A fokozott SA akkumuláció gátolja a MeSA-észteráz aktivitását, ezáltal a MeSA lebomlását, így az a floémen keresztül vagy volatilizálódva eljuthat a növény disztális leveleibe, ahol a SA-kötő protein 2 (SABP2) észteráz aktivitása segítségével visszaalakul SA-vá (Park és mtsai. 2007; Gao és mtsai. 2021). Annak ellenére, hogy a MeSA volatilis szignálként funkcionálva az egyedek közti információátadást is lehetővé teszi, a SAR kifejtésében betöltött szerepe elsősorban a növényen belüli szignalizációra korlátozódik (Vlot és mtsai. 2021). A SA akkumulációja befolyásolja a sejt redox állapotát, ezáltal pedig a SAR központi regulátoraként számon tartott SA receptor NPR1 sejtmagi transzlokációját és felhalmozódását, ami más SA receptorokkal (NPR3, NPR4) történő asszociációjának függvényében mind az ETI és az azt kísérő HR, mind pedig a SAR kialakulását szabályozza (Fu és Dong, 2013). Az NPR1 emellett, különböző TF-okkal interakcióba lépve indukálja a *PR* gének expresszióját, melynek következtében fokozódik az ER szekréciós tevékenysége és többek között a PR-1, PR-2, valamint PR-5 fehérjék akkumulációja, mely a SAR kialakulásának, ezáltal pedig egy potenciális, következő patogénfertőzés leküzdésének szintén meghatározó eleme lehet (Fu és Dong, 2013; Ding és mtsai. 2018).

Sokáig azt feltételezték, hogy a SA nélkülözhetetlen a SAR kialakításához, viszont Bernsdorff és mtsai. (2016) *ics1ics2* kettős mutáns *Arabidopsis* növényekkel végzett kísérleteik alapján megállapították, hogy *Pseudomonas syringae* fertőzés esetén mégis kialakul részleges SAR válasz. Ez azt feltételezte, hogy létezik egy SA-független szignalizációs útvonal is, mely bár kis mértékű, de szignifikáns SAR kialakítását biztosítja a növényekben (Bernsdorff és mtsai. 2016). Az első tanulmányok egy nem-fehérjeképző aminosav (AS), a Pip alapvető jelentőségét igazolták, ma már azonban tudjuk, hogy annak egy bioaktív származéka, az NHP a SAR valódi kulcsmolekulája (Návarová és mtsai. 2012; Hartmann és mtsai. 2018; Wenig és mtsai. 2019).

A Pip patogéntámadást követően L-lizinből egy kétlépéses folyamatban a kloroplasztiszban szintetizálódik, melyet az ALD1 és SARD4 katalizál, majd a plasztiszon

kívül az FMO1 által NHP-vá alakul (Hartmann és mtsai. 2017; Chen és mtsai. 2018a). A SAR indukciója egyaránt fokozza a SA- és Pip bioszintézishez és szignalizációhoz kapcsolódó gének expresszióját, azonban az NHP szintjének emelkedése *Arabidopsis* növények szisztémikus leveleiben már a SAR válasz kezdetén, 24 órával a *Pseudomonas syringae* fertőzést követően megfigyelhető, a SA- és Pip akkumulációt megelőzve (Hartmann és mtsai. 2018). A SA- és Pip szignalizációs útvonalak számos ponton összekapcsolódnak: mind a Pip/NHP bioszintézis gének, valamint az *ICS1* expressziójának szabályozásában hét, átfedő funkciójú TF vesz részt; az exogén Pip és NHP kezelés fokozott SA akkumulációt eredményez; a lokális CPK5 aktiváció egyaránt szükséges a SAR- és NHP-kapcsolt gének szisztémikus expressziójához; továbbá a Pip indukálja a SA receptor NPR1 akkumulációját is (Guerra és mtsai. 2020; Kim és mtsai. 2020; Sun és mtsai. 2020; Vlot és mtsai. 2021). Patogénfertőzést követően a Pip és NHP lokális és szisztémikus akkumulációja is megfigyelhető (Hartmann és Zeier, 2019). Ez a SAR létrejöttéhez elengedhetetlen, mivel a Pip szintézisére képtelen *ald1 Arabidopsis* mutánsok egyáltalán nem képesek a SAR kialakítására, ugyanakkor a SAR teljes mértékű kifejlődéséhez nélkülözhetetlenek az olyan, SA-által indukált válaszok is, mint a *PR-1* expressziója (Bernsdorff és mtsai. 2016). A Pip aktiválja a MAPK3/6 kaszkádokat, melyek a WRKY33 TF közreműködésével fokozzák az *ALDI* expresszióját, tovább növelve a Pip akkumulációt *Arabidopsis*-ban (Wang és mtsai. 2018a). Ezen felül a Pip *Arabidopsis* növényekben fokozza a ROS és NO termelődését, ezáltal pedig a szisztémikus szignálhálózat egy következő elemének, az AzaA produkcióját (Wang és mtsai. 2014; Wang és mtsai. 2018b).

Oxidatív stressz során a membránból olyan 9 szénatomos telítetlen zsírsavak szabadulnak fel, melyek hidrolízisüket követően az AzaA bioszintézis potenciális prekursoraiként funkcionálhatnak (Yu és mtsai. 2013). Az AzaA elsősorban a lokális szövetekben szintetizálódik, viszont hatását a szisztémikus levelekben fejti ki, ahová a DIR1 proteinhez kötődve a floémen keresztül, vagy az AZI1/EARL1 komplex által szimplasztikus úton transzportálódik (Cecchini és mtsai. 2015; Lim és mtsai. 2016; Dreischhoff és mtsai. 2020). A szisztémikus szövetekben aktiválja a Pip/NHP-függő válaszokat, ez azonban a SAR indukciójához valószínűleg nem szükséges (Cecchini és mtsai. 2015; Gao és mtsai. 2021). Emellett, főként a lokális szövetekben a *GLY* és *GLII* indukciójával fokozza a lipid metabolizmus egy köztes termékének, a glicerín-3-foszfát (G3P) akkumulációját, már a fertőzést követő 6 órán belül (Chanda és mtsai. 2011; Yu és mtsai. 2013; Wang és mtsai. 2014). Az G3P transzportját a szisztémikus szövetekbe

szintén a DIR1 fehérje biztosítja, ahol fokozza a SABP2 aktivitását, ezáltal hozzájárul a SAR indukciójához (Vlot és mtsai. 2021).

A floómen keresztül megvalósuló, irányított transzportot biztosító molekulák mellett a legújabb kutatások egyre nagyobb jelentőséget tulajdonítanak az illékony szerves vegyületeknek (VOC) a szisztémikus válaszok koordinálásában (Dreischhoff és mtsai. 2020). Ezekre általánosan jellemző, hogy kis molekulasúlyúak, szobahőmérsékleten is gyorsan párolognak, valamint az intra- és intercelluláris szignalizáció mellett az egyedek közti információátadásban is részt vehetnek (Pennerman és mtsai. 2016). *Arabidopsis*-ban *Pseudomonas syringae* fertőzést követően megfigyelték az infekciós helyen termelődött monoterpének (pl.: α - és β -pinén, kampén) fokozott emisszióját, mely szisztémikus ROS akkumulációt, valamint SAR-asszociált gének (pl.: *AZII*) expresszióját eredményezte (Riedlmeier és mtsai. 2017). Hatásukat a SA szignalizációs útvonalán keresztül fejtik ki, többek között fokozzák a SAR szignálok felfogásában kulcsszerepet játszó lektinek (LLP1) kifejeződését, mely pozitív visszacsatolási körökben működve a Pip- és G3P jelátvitellel tovább serkenti a monoterpének emisszióját (Wenig és mtsai. 2019).

A gyors lokális és szisztémikus változásokat követően, órák múlva aktiválódnak a lassú, egész növényre kiterjedő válaszok, melyek elsősorban *de novo* RNS-, fehérje- és védekezési metabolit szintézissel, hormon bioszintézissel, ROS/NO produkcióval, fehérje degradációval, valamint epigenetikai változásokkal jellemezhetők, melyek fontos visszacsatolási szabályozó szerepet töltenek be (Kollist és mtsai. 2019; Eichstädt és mtsai. 2021). Ezek lehetnek közvetlen védekezési válaszok (pl.: kallóz depozíció), vagy a védelmi reakciókat fokozó ún. „edződés” (priming) elemei, melyek a hosszútávú SAR során kialakuló akklimatizáció révén egy következő patogéntámadás ellen sikeresebb védekezést tesznek lehetővé (Hilker és Schmölling, 2019; Dreischhoff és mtsai. 2020). Az „edzett” állapot propagációja szorosan összefügg a SARD1 TF által közvetített transzkripciós átprogramozással, valamint olyan epigenetikai változásokkal, mint bizonyos SAR-asszociált gének promóter régióinak acetilációja (H3K9) és metilációja (H3K4), valamint a DNS metiláció, melyek akár hetekig vagy hónapokig tartó védelmet is biztosíthatnak a növényekben, továbbá az utódgenerációnak is átadhatók (Fu és Dong, 2013; Eichstädt és mtsai. 2021).

2.2. A fény szerepe a növények védekezési folyamataiban

2.2.1. Fotoreceptorok a növényekben

A fény az egyik legfontosabb abiotikus faktor a növények számára, mely azontúl, hogy a fotoszintézis hajtóerejeként az energiatermelést lehetővé teszi, olyan alapvető környezeti szignálként is funkcionál, mely egyaránt szabályozza a növények növekedését, fejlődését, a cirkadián órát, valamint az abiotikus és biotikus tényezőkkel szembeni védekezési folyamatokat is (Demarsy és mtsai. 2018). A fény intenzitása, minősége, valamint a besugárzás időtartama elemi információt szolgáltat a növények számára a környezet változásaira vonatkozólag (Flota és Carvalho, 2015). Az optimális fényellátottságtól eltérő, túlzottan alacsony vagy magas fényintenzitás, valamint a sötétség különböző szignalizációs útvonalakat aktivál, melyek legfőbb molekuláris szabályozói a JA és a SA (Sagar és Singh, 2020; Gallé és mtsai. 2021). A túlzott mértékű fénybesugárzás stresszként is hathat, mely fotoinhibíciót, valamint az I-es és II-es fotokémiai rendszerek (PSI/II) között fokozott ROS akkumulációt eredményezhet (Saijo és Loo, 2020). A fény felfogása a növényekben két rendszeren keresztül valósulhat meg. Míg a kloroplasztiszokban található klorofilok által abszorbeált fényenergia közvetlenül a metabolikus folyamatok hajtóerejeként hasznosul, a fotoreceptorok a fény speciális tulajdonságai függvényében aktiválnak fejlődést és növekedést, valamint védekezést szabályozó szignáltranszdukciós útvonalakat (Zhang és mtsai. 2020a; Roeber és mtsai. 2021).

A fotoreceptorok olyan fotoszenzoros proteinek, melyek közvetlenül, vagy a prosztetikus kromofór csoportjuk segítségével fotonokat abszorbeálnak, mely a receptorban bekövetkező konformációváltozás által annak aktivációját eredményezi (Podolec és mtsai. 2021). Az állati rendszerektől eltérően a növényi fotoreceptorok a legtöbb szervben megtalálhatók, néhány fajban akár a gyökérben is, viszont a felfogott szignál az egész szervezetre kiterjedő választ generál (Kami és mtsai. 2010). *Arabidopsis*-ban a fotoreceptorok 5 osztálya ismert, melyek az UV-B tartománytól egészen a távoli vörös spektrumig képesek a fény érzékelésére (280-750 nm) (Galvão és Fankhauser, 2015). Ezen fotoreceptorok az UV-B receptor (UVR8), a kék fény felfogásáért felelős kriptokrómok (CRY1-3), fototropinok (PHOT1-2) és a Zeitupe-család tagjai (ZTL, FKF1, LKP2), valamint a vörös/távoli vörös fényt érzékelő fitokrómok (PHY) (Paik és Huq, 2019).

A vörös fényt érzékelő fitokróm család öt tagját azonosították napjainkig (PHYA-E), melyek részben átfedő, részben különböző funkciókkal rendelkeznek (Franklin és Quail, 2010). Míg a vörös fény (620-670 nm) mind az öt PHY aktivációjára képes, a távoli vörös spektrum (705-740 nm) érzékelése kizárólag a PHYA-ra korlátozódik (Paik és Huq, 2019). Kromofórjuk egy kovalensen kapcsolt fitokromobilin tetrapirrol gyűrű, mely vörös/távoli vörös fény hatására izomerizálódik, ezáltal megváltozik a fehérje térszerkezete (Bae és Choi, 2008). Biológiaiilag inaktív, vörös fényt abszorbeáló formájuk (Pr) a citoszolban szintetizálódik (Su és mtsai. 2017). Vörös fény érzékelését követően a molekula térszerkezetének változása a fitokrómok biológiaiilag aktív, távoli vörös fényt abszorbeáló (Pfr) formájának kialakulását eredményezi, mely percekben belül a sejtmagba transzportálódik (Klose és mtsai. 2015). Távoli vörös fény hatására a Pfr gyorsan visszaalakul inaktív, Pr formába, így ezek kétállású molekuláris kapcsolóként funkcionálnak (Roeber és mtsai. 2021). Az aktivált fitokrómok (Pfr) a sejtmagban gátolják a SPA1/COP1 E3 ubikvitin ligáz aktivitását, amely így nem képes a fényindukált szignalizációban pozitív regulátor szerepet betöltő TF-ok (pl.: HY5, HYH, HFR1) lebontására, ezáltal lehetővé téve a fényindukált génextpressziót (Liu és mtsai. 2015a; Sheerin és mtsai. 2015). Ezen felül a Pfr a fényválaszok általános represszoraként funkcionáló PIF TF-okhoz kötődve előidézi azok foszforilációját és degradációját (Pham és mtsai. 2018). A PIF-ek interakciós partnereik függvényében gátolják a csírázást, a klorofill bioszintézist, a kloroplasztisz-fejlődést, az árnyékkerülési választ, a sötét-indukálta szenescenciát, viszont elősegítik a hipokotil megnyúlását (Liu és mtsai. 2015a; Xu és mtsai. 2015; Pham és mtsai. 2018). A Pfr ezen fényválaszok repressziójának feloldásával lehetővé teszi a fotomorfogenezist, valamint az antocián szintézisben, a cirkadián óra szabályozásában, a virágzás indukciójában, valamint a patogénekkal szembeni védekezésben is fontos szerepet játszik (Liu és mtsai. 2015a; Paik és Huq, 2019; Gallé és mtsai. 2021).

A kék fény/UV-A érzékelésében részt vevő kriptokrómok olyan fotoreceptorok, melyek evolúciós eredete a fotoliázokra vezethető vissza, és flavin alapú (FAD) kromofórral rendelkeznek (Podolec és mtsai. 2021). A legtöbb szárazföldi növény genomja két kriptokrómot kódol (CRY1, CRY2), melyek eltérő és átfedő válaszokat is kialakíthatnak (Wang és Lin, 2020). A sötétben inaktív monomerek fotoexcitációt követően válnak biológiaiilag aktív homodimerekké, melyek két, különböző szignáltranszdukciós útvonalat aktiválhatnak (Liu és mtsai. 2017a). A COP1-SPA E3 ubikvitin ligáz aktivitását befolyásolva a kék fény-válaszokban részt vevő TF-ok

menyiségét szabályozzák, a CRY2 emellett a CIB TF-okkal kölcsönhatva a fotoperiodikus virágzás regulációjában is részt vesz (Liu és mtsai. 2016a). Alapvetően gátolják a hipokotil megnyúlását, segítik a deetiolációt, szabályozzák a gyökér növekedését és a cirkadián órát, valamint fontos szerepet játszanak a kék fény-indukálta sztómaválaszok kialakításában is (Roeber és mtsai. 2021). El-Esawi és mtsai. (2017) emellett kimutatták, hogy a kriptokrómok fotoexcitációja a sejtmagban kis mennyiségű ROS képződését eredményezi, mely speciális, ROS-indukálta gének transzkripcióját fokozva fontos szerepet játszik a patogénnel szembeni védekezési válaszok indukciójában.

A szerin/treonin (Ser/Thr) kináz fototropinok szintén a kék fény abszorbeálására képesek, melyet két, FMN kromofórt tartalmazó fény-oxigén-feszültség-érzékeny (LOV) doménjük biztosít (Okajima, 2016). A receptorban történő fényindukált konformációváltozás felszabadítja a kináz domént a fotoszenzoros domén gátlása alól, így autofoszforilálódnak, és hatásukat is elsősorban kináz funkciójuk által fejtik ki (Galvão és Fankhauser, 2015). A növényekben megtalálható PHOT1 és PHOT2 elsősorban a fototropikus válaszok kialakításáért felelősek, szabályozzák a hipokotil megnyúlását, a kloroplasztiszok sejten belüli elhelyezkedését, valamint nélkülözhetetlenek a kék fény-indukálta sztómanyitódáshoz (Paik és Huq, 2019).

A Zeitlupe-család tagjai (ZTL, FKF1, LKP2) szintén LOV domént tartalmazó kék fény receptorok, melyek hatásukat az SCF E3 ubikvitin ligáz aktivitásának szabályozása által fejtik ki (Zoltowski és Imaizumi, 2014). Legfontosabb funkciójuk a cirkadián óra, valamint a fotoperiodikus virágzás szabályozása (Roeber és mtsai. 2021).

Az UV-B fény érzékeléséért felelős UVR8 alapállapotban homodimerként van jelen a növényekben, viszont a receptor belső triptofán (Trp) gyűrűi által megvalósított UV-B abszorpciót követően monomerizálódik (Wu és mtsai. 2012). A monomer UVR8 hatását a sejtmagban fejtik ki, ahol a COP1-hez kötődve gátolja az E3 ubikvitin ligáz aktivitását, mely a HY5 stabilizációját eredményezi (Podolec és mtsai. 2021). Ezen felül, a PIF-ek degradációját elősegítve olyan gének expresszióját stimulálja, melyek az UV-B-indukálta fotomorfogenezishez és akklimatizációhoz nélkülözhetetlenek, valamint szerepet játszanak a fotoprotekcióban és a sztómanyitódás szabályozásában is (Jenkins, 2017; Yin és Ulm, 2017).

2.2.2. A fény és a fotoszintézis szerepe a kórokozókkal szembeni védekezési válaszok szabályozásában

A fény és a sötét ciklusok napi váltakozása a növények életének minden aspektusát befolyásolja, melyben nem csak a fény hiánya, de a magas páratartalom is szerepet játszik (Korneli és mtsai. 2014). Számos tanulmány igazolta, hogy a növényi védekezési válaszok aktivációját alapvetően meghatározza a fény elérhetősége, valamint a napszak, melynek során a fertőzés történik, viszont e bonyolult szabályozási hálózat számos részlete még kevésbé ismert (Roberts és Paul, 2006; Roden és Ingle, 2009). Sötétben a növények gyengébb védekezési válaszokat mutatnak virális-, bakteriális- és gombatámadások ellen egyaránt (Yang és mtsai. 2015). A fény ugyanis jelentősen befolyásolja a ROS eltávolításában kulcsszerepet játszó antioxidáns enzimek aktivitását, a védekezési hormonok és másodlagos metabolitok termelődését, valamint a volatilis szignálok emisszióját, ugyanakkor számos lokális védekezési folyamat a fénytől függetlenül is aktiválódhat (pl.: fitoalexin bioszintézis, JA- és ROS akkumuláció) (Zeier és mtsai. 2004; Folta és Carvalho, 2015; Poór és mtsai. 2018).

A fénybesugárzás már az infekció előtt is pozitívan hathat a rezisztencia kialakulására (Rasool és mtsai. 2014). Hosszú ideig sötétben tartott *Arabidopsis* növényekben tarlórépa göndörödés vírus (TCV) fertőzést követően fényben sem alakult ki HR (Chandra-Shekara és mtsai. 2006). A fény elérhetősége azonban elsősorban a fertőzést követő első órákban esszenciális a védekezési válaszok indukciójához, hiánya ezen időszakban negatívan befolyásolja a későbbi szisztémikus rezisztencia kialakulását (Griebel és Zeier, 2008). A sötétség emellett gátolja a lokális védekezési válaszokat is (pl.: SA akkumuláció, *PR-I* expresszió, HR), valamint a SAR elmaradását eredményezi (Zeier és mtsai. 2004; Chandra-Shekara és mtsai. 2006; Manfre és mtsai. 2011). A fény hiánya mellett a nappal hossza is befolyásolja a növények védekezését (Hua, 2013). A fényperiódus végén történő fertőzés esetén a SAR kialakításában a MeSA játszik esszenciális szerepet, míg ha ez a fényperiódus elején történik, a SAR a MeSA-tól független útvonalon keresztül indukálódik *Arabidopsis*-ban (Liu és mtsai. 2011).

Ugyanakkor a fény a növények mellett a patogének életműködését is befolyásolja, melyek általában aktívabbak éjjel, mint nappal (Iqbal és mtsai. 2021). A legtöbb kórokozó rendelkezik olyan speciális fotoreceptorokkal, melyek lehetővé teszik a fény érzékelését (Wu és mtsai. 2013). A bakteriális fitokrómok szabályozzák a kórokozók apoplasztba jutását, mobilitását, valamint adhézióját (Bai és mtsai. 2016; Moyano és mtsai. 2020).

A fény negatívan befolyásolja a fertőzést a virulenciafaktorok down-regulációja révén (pl.: *Pseudomonas cichorii*, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*), sötétben viszont fokozódik a bakteriális növekedés és gyengébb az ezzel szemben kialakuló lokális rezisztencia (pl.: *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola*) (Zeier és mtsai. 2004; Bonomi és mtsai. 2016; Rajalingam és Lee, 2018). A fény hasonlóan gátolhatja a gombák növekedését, metabolizmusát, a hifa fejlődését, a szexuális reprodukciót, valamint a sporulációt (Gallé és mtsai. 2021). Sötétben ennek következtében gyorsabban szaporodnak és súlyosabb betegségtüneteket okoznak (pl.: *Botrytis cinerea*, *Puccinia hemerocallidis*), valamint fokozódik a toxintermelésük is (pl.: *Aspergillus westerdijkiae*) (Dong és Buck, 2011; Caires és mtsai. 2015; Cheong és mtsai. 2016).

A fény a növényekben két rendszeren keresztül, az energiatermelő fotoszintézis, valamint a fotoreceptorok által aktivált fény-szignalizációs hálózatok aktiválásával befolyásolhatja a kórokozókkal szembeni védekezést (Roberts és Paul, 2006). A sötét periódusban elsősorban a sztómák záródása akadályozza meg a patogének növényi szövetekbe hatolását (Panchal és Melotto, 2017). A sztómák hajnali nyitódása úgynevezett „infekciós ablakot” biztosít a mikrobák számára, így nélkülözhetetlen a védekezési válaszok maximális aktivizálása erre az időszakra (Karapetyan és Dong, 2018). A hajnali sztómanyitódás kék fény által vezérelt folyamat, mely a zárósejt-specifikus válaszokért felelős, míg később a vörös fény hozzájárulásával a fotoszintézishez kapcsolt sztómaműködést és a védekezéshez kapcsolt gének kifejeződését is regulálja (Matthews és mtsai. 2020). Mind a lokális és szisztémikus sztómazáródás PHYB-függő (Devireddy és mtsai. 2020a). A fény szignálok azonban nem csak a növényeket informálják, *Pst* esetében kimutatták, hogy a kék fény indukálja a T3SS génjeinek kifejeződését, míg a vörös fény gátolja a koronatin bioszintézis géneket, így az hajnalban akumulálódhat, meggátolva a MAMP-indukálta sztómazáródást (Santamaría-Hernando és mtsai. 2018).

Egymást megerősítő kutatási eredmények azt bizonyítják, hogy a vörös fény pozitívan befolyásolja a növényi védekezési mechanizmusokat a SA szintézis és szignalizáció, valamint a ROS termelés szabályozása révén, melyek pontos molekuláris mechanizmusa azonban még nem teljesen ismert (Gallé és mtsai. 2021). A lokális válaszokon kívül a szisztémikus védelmet is pozitívan szabályozza, mivel *phyaphyb* *Arabidopsis* kettős mutánsokban nem alakul ki SAR (Griebel és Zeier, 2008). Emellett a JA szignalizációs útvonallal együttműködve a növényevők, valamint nekrotrófok elleni védekezésben is szerepet játszik (Pierik és Ballaré, 2021). Az éjszaka alkalmazott vörös fény kezelés fokozza a paradicsom rezisztenciáját *Pst* fertőzéssel szemben, mely a SA

szignalizációs útvonalon keresztül valósul meg (Yang és mtsai. 2015). Ezzel szemben a PHYB-t inaktiváló távoli vörös fény egyidejűleg down-regulálja a JA és SA szignalizációt, valamint gátolja az *ET-válasz faktor 1 (ERF1)* és a defenzinek családjába tartozó *PDF1.2* védekezési markergének expresszióját *Botrytis cinerea* fertőzés során *Arabidopsis*-ban (Cerrudo és mtsai. 2012; Ballaré, 2014). Courbier és mtsai. (2020) kimutatták, hogy az alacsony vörös:távoli vörös fény arányú besugárzás fokozza a cukrok JA által szabályozott szintézisét, ami egyúttal növeli a *Botrytis cinerea* virulenciáját.

Arabidopsis thaliana-TCV rendszerben végzett tanulmányok igazolták, hogy a kék fény receptorok (CRY1/2, PHOT1/2) szükségesek a HR kialakulásához, melyet a *HRT R* gén irányít (Hua, 2013). *Pst* fertőzés során a CRY1 mind lokálisan, mind szisztémikusan fokozza a rezisztenciát *Arabidopsis* növényekben (Wu és Yang, 2010). A *cry1cry2* és *phot1phot2* *Arabidopsis* kettős mutánsok azonban képesek a SAR kialakítására (Griebel és Zeier, 2008).

Az UV-B besugárzás szintén fokozza a *Pst* fertőzéssel szembeni rezisztenciát JA deficiens *def-1* paradicsom növényekben, a SA válaszok aktiválásával (Escobar Bravo és mtsai. 2019). Növénypatogén gombák ellen ugyancsak hatékony védelmet biztosít, mivel fokozza *Arabidopsis*-ban a *Botrytis cinerea* elleni rezisztenciát is (Demkura és Ballaré, 2012).

A fényszignálok mellett a fotoszintetikus reakciók önmagukban is számos biokémiai folyamatot aktiválnak a növényekben, így a kloroplasztisz a korai immunválaszok egyik kulcsszerepű sejtkomponense (Folta és Carvalho, 2015). A kloroplasztisz az ABA és JA bioszintézis elsődleges színtere, részt vesz ugyanakkor a SA, valamint az ET prekursor metionin (Met) szintézisében is, továbbá az egyik legfőbb ROS és NO forrás (Lu és Yao, 2018). Egyre több bizonyíték támasztja alá, hogy a fény és a kloroplasztikus ROS termelés kölcsönhatva olyan endogén védekezési útvonalakat aktiválnak, melyek képesek hatékonyabb védekezési válaszok kiváltására a kórokozók ellen (Delprato és mtsai. 2015; Schmidt és mtsai. 2020). A mezofillum sejtek mellett a zárósejtek is tartalmazzak fotoszintetikusan aktív kloroplasztiszokat, azonban a különböző sejttípusok fotoszintetikus aktivitásának hozzájárulása a növényi immunitás szabályozásához még kevésbé ismert (Panchal és Melotto, 2017; Iwai és mtsai. 2019).

A MAMP-ok érzékelését követően, a MPK3/6 működése révén órákon belül represszálódik a fotoszintetikus fényreakciókban, a szén redukciós ciklusban, valamint a klorofil bioszintézisben részt vevő, sejtmagban kódolt gének expressziója (Bilgin és mtsai. 2010; de Torres Zabala és mtsai. 2015; Lewis és mtsai. 2015; Su és mtsai. 2018). Ennek fő

célja az erőforrások védekezési folyamatokra történő átcsoportosítása az asszimilációs anyagcsere helyett (Bolton, 2009). Göhre és mtsai. (2012) kimutatták, hogy *flg22* kezelést követően, már 30 percen belül csökkent a PSII S alegységének (PsbS) mennyisége, ezáltal pedig a túlzott excitációs energiát csökkentő nem-fotokémiai kioltás (NPQ), ugyanakkor a védekezésben szerepet játszó *WRKY22* és *WRKY29* expressziója tovább fokozódott. Az NPQ down-regulációja növeli az elektron akceptorok redukáltsági állapotát a fotoszintetikus elektrontranszport-láncban, ami így további ROS produkciót eredményez (Mignolet-Spruyt és mtsai. 2016). A PSII zavara elsősorban $^1\text{O}_2$, míg a plasztokinon pool és a PSI redox állapotának változása O_2^- akkumulációját eredményezheti (Karpínski és mtsai. 2013; Mignolet-Spruyt és mtsai. 2016). A fotoszintézis gátlása során nagy mennyiségben képződő O_2^- és H_2O_2 hozzájárul a HR aktivációjához (Su és mtsai. 2018). Ennek kivédése érdekében a *Pseudomonas syringae* T3E effektorai a PSII-t destabilizálva mintegy 5-6 óra alatt gátolják az oxidatív robbanást a növényi immunitás gyengítése céljából (de Torres Zabala és mtsai. 2015). A HR kialakításához a funkcionális kloroplasztisz nélkülözhetetlenségét tovább bizonyítja, hogy az sötétben a ROS akkumuláció hiányában elmarad (Genoud és mtsai. 2002; Liu és mtsai. 2007). Ezt erősítik meg Rossi és mtsai. (2017) kloroplasztikus ROS termelésben deficiens transzgenikus *pflD* *Nicotiana tabacum* növényekkel végzett kísérletei, melyek során *Botrytis cinerea* fertőzést követően kisebb volt a szöveti károsodás mértéke, valamint csökkent a fitoalexin produkció és a *PR* gének expressziója a mutánsokban.

A kloroplasztikus ROS azonban a védelmi szignalizáció fontos eleme is lehet, mivel a sztromulákon keresztüli sejtmag-kloroplasztisz közti kommunikáció közvetítőiként is funkcionálhatnak (Caplan és mtsai. 2015; Stael és mtsai. 2015). Szignalizációs molekulákként a ROS molekulák nélkülözhetetlenek a *flg22* által kiváltott TGA10 TF expressziójához, így a védekezési válaszgének teljes aktiválódásához is (Noshi és mtsai. 2016).

2.2.3. Cirkadián reguláció a növényi védekezésben

A cirkadián óra az élőlények endogén időmérőjeként funkcionáló önfenntartó oszcillátor, mely megközelítőleg 24 órás biológiai ritmusokat tart fenn, előrejelezve a Föld forgásával kapcsolatos, kiszámítható, napi változásokat (Jiménez és mtsai. 2021). A cirkadián óra működésének szinkronizálásához azonban külső környezeti szignálok szükségesek, melyek közül a növényekben a legfontosabb a fény és a hőmérséklet (Oakenfull és Davis, 2017).

Működése révén a növények sikeresebben adaptálódhatnak az előre jósolható környezeti változásokhoz, a szubjektív nappalokra és éjszakákra időzített génexpressziós változások által (Srivastava és mtsai. 2019). Az *Arabidopsis thaliana* genomjának megközelítőleg 1/3-a cirkadián reguláció alatt áll, többek között nélkülözhetetlen a sztómanyitódás, növekedés, keményítő lebontás, virágzás indukció, valamint az abiotikus és biotikus stresszválaszok szabályozásához (Greenham és McClung, 2015; Linde és mtsai. 2017).

A cirkadián órák működése speciális TF-ok két, ellentétes napszakban aktív csoportja által szabályozott (Nakamichi és mtsai. 2012). A *LATE ELONGATED HYPOCOTYL* (*LHY*) és a *CIRCADIAN CLOCK ASSOCIATED 1* (*CCA1*) gének expressziója hajnalban mutat maximumot (Srivastava és mtsai. 2019). Ezek gátolják az este kifejeződő géneket, valamint aktiválják a nappal expresszáldó *PSEUDO-RESPONSE REGULATOR 5/7/9* (*PRR5/7/9*) transzkripcióját, melyek negatív visszacsatolás útján megakadályozzák az *LHY* és *CCA1* transzkripcióját (Srivastava és mtsai. 2019). A *PRR5/7/9* ezen túlmenően gátolják a *REVEILLE 8* (*RVE8*) kifejeződését, mely az éjjel kifejeződő gének aktivátora (Greenham és McClung, 2015). Az este aktív TF-ok (pl.: *ELF3/4*, *GI*, *LUX*) komplexet formálva gátolják a nappal aktív gének expresszióját (Butt és mtsai. 2020). A cirkadián óra által regulált gének közel 40%-a a *TIMING OF CAB EXPRESSION 1* (*TOC1*) este akkumulálódó TF által szabályozott, mely a reggel aktiválódó gének általános represszoraként funkcionál (Huang és mtsai. 2012).

A cirkadián ritmusok nagyban hozzájárulnak a biotikus stresszválaszokhoz, a PTI és az ETI több, központi génjének expresszióját szabályozzák, azonban még számos megválaszolatlan kérdés maradt a pontos funkciójukra vonatkozólag (Srivastava és mtsai. 2019; Butt és mtsai. 2020). Fontos szerepet játszanak az energiaegyensúly, valamint a redox szignalizáció szabályozásában, ezáltal pedig az optimális védekezési stratégia kialakításában (Zhou és mtsai. 2015; Karapetyan és Dong, 2018). A cirkadián óra szerepét a biotikus stresszválaszokban elsőként Sauerbrunn és Schlaich (2004) írták le, akik *Pst* fertőzést követően a *PATHOGEN AND CIRCADIAN CONTROLLED 1* (*PCC1*) SA útvonalon keresztül megvalósuló indukcióját, valamint ciklikus, éjjeli maximumot mutató oszcillációját figyelték meg *Arabidopsis*-ban. Ezt a feltételezést tovább erősítették olyan kutatási eredmények, melyek *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* fertőzést követően a *CCA1* és *LHY* óragéneket over-expresszáldó mutánsokban a patogénrezisztencia drasztikus csökkenését bizonyították, mely nagyrészt a sztómazáródás elmaradására vezethető vissza (Zhang és mtsai. 2013). Aritmikus óra mutánsokban (*pcl1*) flg22 kezelést követően az oxidatív robbanás is elmarad, így valószínűleg ez is az endogén óra kontrollja alatt áll

(Korneli és mtsai. 2014). A fény mellett tehát a cirkadián óra is hozzájárul a növényi immunitáshoz, melynek egyik fő elemét, a sztómazáródást számos oszcillátor gén (pl.: *CCA1*, *TIC*, *TOC1*) szabályoz (Korneli és mtsai. 2014; Lu és mtsai. 2017).

A növényekhez hasonlóan, a kórokozók többsége szintén rendelkezik cirkadián regulációval; baktériumokban még bizonytalan, hogy létezik-e funkcionális cirkadián óra, viszont a gombákban ez jól ismert, mely befolyásolhatja a patogenitást (Brody, 2019; Sartor és mtsai. 2019). Az energiaigényes immunválaszok indukciójának optimális időszakra történő ütemezésében kulcsszerepet játszanak a cirkadián ritmusok, melyek a különböző életmódot folytató kórokozók elleni adekvát válaszokat elsősorban a különböző védelmi hormon szignalizációs útvonalak ritmikus aktiválása révén valósítják meg (Lu és mtsai. 2017). A biotróf patogéntámadás elleni védelem kulcsmolekulájaként számontartott SA akkumulációja éjjeli maximumot mutat, felkészülve a biotrófok reggeli támadására közvetlenül a sztómányitódást követően (Zhang és mtsai. 2019). A folyamat pozitív szabályozó elemei a PRR5 és TOC1, a fokozott éjjeli SA akkumuláció azonban főként a *CHE* óragén által indukált *ICS1* expresszió eredménye, és elsősorban a szisztémikus válaszok kialakításáért felelős, mivel a *che* mutánsokban nem alakul ki SAR (Grundy és mtsai. 2015; Zheng és mtsai. 2015). A cirkadián óra ezáltal meggátolja az aktív immunválaszok indukcióját éjjel, mivel ekkor alapvetően a zárt sztómák biztosítják a védelmet (Karapetyan és Dong, 2018).

Az alkonyat előtti aktivitásmaximumot mutató növényevők, valamint a nekrotrófok elleni védekezés elsődleges regulátora a JA. Akkumulációja délben tetőzik, mivel éjjel a TIC elősegíti a JA jelátvitelében szerepet játszó MYC2 TF proteosomális lebontását, ezáltal a jázmonátok a szubjektív nappal során halmozódhatnak fel (Kazan és Manners, 2013).

Az ET akkumulációja *Arabidopsis*-ban szintén a nap közepén tetőzik, melyet elsősorban a *TOC1* óragén szabályoz, az ET bioszintézisében részt vevő *ACS6*, az ET szignalizációjában szerepet játszó *EIN2* (*Ethylene Insensitive 2*), valamint az ET válasz TF *ERF5/8* transzkripciós regulációja révén (Grundy és mtsai. 2015). Mindez megerősíti a növényi hormonok elsődleges szerepét a fény- valamint cirkadián óra által szabályozott védekezési válaszok kialakításában (Butt és mtsai. 2020).

2.3. Az etilén

2.3.1. Az etilén bioszintézise és jelátvittele a növényekben

Az ET gáz halmazállapotú hormon, mely a növények növekedésében, fejlődésében, valamint stresszrezisztenciájának kialakításában alapvető szabályozó szerepet tölt be (Pattyn és mtsai. 2021). A növények életciklusának minden fázisa az ET regulációja alatt áll, részt vesz a magnyugalmi állapot, csírázás, vegetatív növekedés, virágzás, termésérés, valamint a szenescencia szabályozásában egyaránt (Wen, 2014). Szerepe gyakran kettős, mivel számos folyamatot koncentráció-függő módon pozitívan és negatívan is szabályozhat, az adott növényfaj, sejt- vagy szövettípus, valamint a hormonális állapot és a környezeti körülmények függvényében (Pierik és mtsai. 2006; Van de Poel és mtsai. 2015). Sokrétű funkciójának következtében az ET bioszintézise térben és időben szigorúan szabályozott, az egyes szövetek eltérő ET érzékenységből adódóan pedig kulcsfontosságú azok ET szintjének kritikus szinten tartása (Houben és Van de Poel, 2019).

Magasabbrendű növényekben az ET bioszintézisének prekursora az L-Met, mely a szintézis első lépésében S-adenozil-L-metioninná (SAM) alakul a citoszolban, a SAM-szintetáz (SAMS) által katalizált, ATP-igényes reakció során (Vanderstraeten és Van Der Straeten, 2017). A keletkezett SAM ezt követően az ACC-szintáz (ACS) közreműködésével 1-aminociklopropán-1-karbonsavvá (ACC) alakul, egy olyan reakció során, melynek melléktermékeként 5'-metiltio-adenozin (MTA) keletkezik (Yoon, 2015). Az MTA a Yang-ciklusba lépve újra L-Met-ná alakul, megakadályozva az ET szintézis limitáló tényezőjeként számon tartott kén készlet kimerülését, valamint lehetővé téve a gyors ET produkciót, amint szükséges (Vanderstraeten és Van Der Straeten, 2017). A bioszintézis utolsó lépésében az ACC oxigén jelenlétében ET-né alakul az ACC-oxidáz (ACO) segítségével (Depaepe és mtsai. 2021). A bioszintézisben részt vevő enzimek stabilitása és aktivitása szigorúan szabályozott, melyet többszintű transzkripciós és poszt-transzlációs folyamatok biztosítanak a növényekben (Booker és DeLong, 2015).

Az ACS proteinek multigén család kódolja, nem katalitikus C-terminális szekvenciájuk alapján három osztályba sorolhatók (Xiong és mtsai. 2014). *Arabidopsis*ban, valamint paradicsomban 9-9 funkcionális ACS izoenzim kódoló gént azonosítottak (*AtACS1/2/4-9/11*; *SlACS1A*, *SlACS1B*, *SlACS2-8*), azonban feltételezhetően ezek valós száma több lehet (Liu és mtsai. 2015b; Han és mtsai. 2019). Jelenlegi ismereteink alapján *Arabidopsis*ban az ACO géncsalád 5 (*AtACO1-5*), míg paradicsomban 7 (*SlACO1-7*)

tagból áll (Houben és Van de Poel, 2019). Mivel kezdetben az ACC képződését tartották az ET bioszintézis sebességlimitáló lépésének, a növénybiológiai kutatások elsősorban az ACS szerepének tanulmányozására koncentráltak, napjainkban azonban egyre több kutatási eredmény az ACO predominanciáját igazolja (Houben és Van de Poel, 2019).

Habár az ET gáz halmazállapotú hormonként transzporterek segítségével szabadon diffundálódhat mind a lipid, mind a vizes fázisban az inter- és intracelluláris térben, a legújabb kutatások alapján térben és időben szigorúan szabályozott akumulációját a nem volatilis ACC prekursor irányított transzportja biztosítja, mely alapvetően a xilémen keresztül történik az LHT1 transzporter közreműködésével (Anfang és Shani, 2021). Az ACC konjugátumokat képzett formáinak (jázmonil-ACC, malonil-ACC) transzportját szintén a xilém biztosítja (Dubois és mtsai. 2018). Az ET volatilis szignálként azonban a szomszédos növények ET receptoraihoz kötődve, azokban is választ generálhat (Binder, 2020).

Az ET szignalizációja az ER-ban vagy a Golgi-apparátusban lokalizálódó receptorok által fenntartott, konstitutív negatív ET válasz feloldásán alapszik (Dubois és mtsai. 2018). Az ET receptorok réz kofaktorral működő, dimerként funkcionáló fehérjék, melyek szerkezetileg a bakteriális kétkomponensű receptor kinázokkal mutatnak hasonlóságot (Zhao és mtsai. 2020). *Arabidopsis*-ban öt ET receptort azonosítottak, melyek két alcsaládba sorolhatók (Shakeel és mtsai. 2013). Az I-es alcsaládba tartozó, hisztidin kináz aktivitással rendelkező ETR1 (ET Response 1) kritikus szerepet játszik az ET szignalizációban, funkcionálisan nem helyettesíthető a II-es alcsaládba tartozó, Ser/Thr kináz aktivitást mutató receptorokkal (ETR2, ERS2, EIN4) (Klee és Giovannoni, 2011). Az ERS1 esetében mindkét kináz aktivitását azonosították, azonban *in vivo* elsődlegesen Ser/Thr kináz aktivitást mutat (Binder, 2020). Paradicsomban az I-es alcsalád három (SlETR1/2/3), míg a II-es alcsalád négy (SlETR4/5/6/7) tagja ismert (Liu és mtsai. 2015b; Mata és mtsai. 2018). Az *AtETR1* homológjaként paradicsomban az *SlETR3* gént azonosították, melyet a szakirodalomban történeti okokból alapvetően *Never ripe* (*Nr*) néven hivatkoznak, utalva a mutáció következtében gátolt termésérésre (Yen és mtsai. 1995). A *Nr* gén a termés mellett konstitutívan expresszálódik a vegetatív növényi szövetekben is (Nascimento és mtsai. 2021). A *Nr* mutánsokban egy AS cseréje a receptor szenzor doménjében meggátolja az ET kötődését, mely az egész növényre kiterjedő ET inszenzitív fenotípust eredményez (pl.: hipokotil hármass válasz elmaradása, késleltetett szeneszcencia) (Klee és Giovannoni, 2011; Nascimento és mtsai. 2021). A homozigóta

Nr/Nr növényekben azonban patogéntámadás során nagy mennyiségű ET akkumulálódik, tehát annak bioszintézise nem gátolt a mutáció következtében (Lanahan és mtsai. 1994).

ET hiányában az ETR1 aktiválja a CTR1 Ser/Thr kinázt, mely foszforilálja az ER membrán-kötött EIN2-t. Az ET szignalizációját biztosító EIN3 és EIL1 TF-ok ennek következtében, az EBF1/2 F-box proteinek által lebomlanak, ami az ET válaszáért felelős transzkripciós kaszkád blokkolását eredményezi (Qiao és mtsai. 2012; Merchante és mtsai. 2015). ET jelenlétében annak ETR1-el történő interakciója deaktiválja a CTR1-et, ezáltal felszabadítva az ET jelátvitel további komponenseit a konstitutív gátlás alól, melynek kulcslépése az EIN2 foszforilálatlan C-terminális doménjének (EIN2C) lehasadása (Ju és mtsai. 2012). Az EIN2C a sejtmagba transzportálódva aktiválja az EIN3/EIL1-függő transzkripciós kaszkádot, melynek során az EIN3 a másodlagos TF-ok (ERF1, EDF1-4) EIN3-kötő helyéhez (EBS) kapcsolódva fokozza azok expresszióját (Harkey és mtsai. 2019; Depaepe és mtsai. 2021). A citoplazmában maradó EIN2C az EBF1/2 fehérjéket kódoló mRNS-ekhez kötődve megakadályozza azok transzlációját (Yu és Huang, 2017). Az ERF-ek integráns részei az ET-válasz útvonalaknak, mivel az MPK3/6 általi aktivációjukat követően speciális cisz-ható elemekhez (GCC motívumok), valamint dehidratáció-válaszelemekhez (DRE) kötődve a patogénrezisztencia, valamint az abiotikus stressz tolerancia kialakításában is fontos szerepet játszanak (Meng és mtsai. 2013; Müller és Munné-Bosch, 2015). Az ET koncentráció-függő módon szabályozza mind az ET receptorok, mind a CTR1 mennyiségét: alacsony koncentrációban fokozza a receptor gének transzkripcióját, valamint a CTR1 stabilitását, a magas ET szint viszont elősegíti a proteoszóma által irányított lebontásukat (Shakeel és mtsai. 2015).

Mindemellett egyre több bizonyíték áll rendelkezésre arra vonatkozólag, hogy létezik egy olyan, nem kanonikus ET szignalizációs útvonal, melynek során az ETR1 interakcióba lép a citokinin jelátvitelben részt vevő, réz kofaktorról működő AHP és ARR proteinekkel, melyek szintén képesek az ET válasz modulálására (Binder, 2020).

2.3.2. Az etilén fényregulációja a növényekben

A fény hatása az ET bioszintézisére komplex és kontextusfüggő, melyet jelentősen befolyásol az egyéb hormonokkal való interakciója, így az intenzív kutatások ellenére még napjainkban sem tisztázott teljes mértékben (Seo és Yoon, 2019). A vegetatív szövetekben az ET bioszintézise azonban alapvetően a fény minősége, intenzitása és időtartama által

szabályozott, mivel ezek hatással vannak a szintézis kulcsenzimeit kódoló gének expressziójára (Cruz és mtsai. 2018; Harkey és mtsai. 2019).

Korábbi tanulmányok számos növényfajban (pl.: búza, napraforgó, szója, uborka, veteménybab) kimutatták az ET produkció szignifikáns növekedését nagy intenzitású fehér fény kezelés hatására (Weckx és Van Poucke, 1989). Ezzel szemben a fény rizs levélben szignifikánsan gátolta az ACC ET-né alakítását, ezáltal pedig az ET produkciót, így már ekkor evidenssé vált, hogy az ET bioszintézis fény általi regulációját számos egyéb tényező is befolyásolhatja (Kao és Yang, 1982). Általánosságban azonban megállapítható, hogy a fény fotoreceptorok (CRY, PHY) általi felfogása gátolja az ET emissziót (Wang és mtsai. 2020). Számos tanulmány leírta, hogy a fény csökkenti az ACS transzkript szinteket *Arabidopsis*-ban (Rodrigues és mtsai. 2014; Seo és Yoon, 2019). Mivel *phyaphyb* kettős mutáns borsó növényekben fokozódott az ACS transzkriptumok akkumulációja, a fitokrómoknak fontos szerepe lehet az ET produkció kontrollálásában, mely nagy mennyiségben a vegetatív növekedést gátolná (Foo és mtsai. 2006). Az alacsony vörös:távolsági vörös arányú fénybesugárzás szintén fokozta az ET termelést *Nicotiana tabacum* növényekben, mely fontos szerepet játszhat az árnyékkerülési válasz kialakításában (Pierik és mtsai. 2004). Paradicsom csíranövényekben emellett leírták a vörös és kék fény ACC akkumuláció-, valamint ACO aktivitás-gátló hatását (Melo és mtsai. 2016). Cruz és mtsai. (2018) paradicsom termésben szintén megfigyelték az ACC tartalom, az ACO aktivitás, valamint az ET emisszió csökkenését megvilágítás hatására. Kiegészítő vörös fény alkalmazása esetén azonban fokozódhat is az ET produkció, ami gyorsíthatja a termés érését paradicsomban (Zhang és mtsai. 2020b). Az *Arabidopsis* csíranövények ET bioszintézise szintén fényfüggő növekedést mutat, mivel 4 órával a sötét periódust követő megvilágítás után drámai ET akkumuláció figyelhető meg (Seo és Yoon, 2019). A különböző ACS izoenzimek fény általi regulációja is jelentősen eltérhet: míg etiolált *Arabidopsis* csíranövényekben a fényre helyezést követően gyorsan csökkent az ACS5-9 mRNS-ek szintje, addig az ACS2/4 mRNS-ek akkumulációja volt kimutatható (Khanna és mtsai. 2007; Harkey és mtsai. 2019; Seo és Yoon, 2019). Sharma és mtsai. (2014) CRY fotoreceptort over-expresszáló *BnCRY1* olajrepce csíranövényekben szintén az ACS5 és ACS8 expressziójának csökkenését tapasztalták fényen, tovább bizonyítva ezen gének fény általi gátlását. Ezek alapján megállapítható, hogy az egyes ACS izoenzimek kifejeződése funkcionális diverzitást mutat a megvilágítási körülmények függvényében (Harkey és mtsai. 2019). Az ACS gének expresszióját emellett napközben közvetetten szabályozza a CCA1, míg éjszaka közvetlenül a PIF5; az ET tehát a növekedést a cirkadián

ritmusok, valamint a fény szignalizáció integrálásával szabályozhatja (Song és mtsai. 2018). Az ET bioszintézisét a transzkripcionális folyamatok mellett fény-indukálta poszt-transzlációs folyamatok is befolyásolják, mivel etiolált *Arabidopsis* csíranövények fényre helyezését követően 2-4 órán belül stabilizálódik az ACS protein (Yoon és Kieber, 2013; Seo és Yoon, 2019).

A fény az ET szignalizációjára hatva is befolyásolhatja az általa indukált válaszokat. Az ET által szabályozott egyik legáltalánosabb morfológiai válaszreakció az ún. hármas válasz, melynek során a sötétben nevelt csíranövényekben gátolt a hipokotil megnyúlása, az epikotil oldalirányú kiterülése, valamint az apikális kampó kiegyenesedése (Binder, 2020). Regulációja a fitokróm és ET szignalizációs útvonalak szoros interakciója által biztosított, mivel az EIN3 és PIF TF csoportok promóterei jelentős átfedést mutatnak (Jeong és mtsai. 2016). Az ET hatása a hipokotil megnyúlására ellentétes fényben és sötétben (Harkey és mtsai. 2019). Az ET az EIN3 közvetítésével két útvonalat aktivál párhuzamosan: fényben a *PIF3* expresszióját, valamint a HY5 degradációját segítve fokozza a hipokotil megnyúlásos növekedését, míg sötétben az EIN3 által aktivált *ERF1* gátolja azt *Arabidopsis* növényekben (Zhong és mtsai. 2012; Yu és Huang, 2017). A sötét-fény átmenet során az átmeneti, gyors hipokotil megnyúlás az ACS5 fehérje stabilizálásával valósulhat meg (Seo és Yoon, 2019). Az ET szignalizáció az etioplaszt differenciálódásában is fontos szerepet játszik, mivel sötétben az EIN3 és PIF3 TF-ok gátolják az *LHC* gének expresszióját, viszont a talajból kihajtó csíranövényekben az aktív PHYB elősegíti az EIN3 és PIF3 degradációját, ezáltal pedig a kloroplasztisz fejlődését (Liu és mtsai. 2017b).

A csíranövényekkel végzett kísérleteken túl, a fény és az ET molekuláris és egész szervezetre kiterjedő kölcsönhatásai azonban még számos folyamat szabályozása során nem ismertek, így ezek pontos mechanizmusának tisztázása a növénybiológiai kutatások fontos feladata a jövőben (Harkey és mtsai. 2019).

2.3.3. Az etilén szerepe a növényi védekezési válaszokban

Az ET jelentősége a növények növekedésének és fejlődésének szabályozásában jól ismert, emellett azonban az abiotikus- és biotikus stresszválaszok kialakításában is szerepet játszhat (Perato és mtsai. 2020). Mindazonáltal nem tekinthető a növényi védekezési válaszok központi regulátorának, sokkal inkább egyéb szignalizációs útvonalakat (ABA, JA, SA) modulálva, hormonális forgalomirányítóként vehet részt a védekezési válaszok

finomhangolásában (Broekgaarden és mtsai. 2015). Pontos funkciója ugyanakkor még kevésbé ismert a növény-patogén interakciók során (Perato és mtsai. 2020). Míg a SA által indukált védekezési válaszok elsősorban biotróf patogéntámadás esetén játszanak szerepet a lokális és szisztémikus rezisztencia kialakításában, a JA és az ET szinergisztikusan együttműködve, a JAZ-MYC és EIN3-EIL1 TF-ok által regulált szignalizációs útvonalakon keresztül szabályozzák a nekrotróf és hemibiotróf patogének elleni védelmi válaszokat (Li és mtsai. 2019; Yang és mtsai. 2019). A JA és ET akkumulációja aktiválja a JA védekezési útvonal ERF ágát, mely a nekrotrófok elleni védelmet biztosító válaszgeéneket (pl.: *PDF1.2*) indukálja, ugyanakkor a MYC útvonal gátlásával megakadályozza a rovarfertőzés esetén aktiválódó gének átíródását (Broekgaarden és mtsai. 2015). A SA általában antagonisztikusan működik a JA-ET szignalizációs hálózattal, azonban az ET és a JA útvonalak is gátolhatják egymás aktiválódását, mely nélkülözhetetlen a különböző életmódú patogénekkel szembeni adekvát védekezési válaszok indukációjához (Ghareeb és mtsai. 2020).

Az ET növényi immunválaszokban betöltött, alapvető jelentőségét bizonyítja, hogy mind a PTI és ETI aktiválódása fokozott ET akkumulációval kísért folyamat (Guan és mtsai. 2015). Gomba elicitor (AsEs) kezelést követően földieperben kimutatták, hogy jelentősen csökken az ET jelátvitelében negatív regulátorként funkcionáló *FaETR1*, *FaERS2*, valamint *FaEIN2* expressziója, mérsékelve azok repressziós aktivitását (Perato és mtsai. 2020).

Guan és mtsai. (2015) *Pst* fertőzés során *Arabidopsis* növényekben megfigyelték, hogy a PAMP-indukálta ET szintézis gátlása a T3SS effektor közvetítésével valósul meg. Az ET pozitív szerepét a patogéntámadás során aktiválódó védelmi válaszokban számos növényfajban leírták: búzában a *TuACO3* expresszióját jelentősen indukálta a *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* fertőzés, rizsben a *Magnaporthe oryzae* inokulációt követően fokozott *OsACS1/2* expresszió-, valamint ET produkció volt tapasztalható, míg *Arabidopsis*-ban a *Botrytis cinerea* fertőzés szignifikánsan növelte az ACS2/6 transzkriptumok akkumulációját (Gravino és mtsai. 2015; Helliwell és mtsai. 2016; Zheng és mtsai. 2020). Biotikus stressz során bonyolult szabályozás következtében kétfázisú ET produkció figyelhető meg, melyek időbeli megjelenése azonban jelentősen különbözhet a gazdanövény és kórokozó függvényében (Mur és mtsai. 2008a, 2009). Wi és mtsai. (2012) dohány növényekben a hemibiotróf *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* fertőzést követő 5. órában tapasztalható, kisebb ET csúcs alatt szignifikáns *NtACS4* expressziót figyeltek meg, míg a 70. óra után jelentkező nagyobb és hosszabb ideig fennmaradó ET maximumot fokozott

NtACS1 transzkripció jellemezte. Az első ET csúcs alapvetően a PTI során indukálódik és fontos szerepet játszik a védelmi priming-ban, míg a második az ETI részét képezi (Perato és mtsai. 2020).

Magnaporthe oryzae fertőzést követően az ET deficiens *acs2* mutáns *Arabidopsis* növényekben csökken a védekezéshez kapcsolódó gének expressziója, valamint a HR-szerű sejthalál mértéke, ET inszenzitív *eil1* mutánsokban azonban súlyosabb tünetek jelentkeznek (pl.: alacsonyabb szintű *PR* expresszió, csökkent kallóz depozíció, korai HR-szerű sejthalál), megerősítve az ET szignalizáció kiemelt szerepét a védekezési válaszok szabályozásában (Helliwell és mtsai. 2016). Az AsEs gomba eredetű elicitor a növényi immunválaszok aktiválásához funkcionális ET jelátviteli útvonalat igényel, ennek hiányában csökkent a védekezési válaszok indukciója (pl.: H_2O_2 produkció) földieperben (Perato és mtsai. 2020). Ennek következtében azonban számos patogén, mely képes ET termelésére, pont a növényi ET szignalizációs útvonalakkal interferálva gátolja azokat, voltaképpen virulenciafaktorként használva az ET-t (Van Bockhaven és mtsai. 2015).

Az AP2/ERF TF-ok különösen fontos szerepet játszanak a biotikus stresszválaszokban vírusok, baktériumok, gombák, valamint növényevők támadása esetén, mivel az ET által indukálható *PR* gének promóterében található GCCGCC szekvencia motívumokhoz kötődve fokozzák azok transzkripcióját (Dong és mtsai. 2015; Xing és mtsai. 2017). Az *Atriplex canescens* eredetű *AcERF2* transzgént over-expresszáló *Arabidopsis* növények fokozott rezisztenciát mutatnak *Pst*, valamint *Botrytis cinerea* fertőzés során, mely a fokozott *PR1/2/5* és *ERF1/3* expresszióra vezethető vissza (Sun és mtsai. 2018). Szójában a *GmERF5* over-expressziója fokozza a *PR1-1*, *PR10*, valamint *PR10-1* kifejeződését, ezáltal a *Phytophthora sojae* elleni rezisztenciát (Dong és mtsai. 2015). Búzában az ERF1 homológ *TaPIE1* over-expressziója jelentősen hozzájárul a *Rhizoctonia cerealis* elleni rezisztencia kialakulásához, *Arabidopsis*-ban viszont kimutatták, hogy a PIF4/5 az *ERF1* gén promóteréhez kötődve negatívan szabályozza a védelmi válaszokat *Botrytis cinerea* fertőzés során (Zhu és mtsai. 2014; Xiang és mtsai. 2020). A rizsben található EIL1 TF esetében bebizonyították, hogy kötődik az *OsrbohA/OsrbohB* gének promóteréhez, ezáltal fontos szerepe lehet a ROS produkcióban (Yang és mtsai. 2017).

Számos tanulmány igazolja, hogy az ET által indukált válaszok és a ROS produkció között szoros összefüggés van (Poór és mtsai. 2015). Az ET által kiváltott ROS termelés fontos szerepet játszik a sztómazáródásban, mely az *Atein2* és *Atetr1* ET inszenzitív mutánsokban elmarad (Mersmann és mtsai. 2010). Az ET által indukált sztómazáródás

közvetítői a MKK1/3 és MKK3/6, melyek az EIN2 és EIN3 TF-ok aktiválásával elősegítik a zárósejtekben történő H₂O₂ és NO akkumulációt (Ge és mtsai. 2015; Zhang és mtsai. 2021). Az ET pontos szerepe a sztómaimmunitás szabályozásában azonban még napjainkban is vitatott, mivel sztómazáró hatása mellett számos tanulmány kimutatta, hogy gátolhatja az ABA aktivitását, ezáltal pedig elősegítheti a sztómák nyitódását (Ge és mtsai. 2020).

A patogéntámadás során bekövetkező, gyors ET emisszió a MPK3/6 kaszkád szabályozása alatt áll, mivel az ACS2/6 foszforilálásával fokozza azok stabilitását, megakadályozva a 26S proteoszóma általi degradációjukat (Han és mtsai. 2010). A MPK3/6 által generált stressz-ET segíti a ROS szintek szignalizációs dózisban tartását (Depaepe és mtsai. 2021). Súlyos stressz esetén azonban, mikor a fokozódó ROS produkció következtében károsodnak a sejtorganellumok, az UPR pedig már nem képes hatékonyan működni, a PCD megvalósításában is közreműködik (Depaepe és mtsai. 2021). Az ET a PCD mértékének és időzítésének fontos szabályozóeleme patogéntámadás során, nagy koncentrációban ugyanis képes sejthalált indukálni a kromatin-kondenzáció, valamint a DNS-fragmentáció elősegítése révén (Byczkowska és mtsai. 2013; Wang és mtsai. 2013). A PCD során tapasztalható ROS képződésben betöltött szerepét igazolja, hogy a flg22 által indukált oxidatív robbanás elmarad az ET inszenzitív *etr1* és *ein2 Arabidopsis* mutánsokban (Mersmann és mtsai. 2010). A ROS képződésének pontos mechanizmusa az ET érzékelését követően azonban még nem tisztázott (Perato és mtsai. 2020). A NO hatása az ET produkciójára gyakran ellentmondásos, ugyanis, míg kontroll körülmények között a NO felszabadítására képes GSNO alkalmazása *Arabidopsis*-ban a SAMS, valamint *Brassica juncea* növényekben az ACS4 proteinek S-nitrozilációja révén csökkenteti azok aktivitását, addig dohány növényekben a NO donor (SNP) kezelés *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* fertőzés során a SA-val együttműködve fokozza az ET produkcióját, mely hozzájárulhat a HR kialakulásához (Lindermayr és mtsai. 2006; Mur és mtsai. 2008b; Abat és Deswal, 2009).

A HR iniciációja fokozott ET akkumulációval kísért folyamat. Paradicsomban leírták, hogy az ET válaszgén *ERF68* pozitívan regulálja a HR kialakulását (Liu és Cheng, 2017; Boller, 2018). Emellett az *ERF-2* gén csendesítése paradicsomban gátolja a *Stemphylium lycopersici* fertőzést követő ROS produkciót és a HR indukciót (Yang és mtsai. 2021). *Pyrus pyrifolia* termésben *Alternaria alternata* fertőzést követően RNS szekvenálási adatok alapján kimutatták, hogy a nekrotikus léziók megjelenése szoros korrelációt mutat bizonyos ACS, ACO, valamint *ERF* gének fokozott expressziójával, mely

hozzájárul a gyors H_2O_2 és O_2^- produkcióhoz (Wang és mtsai. 2017b). Mivel az exogén ET kezelés pozitívan befolyásolja a *Botrytis cinerea* által kiváltott betegségtünetek megjelenését, az ET bioszintézis inhibitorok alkalmazása viszont gátolja azt, megállapítható, hogy az ET fokozza a növények nekrotróf patogénekkal szembeni érzékenységét (Abeles és mtsai. 2012).

Az ET növényi immunitásban betöltött szerepére vonatkozólag sokáig az az elképzelés bizonyult mérvadónak, miszerint az elsősorban a lokális védekezési válaszokra, valamint a talajlakó, nem patogén baktériumok által generált indukált szisztémikus rezisztencia kialakítására (ISR) korlátozódik (Fu és Dong, 2013; Broekgaarden és mtsai. 2015; Nie és mtsai. 2017). A legújabb kutatási eredmények azonban lokális elicitorkezelést követően kimutatták az ET szisztémikus akkumulációját, továbbá nem elhanyagolandó, hogy volatilis szignálként funkcionálva, valamint egyéb gáz halmazállapotú molekulák emisszióját fokozva, a szomszédos növényekben is hozzájárulhat a SAR kialakulásához (Scala és mtsai. 2013; Perato és mtsai. 2020).

2.4. A kitozán

2.4.1. A kitin és a kitozán általános jellemzői és jelátvittele

A kitin N-acetil-D-glükózamin (NAG) monomerekből felépülő polimer, mely a gombák sejtfalának fő építőelemeként az egyik legáltalánosabb MAMP-ként funkcionál (Kaku és mtsai. 2006). A növényi kitináz enzimek a kitin hidrolizációja által kitin oligoszacharidok (CTOS) felszabadulását eredményezik, melyek a CERK1 receptorhoz kötődve hatékony immunválaszok (pl.: sztómazáródás) kiváltására képesek (Ye és mtsai. 2020). Számos gomba a fertőzés során speciális, tapadókorong-szerű hifa módosulat (appressórium) segítségével rögzül a növényekhez, mely a növényi sejtek közé, vagy sejtekbe hatolást is lehetővé teszi (Hamer és mtsai. 1988; Osés-Ruiz és mtsai. 2021). Infekció során a gomba eredetű N-deacetilázok az appressórium felszínén elhelyezkedő kitinből kitozánt (CHT), míg a CTOS molekulákból CHT oligoszacharidokat (CSOS/COS) képeznek, melyeket a növényi kitinázok kisebb hatékonysággal hidrolizálnak, ezáltal az infekciós struktúrák degradációja minimalizálódik (El Gueddari és mtsai. 2002). Mivel a gombák által előállított CSOS molekulák többsége teljesen deacetilált, a receptorhoz nem képesek kötődni, ezáltal kivédve a sztómaimmunitást (Ye és mtsai. 2020). A CHT, valamint CSOS

képzése így egy szükséges prekondicionálási lépésnek tekinthető a gombafertőzés során, a hatékony kolonizáció megvalósítása érdekében (Narula és mtsai. 2020).

Habár a gomba sejtfal hidrolizációja által felszabaduló CTOS molekulák potenciális MAMP-ként funkcionálhatnak, laboratóriumi körülmények között a gombafertőzés mimikálására könnyebb használhatósága következtében elsősorban a CHT alkalmazása terjedt el (Pusztahelyi, 2018; Brulé és mtsai. 2019). A kitin deacetilálásával keletkező kitozán (CHT) β -1,4-D-glükózamin és NAG monomerekből álló polikationos polimer, melynek kémiai természete szabad aminocsoportjainak köszönhetően különbözik a kitintől (Hadwiger, 2013). Mivel felhasználhatóságát semleges oldatokban való oldhatatlansága jelentősen korlátozza, gyakran hidrolizált származékainak (CSOS) alkalmazását részesítik előnyben (Yin és mtsai. 2009, 2013). Napjainkban ugyanakkor egyre nagyobb figyelem irányul az ipari alkalmazhatóságukra, mivel a CHT, valamint különböző CHT-származékok bizonyos növény-patogén interakciók során előkezelésként alkalmazva koncentrációjuk, viszkozitásuk vagy deacetilációs szintjük függvényében serkenthetik a növények növekedését, fokozhatják azok biotikus- és abiotikus stressz rezisztenciáját, a CHT szemipermeábilis burok pedig funkcionális biopolimerként növelheti a gyümölcsök eltarthatósági idejét, csökkentheti a fertőzés kockázatát, valamint minimalizálhatja a respirációt (Malerba és Cerana, 2016; Muley és mtsai. 2019).

A kitin felismerésének jelenleg feltételezett mechanizmusa az ún. „szétesűszott szendvics” modell alapján magyarázható *Arabidopsis*-ban (Gubaeva és mtsai. 2018). A CTOS érzékeléséért a PM-ban lokalizált AtCERK1 felelős, mely három LysM tartalmú extracelluláris doménje segítségével kötődik a kitin N-acetil csoportjához, majd a LysM2 közreműködésével két AtCERK1 egymáshoz képest elcsúsztatva homodimerizálódik (Wang és Chai, 2020). A receptorkomplex formációjában valószínűleg a LysM-ot tartalmazó receptor-szerű kináz 1 (LYK1) is szerepet játszik *Arabidopsis*-ban (Shinya és mtsai. 2015). A további immun-szignalizációt intracelluláris doménjének autofoszforylációját követően, annak Ser/Thr kináz aktivitása biztosítja (Desaki és mtsai. 2019; Yu és mtsai. 2021a). Rizsben ezzel ellentétben a kitint kötő OsCEBiP fehérjék heterodimert képeznek az OsCERK1 molekulákkal, majd a kitin két komplexet összekapcsolva heterotetramert képez, míg szőlőben a VvLYK1-1 és VvLYK1-2 biztosítja a kitin által indukált jelátvitelt (Shinya és mtsai. 2015; Liu és mtsai. 2016b; Brulé és mtsai. 2019). Habár a CHT az egyik legismertebb MAMP, érzékelésének pontos mechanizmusa nem tisztázott teljes mértékben (Narula és mtsai. 2020). Annak ellenére, hogy azonosítottak CHT-kötő proteint, valamint a CERK1 esetében kimutatták, hogy kis

affinitással köti a CHT-t, jelátvittele bizonyítottan CERK1-től független útvonalon is történhet (Chen és Xu, 2005; Petutsching és mtsai. 2010; Povero és mtsai. 2011). Az ellentmondó eredmények feltételezett oka, hogy a CHT gyakran tartalmaz bizonyos százalékban NAG maradványt, ami lehetővé teszi a CHT alternatív úton történő felismerését (Hadwiger, 2013).

2.4.2. A kitozán által indukált védekezési válaszok növényekben

A CHT biológiai funkciója alapvetően a fiziko-kémiai tulajdonságaitól függ, mint a molekulasúly, a deacetiláltság, valamint a viszkozitás (De Bona és mtsai. 2021). Míg az alacsony molekulasúlyú CHT elsősorban antioxidáns hatású és hatékonyabban vált ki védekezési válaszokat, nagy molekulasúlyú formái az alkalmazott koncentrációtól függően citotoxikus hatásúak is lehetnek (Sun és mtsai. 2007; Hua és mtsai. 2019).

A CHT koncentráció-függő módon *in vitro* gátolhatja a gombaspórák csírázását és a hifa növekedését, mivel ásványi anyagokat (pl.: Cu, Fe) kelatál, valamint polikationos molekulaként roncsolja a hifák szerkezetét (pl.: *Alternaria tenuissima*, *Aspergillus ochraceus*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium oxysporum* esetében) (Trotel-Aziz és mtsai. 2006; El Hadrami és mtsai. 2010; Liu és mtsai. 2019; Mejdoub-Trabelsi és mtsai. 2020; Meng és mtsai. 2020; Peian és mtsai. 2021).

Direkt hatása mellett a védelmi priming fontos eleme, mivel elicitorként fokozza a növények immunitását, viszont a fertőzést követően alkalmazva már kevésbé hatékony (El Hadrami és mtsai. 2010). A CHT előkezelés mérsékli a gombafertőzést és a nekrotikus léziók kialakulását burgonyában (*Phytophthora infestans*), paradicsomban (*Alternaria alternata*) és szőlőben (*Botrytis cinerea*), valamint a *Fusarium sulphureum* által termelt trichotecén mikotoxin akkumulációját burgonyagumóban (Hua-Li és mtsai. 2017; El-Garhy és mtsai. 2020; De Bona és mtsai. 2021; Huang és mtsai. 2021). Emellett ismert, hogy bár kisebb hatékonysággal, de számos, elsősorban Gram-pozitív baktérium ellen is védelmet biztosít (pl.: *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) (Xing és mtsai. 2015). Vírusokra vonatkozólag kevesebb adat áll rendelkezésre, de bizonyítottan fokozza a rezisztenciát paradicsomban uborka mozaik vírus, valamint *Nicotiana benthamiana* növényekben TMV fertőzés során (Wu és mtsai. 2017; Rendina és mtsai. 2019).

A CHT felismerése által indukált szignalizációs hálózat fontos elemei a citoszolikus Ca^{2+} koncentráció növekedése, a MAPK kaszkád aktivációja, a PM H^{+} -ATPáz gátlása, valamint a ROS és reaktív nitrogénformák termelődésének fokozása (Amborabé és mtsai.

2008; Iriti és Faoro, 2009; Chandra és mtsai. 2017). *Melissa officinalis* növényekben kimutatták, hogy a ROS akkumuláció a CHT-indukálta *RBOH* expresszió által valósul meg (Shabani és Razavizadeh, 2019). A Ca^{2+} , valamint a ROS megemelkedett szintjei hozzájárulnak a CHT-indukálta gyors sztómazáródáshoz, melyben a SLAC1 csatornák aktivitása játszik elsődleges szerepet (Lee és mtsai. 1999; Koers és mtsai. 2011; Wu és mtsai. 2017). A sztómaválaszok kivédése érdekében kifejlődött védekezési stratégia a CHT CSOS-á alakítása a gombák által, melyek mivel gyakran teljesen deacetiláltak, nem váltanak ki sztómazáródást (Ye és mtsai. 2020). Borsó epidermisz-nyúzatokban NO szintézis inhibitorok segítségével igazolták a NO esszenciális szerepét a CHT-indukálta sztómazáródásban, mely a szignalizációs hálózatban a Ca^{2+} és a ROS után hat (Srivastava és mtsai. 2009). A folyamat SA által szabályozott, mivel a SA deficiens *nahG* növényekben a CHT nem képes zárni a sztómákat (Prodhan és mtsai. 2017). A CHT a nappal kiváltott sztómazáródás mellett hajnalban hatékonyan gátolja a kék fény-indukálta sztómanyitódást is (Ördög és mtsai. 2011).

Narula és mtsai. (2020) 325 immunválasz protein (pl.: extracelluláris mátrix strukturális komponensek, RLK-k, glükánázok, kitináz), valamint 65 immunválasz metabolit (pl.: cukrok, cukor-alkoholok, AS-ak) CHT-függő akkumulációját írták le csicseriborsó csíranövényekben, melyek hozzájárulnak a rezisztencia kialakulásához. Számos tanulmányban kimutatták, hogy CHT kezelést követően fokozódik az enzimatisz antioxiidánsok (aszorbát-peroxidáz (APX), glutation-reduktáz (GR), gvajakol-peroxidáz (POD), kataláz (CAT), szuperoxid-dizmutáz (SOD)) aktivitása, valamint a nem-enzimatisz antioxiidánsok (aszorbát, glutation) akkumulációja (Nandeeshkumar és mtsai. 2008; Qu és mtsai. 2019; Cataldo és mtsai. 2022). A CHT emellett fokozza a fenilalanin ammónia-liáz (PAL) aktivitását és akkumulációját, a fitoalexin-termelést, valamint a polifenol-oxidázok aktivitását (Jayaraj és mtsai. 2009; Liu és mtsai. 2019; Muley és mtsai. 2019).

A COS kezelés az AtMEKK1-AtMKK4/5-AtMPK3/6 kaszkádon keresztül olyan TF-okat aktivál (WRKY18/40/46), melyek fokozzák a védekezésben szerepet játszó gének expresszióját (Hamel és Beaudoin, 2010; Povero és mtsai. 2011). Az aktiválódó defenzinek (DRR39/230) közvetlen antifungális hatással rendelkeznek, számos egyéb RNáz és DNáz aktivitású PR protein pedig hatékonyan gátolja a gombák RNS és DNS szintézisét (Hadwiger, 2015). Az alacsony molekulatömegű CHT kezelés hatására órákon belül fokozódik a kitináz kódoló *PR3b* expressziója dohány növényekben, 10 óra múlva pedig a kitináz és β -1,3-glükánáz (GLU) aktivitása szőlőlevélben (Aziz és mtsai. 2006; Dubin és

mtsai. 2020). Sárgarépa levélben a CHT kezelést követő 10-70 órán belül fokozódott a *PR1*, kitináz (*CHI*), *PR5* és *NPR-1* expressziója, valamint a kitinázok és a GLU aktivitása (Jayaraj és mtsai. 2009). De Bona és mtsai. (2021), valamint El-Garhy és mtsai. (2020) azonban késleltetett választ figyeltek meg, mivel szőlőlevélben a *PR5* indukciója csak 6 nap után vált szignifikánssá, a kitinázok aktivitása pedig a kezelést követő 5. napon fokozódott paradicsom termésben.

A CHT nem kizárólag lokális rezisztenciát indukál. Búzában a disztális levelekben fokozta ugyanis a *CHI*-, *GLU*-, valamint *PAL* expressziót, míg kivi növényekben a szisztemikus levelek POD-, APX- és *PAL* aktivitását (Corsi és mtsai. 2015; Díaz-Martínez és mtsai. 2018). Árpában a CHT a LAR mellett a SAR kialakulását is indukálta 10 nap után, mely hatékonyan csökkentette a *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* fertőzés mértékét (Faoro és mtsai. 2008). Paradicsomban a CHT mind a kezelt és szisztemikus levelekben fokozta a PR proteinek (pl.: GLU, CHI, PR14) akkumulációját (Atia és mtsai. 2005).

A CHT koncentrációjától és molekulasúlyától függően PCD és HR kiváltására is képes, mely fokozott kromatin kondenzációval, DNS fragmentációval, ROS- és NO produkcióval, citokróm-c kieresztéssel, valamint az ER HSP70 chaperon akkumulációjával kísért folyamat (Malerba és mtsai. 2012). Iriti és mtsai. (2006) megfigyelték, hogy a CHT fokozza a dohány növények indukálható védekezését dohány nekrozis vírus (TNV) ellen, mivel mikro-oxidatív robbanások és mikro-HR generálása révén lokalizált vírus infekciót mimikál. A PCD során létrejött HR-szerű léziók körül kallóz depozíció figyelhető meg, melynek környezetéből felszabaduló szignálok segítik a SAR kialakulását (Iriti és mtsai. 2006). Minden CHT típus esetében van azonban egy küszöb koncentráció, mely felett a PCD nekrotikus sejthalálba fordulhat (Iriti és Faoro, 2009).

2.4.3. Az etilén szerepe a kitozán által indukált védekezési válaszok szabályozásában

Az ET szerepe a CHT-indukálta védekezési válaszok szabályozásában kevésbé ismert, a rendelkezésre álló adatok pedig gyakran ellentmondásosak (Broekgaarden és mtsai. 2015). Paradicsom sejtszuspenzióban megfigyelték, hogy a CHT kezelés mindössze kismértékben indukálta az ET szintézisét, fenyő sejtszuspenzióban viszont jelentős ET akkumulációt okozott (Grosskopf és mtsai. 1991; Popp és mtsai. 1997). Szőlőlevélben CHT kezelést követően, 6 nap múlva fokozódott az ET bioszintézisében részt vevő *ACO*, valamint a JA bioszintézis prekursor *LOX13* expressziója (De Bona és mtsai. 2021).

A CHT JA bioszintézist indukáló hatását megfigyelték többek közt *Arabidopsis*ban, olajrepcében, paradicsomban, rizsben, valamint szőlőben (Yin és mtsai. 2006; Iriti és Faoro, 2009; Povero és mtsai. 2011; Suarez-Fernandez és mtsai. 2020; Peian és mtsai. 2021). Szőlőlevélben a CHT előkezelés 3 nap elteltével JA/ET-függő védekezési válaszokat indukált, azonban represszálta a SA szignalizációt (De Bona és mtsai. 2021). A JA/ET szignalizációs útvonal egyik markergénje, a *PDF1.2* szintén indukálódott COS kezelést követően olajrepcében, melyhez H_2O_2 és NO szükséges (Yin és mtsai. 2013). Yin és mtsai. (2006) olajrepcében elvégzett cDNS microarray vizsgálatok alapján megállapították, hogy az oligoCHT kezelés egy órán belül fokozta az ET receptor- és válaszgének indukcióját. Az ET válaszgén *RAP* expressziója szignifikánsan megnőtt CHT kezelés hatására paradicsomban (El-Garhy és mtsai. 2020).

Ezekkel a megfigyelésekkel szemben Iriti és mtsai. (2010) kimutatták, hogy veteménybabban az ET nem játszik szerepet a CHT által indukált rezisztencia kialakításában, mivel az ET bioszintézis (AIB)- és jelátvitel (AVG) inhibitorok nem befolyásolták azt, valamint a CHT nem fokozta az ET produkcióját.

2.5. A flagellin

2.5.1. A flagellin általános jellemzői és jelátvitele

A flagellin a bakteriális ostor (flagellum) fő építőeleme, mely MAMP-ként funkcionálva hatékonyan vált ki immunválaszokat a növényekben és állatokban egyaránt (Chinchilla és mtsai. 2006). Felismerését alapvetően a fehérje konzervált N-terminálisán található 15-22 AS-as szekvencia (flg22) biztosítja, így az epitóp alapján tervezett szintetikus peptidok szintén potenciális elicitorokként funkcionálhatnak (Felix és mtsai. 1999; Ciarroni és mtsai. 2018). Konzervált szerkezetéből adódóan a növények a patogének mellett a szimbiotikus (pl.: *Rhizobium*) baktériumokat is felismerik, azonban számos esetben bizonyították, hogy ezen fajokban a flg22 bizonyos AS-ai nem konzerváltak, ami megakadályozza az epitóp immunogénként történő azonosítását (Zipfel és Oldroyd, 2017).

A flg22 a legtöbb szárazföldi növény által felismerhető, melyet az FLS2 receptor biztosít (Boller és Felix, 2009). Az immunválasz kiváltását megakadályozva azonban a *Pst* AvrPtoB III-as típusú effektor fehérjét szekretál, mely irányítottan aktiválja az FLS2 proteosomális lebontását (Göhre és mtsai. 2008). Ismert azonban, hogy a *Solanaceae* családba tartozó fajok esetében a flgII-28, míg rizsben a CD2-1 flagellin epitópok a flg22

mellett, specifikus receptorokhoz kapcsolódva ugyancsak potenciális MAMP-ként funkcionálhatnak, mely feltételezhetően a növényi immunválaszt esetlegesen kikerülő baktériumok ellen kifejlődött evolúciós stratégia (Fliegmann és Felix, 2016; Moroz és Tanaka, 2020).

Az FLS2 PM-lokalizált receptor, mely a növények legtöbb szervében expresszálódik, azonban ez szigorú tér- és időbeli szabályozás alatt áll, valamint elsősorban a bakteriális kolonizáció által kiemelten érintett sztomákra, hidatódákra, laterális gyökökre, valamint a vaszkuláris rendszerre korlátozódik (Beck és mtsai. 2014). A flg22 érzékelését követően a LRR RK FLS2 percekben belül heterodimert képez a szintén LRR RK BRI1-ASSOCIATED RECEPTOR KINASE 1 (BAK1) receptorral, majd foszforilálódik (Wang és mtsai. 2018c). A receptorkomplex foszforilálja a citoplazmatikus *Botrytis*-induced protein kinase 1 (BIK1) RLK-t, mely egyrészt aktiválja a MKK4/5-MPK3/6 és MEKK1-MKK1/2-MPK4 útvonalakat, melyek a WRKY22/29 és WRKY25/33 TF-ok aktiválásával fokozzák a védekezési gének (pl.: *PDF1.2*) expresszióját, másrészt közvetlenül foszforilálják, ezáltal aktiválják az Rboh-t, mely fokozott ROS produkciót eredményez (Zheng és mtsai. 2006; Boutrot és mtsai. 2010; Zipfel és Oldroyd, 2017). A ROS a PM-lokalizált Ca^{2+} csatornák aktiválása révén fokozza a citoplazmába irányuló Ca^{2+} influxot, mely aktiválja a CDPK4/5/6/11 szignalizációs hálózatot, melynek eredményeként szintén a növényi immunitásban szerepet játszó gének aktivátorai foszforilálódnak (Boutrot és mtsai. 2010). A CPK5 emellett közvetlenül, foszforiláció útján aktiválja a NADPH-oxidázt, ami szintén ROS produkciót eredményez (Gravino és mtsai. 2015).

2.5.2. A flg22 által indukált védekezési válaszok növényekben

Az utóbbi években számos tanulmány igazolta, hogy a flg22 előkezelés hatékonyan fokozza a növények rezisztenciáját egy későbbi patogéntámadás során. Ismert, hogy gátolja a baktériumok terjedését és multiplikációját *Arabidopsis*-ban (*Pst*), paradicsomban (*Meloidogyne incognita*), tarka cirokban (*Herbaspirillum rubrisubalbicans*), valamint mérsékli a földimogyoró rügynekrózis vírus (GBNV) által kiváltott betegségtünetek megjelenését paprikában (Park és mtsai. 2015; Rajamanickam és Nakkeeran, 2020; Tuleski és mtsai. 2020; Wang és mtsai. 2021).

A flg22 által indukált legelső, percekben belül aktiválódó válasz a citoszolikus Ca^{2+} -valamint ROS koncentráció növekedése, melyek egymást erősítő szignálként működve

alapvetően meghatározzák a PTI kialakulását (Marcec és Tanaka, 2021). A ROS akkumuláció az egyik legjellemzőbb, növényfajtól független flg22 válasz, mely a kitin érzékelését követő oxidatív robbanáshoz képest általában jelentősebb mértékű (Klauser és mtsai. 2013; Zhang és mtsai. 2015; Qi és mtsai. 2018b). A ROS produkció szoros összefüggésben áll a flg22 által indukált sztómazáródással (Göhre és mtsai. 2012). A flg22 érzékelését követően a BAK1 foszforilálja az OST1 kinázt, mely a Ca^{2+} influxot elősegítve, CPK-k közreműködésével aktiválja a SLAC1 és SLAC1 homolog 3 (SLAH3) S-típusú anioncsatornákat, valamint a K^+ csatornákat (Guzel Deger és mtsai. 2015; Wang és Gou, 2021). A SLAC1 aktivitását tovább fokozhatja a flg22 által indukált SA akkumuláció (Wang és Gou, 2021). A BIK1 kináz az Rboh mellett foszforilálja az OSCA1.3 Ca^{2+} csatornát, tovább fokozva a citoszolikus Ca^{2+} beáramlást (Thor és mtsai. 2020). Habár a jelátvitel kezdeti lépései az ABA által indukált sztómazáródás során eltérőek, a központi szerepű OST1 által a további szignalizációs események megegyeznek (Guzel Deger és mtsai. 2015). A flg22 a sztómazáródás indukciója mellett a befelé rektifikáló K^+ csatornák represszálásával egyidejűleg gátolja a fényindukált sztómanyitódást is (Zhang és mtsai. 2008).

A ROS molekulák (elsősorban a H_2O_2) a sztómazáródás kiváltása mellett különösen fontos szerepet játszanak a kallóz depozícióban (Luna és mtsai. 2011; Chen és mtsai. 2018b; Yu és mtsai. 2021b). A kallóz akkumulációja általában a flg22 kezelést követő 3-24. órában figyelhető meg, melynek elsődleges szerepe a baktériumok terjedésének megakadályozása (Tuleski és mtsai. 2020). A flg22 által generált ROS azonban nem vált ki HR-t és PCD-t (Zou és mtsai. 2012; Hong és mtsai. 2018).

A ROS mellett a MAPK kaszkád aktiválódása játszik kulcsszerepet a flg22 által indukált szignalizációban, melyben a legújabb kutatások alapján a MPK3/6 pozitívan, míg a MPK4 pozitívan és negatívan is regulálhatja a védelmi válaszok (pl.: aktin citoszkeleton reorganizáció, génexpresszió) indukcióját (Henty-Ridilla és mtsai. 2013; Tian és mtsai. 2020). A flg22 kezelést követően már 3 óra után fokozódott rizsben a *PAL* gének expressziója (Chen és mtsai. 2018b). *Arabidopsis*ban a flg22 kezelés 3 órán belül szignifikáns *PR2* és *Flg22-induced receptor-like kinase 1 (FRK1)*, míg 6 óra múlva fokozott *PR5* expressziót eredményezett, azonban a *PR1* indukcióját a kezelést követően 3, 6, valamint 24 óra elteltével egyaránt leírták (Gómez-Gómez és mtsai. 1999; Denoux és mtsai. 2008; Göhre és mtsai. 2012; Hong és mtsai. 2018; Wang és mtsai. 2018c; Chan és Zimmerli, 2019). A génexpressziós változások mellett *Arabidopsis* növényekben fokozott

JA és SA akkumuláció figyelhető meg 8 órával a flg22 kezelést követően (Gravino és mtsai. 2015).

Göhre és mtsai. (2012) leírták, hogy flg22 kezelés során csökkent a PsbS, valamint a RuBisCO nagy alegységének (RbcL) mennyisége *Arabidopsis* csíranövényekben, ezáltal gátlódott a CO₂ fixáció, ami hosszútávon növekedésgátlást eredményezett, ugyanakkor az LHCB4 fénybegyűjtő komplex és az ATP-szintáz fehérjék kis mértékű akkumulációja lehetővé tette a védekezési mechanizmusok hatékonyabb működését.

A flg22 a lokális válaszok mellett SAR kiváltására is képes (Wang és mtsai. 2019; Cecchini és mtsai. 2021). *Arabidopsis* növények alsó leveleibe történő flg22 infiltrációt követően fokozódott a szisztemikus levelek *PRI-1/5* és *FMO* expressziója, ez azonban a SA deficiens mutánsokban elmaradt, bizonyítva a szerepét a flg22-indukálta SAR kialakításában (Mishina és Zeier, 2007). Ross és mtsai. (2014) szintén fokozott *AtPRI* expressziót figyeltek meg a szisztemikus levelekben, viszont ez már a kezelést követő 48 órán belül jelentkezett. Földieperben viszont a flg22 által indukált szisztemikus rezisztencia mindössze 24 órás védelmet biztosított *Botrytis cinerea* fertőzéssel szemben (Tomas-Grau és mtsai. 2020).

2.5.3. Az etilén szerepe a flg22 által indukált védekezési válaszokban

Habár az ET számos funkciója ismert a flg22 által indukált immunválaszok szabályozásában, pontos szerepe napjainkban is kérdéses. Régóta ismert, hogy a flg22 lokálisan fokozza az ET szintézisét paradicsomlevélben (Felix és mtsai. 1999). Mur és mtsai. (2008b) monofázisos ET produkciót figyeltek meg flg22-kezelt dohány növények levelében, mely a kezelést követően két órán belül jelentkezett. Park és mtsai. (2015) kimutatták, hogy flg22 kezelést követően *Arabidopsis* növényekben fokozódott számos ET bioszintézis (*ACS2/6/7/8*, *ACO4*)- szignalizációs (*CTR1*)- és receptor (*ERS1*, *EIN4*) gén expressziója. A leggyorsabban (1 órán belül) a szintézis kulcsenzimeként számon tartott ACS, míg 3 óra elteltével az ET receptor *ETR1* és *EIN2* relatív transzkript akkumulációja emelkedett meg (Denoux és mtsai. 2008). A flg22 kezelést követően, két óra múlva aktiválódó WRKY18/40/33 számos ET bioszintézis (*ACS2/6/8*, *ACO2*)- szignalizáció (*EIN2*)- valamint ET válaszgén (*ERF*) promóteréhez kötődött, megerősítve az ET szerepét a védelmi szignalizációban (Birkenbihl és mtsai. 2017). Az ET/JA szignalizációs útvonalon indukálódó *ORA59* a flg22 kezelést követően 2 óra, míg a *PDF1.2* mindössze

30 perc elteltével fokozott expressziót mutatott *Arabidopsis* növényekben (Birkenbihl és mtsai. 2017; Hong és mtsai. 2018).

Az *FLS2* expressziója szorosan összefügg az ET szignalizációval, ugyanis ET inszenzitív *Atetr1* és *Atein2* mutánsokban az EIN3 nem képes az *FLS2* akkumulációját indukálni (Boutrot és mtsai. 2010; Mersmann és mtsai. 2010). Laluk és mtsai. (2011) kimutatták, hogy a BIK1 aktivációjában szintén szerepet játszik az EIN3. Chen és mtsai. (2009) viszont *Arabidopsis ein3-1* és *eil1-1* kettős mutánsokban fokozott kallóz depozíciót és *PR1* expressziót figyeltek meg, melytől feltételezi, hogy ezek a PTI negatív regulátorai. Az ET szerepe a flg22 által indukált immunválaszok során elsősorban a lokális ROS akkumuláció, sztómazáródás, valamint a kallóz depozíció indukációjára korlátozódik, mivel ezek az *AtACS2/6* expressziótól függenek, valamint gátoltak az *Atetr1* és *Atein2* mutánsokban (Mersmann és mtsai. 2010; Yu és mtsai. 2021b).

Annak ellenére, hogy az ET-, JA- és SA szignalizáció pozitívan befolyásolja a flg22 által indukált immunitást, hormon bioszintézis és jelátviteli mutánsok segítségével bizonyították, hogy egyik hormon sem nélkülözhetetlen a LAR kialakulásához (Zipfel és mtsai. 2004; Ferrari és mtsai. 2007; Nicaise és mtsai. 2009; Tsuda és mtsai. 2009; Wang és mtsai. 2018c). Az ET szignalizáció alapvetően nem befolyásolja a MAPK hálózat aktivitását, viszont a lokális redox válaszokat mérséklő ERF019 indukálja azt (Mersmann és mtsai. 2010; Lu és mtsai. 2020). A flg22 a MAPK3/6 jelátvitel gátlásán keresztül mérsékli a fumonizin B1 (FB1) által okozott sejthalált, viszont ennek szabályozása szintén független az ET-től (Igarashi és mtsai. 2013). Ugyanakkor megfigyelték, hogy számos ACS izoforma, valamint ERF aktivitása azok MPK3/6 általi foszforilációjának függvényében változik (Liu és Zhang, 2004; Bethke és mtsai. 2009; Tian és mtsai. 2020). Az így aktiválódó ERF TF-ok olyan GCC motívumokat tartalmazó promóterekhez kapcsolódnak, melyek elsődlegesen a védekezésben szerepet játszó (pl.: *PR*) génekben találhatók meg, ezáltal hozzájárulnak a PTI kialakulásához (Ohme-Takagi és Shinshi, 1995; Bethke és mtsai. 2009; Clay és mtsai. 2009).

3. Célkitűzések

Munkánk során célul tűztük ki a gomba sejtfal eredetű CHT, valamint a bakteriális flg22 elicitorok által indukált védekezési válaszok napszakfüggő regulációjának tanulmányozását, intakt paradicsom növények levelében. A védekezési válaszok cirkadián regulációja mellett különös figyelmet szenteltünk a fény direkt szabályozó szerepének feltárására, ugyanis, míg a növényi védekezési folyamatok molekuláris mechanizmusa széleskörűen kutatott, azok különböző környezeti faktorokkal való kölcsönhatása még kevésbé feltárt (Iqbal és mtsai. 2021). Ugyanakkor a lokális védekezési válaszok mellett, az elicitorok által indukált szisztémikus válaszok detektálására is fókuszáltunk, melynek érdekében kísérleteinket intakt növények meghatározott levélemeletein végeztük el. Mivel még nem született olyan összefoglaló tanulmány, mely a különböző szisztémikus szignálok aktiválódásának és terjedésének gyorsaságát ugyanazon növényfajban, ugyanazon környezeti körülmények között vizsgálná (Fichman és Mittler, 2020), munkánk során a „gyors” és „lassú” védekezési válaszokat egyaránt tanulmányozva monitoroztuk ezen folyamatok időfüggését. Az elicitor kezelések által indukált lokális és szisztémikus védekezési válaszok ET-függésének felderítése érdekében vizsgálatainkat ET receptor mutáns (*Never ripe*) paradicsom növényeken is elvégeztük, mivel az ET alapvetően meghatározhatja a védekezési válaszokat biotikus stressz során, a hormon pontos szerepe azonban még jórészt ismeretlen (Perato és mtsai. 2020).

Kutatásaink során az alábbi főbb kérdésekre kerestük a választ:

1. Hogyan hat a különböző napszakokban alkalmazott CHT kezelés a paradicsom növények lokális és szisztémikus leveleinek sztómamozgására, valamint a zárósejtek ROS és NO produkciójára az idő függvényében?
2. Milyen napszakfüggő változások figyelhetők meg a zárósejtek és mezofillum sejtek klorofill fluoreszcencia indukciós paramétereiben a CHT kezeléseket követően a különböző időpontokban, illetve hogyan hat a különböző napszakokban történő CHT kezelés a védekezésben szerepet játszó hormonok szignalizációjára?
3. A cirkadián szabályozástól függetlenül, a növények gyors, CHT-indukálta védekezési válaszainak kialakulása függ-e a fény jelenlététől? Emellett szerepet játszik-e az ET a gyors, CHT által indukált lokális és szisztémikus ROS és NO

produkció, a sztómazáródás, az ET akkumuláció, valamint a PR3 expresszió szabályozásában?

4. A CHT által kiváltott védekezési folyamatok aktivációja hozzájárulhat-e az ER stressz kialakulásához? Megfigyelhető-e ezzel párhuzamosan lokális vagy szisztémikus UPR, hogyan befolyásolja ezek kialakulását az aktív ET jelátvitel hiánya?
5. Milyen különbségek figyelhetők meg a különböző napszakokban alkalmazott flg22 kezelések során indukálódó, gyors lokális és szisztémikus válaszok során a ROS és NO metabolizmusban? Hogyan befolyásolja mindezt az ET?
6. Hogyan változnak a fény- vagy sötétszakaszban történő flg22 kezeléseket követően a rövid időn belül indukálódó hormonális szignalizációs folyamatok, és a főbb védekezési hormonok (ET, JA, SA) lokális és szisztémikus akkumulációja?
7. Milyen hatással van a fény jelenléte vagy hiánya a kezelés időpontjában a flg22 hosszútávú, fotoszintetikus aktivitásra gyakorolt hatásaira a sztómákban és a mezofillum sejtekben?
8. Hogyan befolyásolja az ET és a fény a flg22 által kiváltott, hosszútávú főbb védekezési válaszokat, illetve hatással van-e a későbbiekben a növények felépítő anyagcseréjére?

4. Anyagok és módszerek

4.1. Növénynevelési körülmények

Kísérleteinkhez *Solanum lycopersicum* L. cv. Ailsa Craig vad típusú (VT) és ET receptor mutáns *Never ripe* (Nr) paradicsom növényeket használtunk fel. A magok csíráztatása 3 napon keresztül, sötétben, 26°C-on történt szűrőpapíron. Csírázást követően a növények két hetes korukig perlitben, majd 8 hétig hidropónikus kultúrában növekedtek. A tápoldat cseréjét kétnaponta végeztük, mely a következő makro- és mikroelemekből állt: 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, 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^{-7} M AlCl_3 , 10^{-7} M CoCl_2 , 10^{-5} M H_3BO_3 , $2 \cdot 10^{-5}$ M Fe(III)-EDTA. A tápoldat pH-ja 5,8 volt. A növényeket 12/12 órás nappali/éjszakai fotoperiódusban (6-18:00 fényszakasz, 18-6:00 sötétszakasz), $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fényintenzitás [távolsági vörös LED fényvel kiegészített fehér LED (5700 K) megvilágítás; PSI, Drásov, Cseh Köztársaság], 24/22°C nappali/éjszakai hőmérséklet és 55-60%-os relatív páratartalom mellett neveltük (Poór és mtsai. 2011). A kísérleteket legalább 3 alkalommal ismételtük.

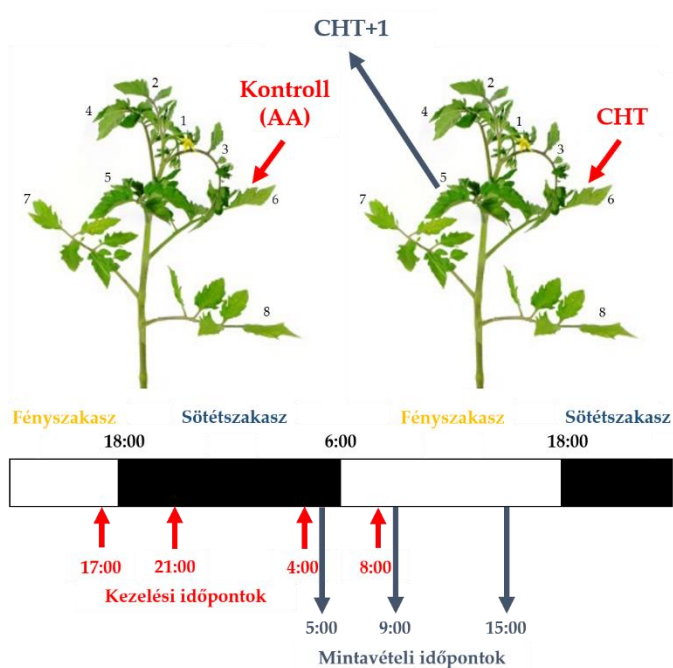
4.2. Az alkalmazott kezelések

A gomba eredetű és bakteriális MAMP-ok ET-függő hatásainak tanulmányozása érdekében az intakt VT és Nr növények hajtáscsúctól számított 6. levélemeletén található leveleinek abaxiális felszínét kezeltük CHT, valamint flg22 elicitorokkal, mókusször ecset segítségével. A lokális védekezési reakciók mellett az egész növényre kiterjedő, szisztémikus válaszok detektálása érdekében minden kísérletet elvégeztünk a kezelt levélemelethez képest disztálisan elhelyezkedő, hajtáscsúctól számított 5. levélemeletről származó „szisztémikus” leveleken is. A CHT kezelésekhez alacsony molekulatömegű CHT-t (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 100 mM nátrium-acetát pufferben (AA; pH 3,6) oldottunk fel, 10 mg ml^{-1} koncentrációban, melyet a későbbiekben törzsoldatként használtunk a kezelőoldat készítéséhez (Shepherd és mtsai. 1997). A törzsoldatból inkubációs pufferrel [10 mM KCl, 5 mM 2-(N-morfolino)-etánszulfonsav (MES), pH 6,15] hígítottunk 1 mM AA és $100 \mu\text{g ml}^{-1}$ CHT végkoncentrációjú kezelőoldatot. A kontroll kezeléseket CHT nélküli, 1 mM AA tartalmú inkubációs pufferrel végeztük (Ördög és mtsai. 2011). A bakteriális elicitor kezelésekhez $5 \mu\text{M}$ flg22 (Genscript Biotech

Corporation, Piscataway, NJ, USA) oldatot használtunk, mely esetében a flg22 feloldására használt steril desztillált víz szolgált kontroll kezelőoldatként (Zhang és mtsai. 2008).

4.2.1. I. kísérleti elrendezés

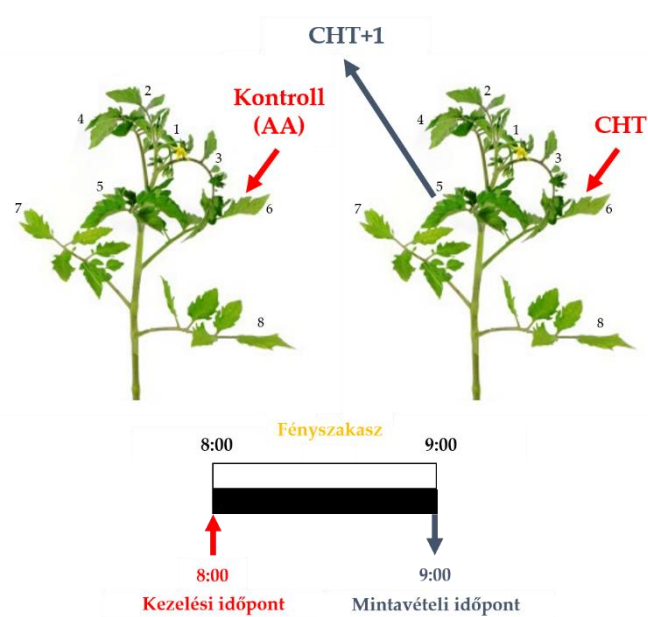
A CHT által indukált védekezési válaszok napszak-, valamint fényfüggésének tanulmányozása érdekében a VT paradicsom növények hajtáscsúcsától számított 6. levélemeletét különböző napszakokban kezeltük a gomba eredetű elicitorral. A késő délutáni (17:00), esti (21:00), valamint hajnali (4:00) kezeléseket követően a védekezési válaszok monitorozása szintén különböző időpontokban (5:00; 9:00; 15:00) történt. A fény növényi védekezési válaszokra gyakorolt, közvetlen hatásának vizsgálatához a reggel (8:00) történő CHT kezeléseket követően párhuzamosan tartottunk növényeket fényben és sötétben a 9, illetve 15 órakor történő mintavételekig (1. ábra).



1. ábra: I. kísérleti elrendezés. A CHT által indukált védekezési válaszok napszak-, valamint fényfüggésének vizsgálata.

4.2.2. II. kísérleti elrendezés

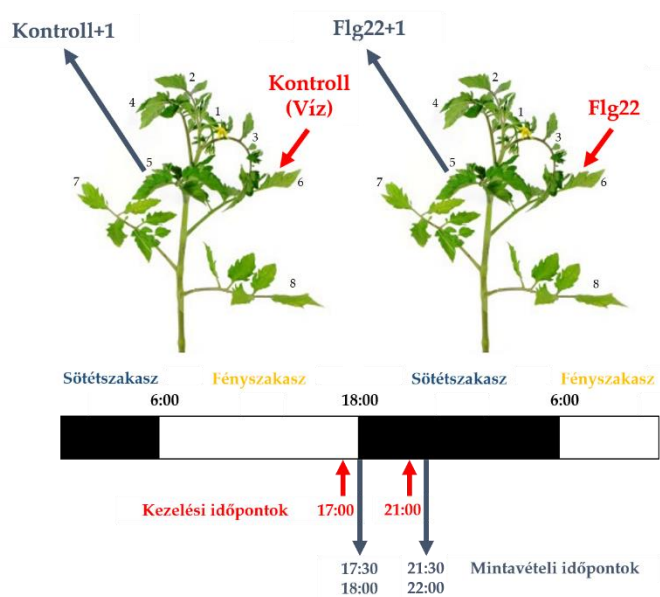
További kísérleteink során a CHT kezelések rövidtávú hatásaira fókuszálva a reggel (8:00) kezelt növények gyors védekezési válaszait egy órával később (9:00) vizsgáltuk meg. A CHT kezeléseket követően a növények egy részét mesterséges sötét környezetben tartva a fény direkt hatását vizsgáltuk a CHT-indukálta gyors lokális és szisztémikus védekezési válaszokra (2. ábra).



2. ábra: II. kísérleti elrendezés. A CHT által indukált gyors lokális és szisztémikus védekezési válaszok fényfüggésének vizsgálata.

4.2.3. III. kísérleti elrendezés

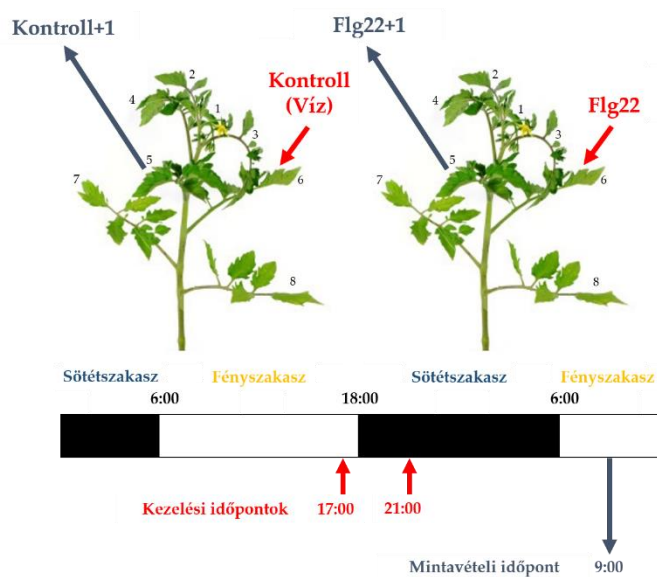
A flg22 által indukált gyors védelmi válaszreakciók napszakfüggésének tanulmányozása érdekében a fényszakasz végén (17:00), valamint a sötétszakasz kezdetén (21:00) végeztük a flg22 kezeléseket, melyeket követően 30 perc (17:30; 21:30), vagy 1 óra elteltével (18:00; 22:00) detektáltuk a lokális és szisztémikus védekezési válaszok indukcióját (3. ábra).



3. ábra: III. kísérleti elrendezés. A flg22 által indukált gyors lokális és szisztémikus védekezési válaszok napszak-, valamint fényfüggésének vizsgálata.

4.2.4. IV. kísérleti elrendezés

A flg22 által indukált hosszútávú lokális és szisztémikus védelmi válaszreakciók napszakfüggését a fényszakasz végén (17:00), valamint a sötétszakasz kezdetén (21:00) történő flg22 kezeléseket követően, a következő fényciklus kezdetén (9:00) vizsgáltuk meg (4. ábra).



4. ábra: IV. kísérleti elrendezés. A flg22 által indukált hosszútávú lokális és szisztémikus védekezési válaszok napszakfüggésének vizsgálata.

4.3. Zárósejteken végzett kísérletek

4.3.1. Epidermisz-nyúzatok készítése

A CHT vagy flg22 kezeléseket követően a hajtáscsúcstól számított 5. és 6. levélemeletről származó levelek abaxiális felszínéről közvetlenül a mintavételek után, azonnal epidermisz-nyúzatokat készítettünk csipesz segítségével. Ezt követően a nyúzatokat 3,5 ml inkubációs puffert tartalmazó, 35 mm átmérőjű műanyag vagy üvegaljú Petri-csészébe (MatTek Co., Ashland, MA, USA) helyeztük, majd fedőlemezzel vagy fémrács segítségével rögzítettük azokat a Petri-csészék aljához (Zhang és mtsai. 2001).

4.3.2. A sztómaapertúra vizsgálata

A mintavételek után készített epidermisz-nyúzatokról rögtön fényképet készítettünk mikroszkóp segítségével (Nikon Eclipse TS-100, Nikon Instruments, Tokió, Japán) (Melotto és mtsai. 2006). A sztómák pórusátmérőjét a nyúzatok véletlenszerűen kiválasztott területein az Image-Pro Plus 5.1 szoftverrel (Media Cybernetics, Inc., Rockville, MD, USA) határoztuk meg. A kísérletek során három különböző növényről származó nyúzatokon, legalább 30-40 sztómaapertúrát vizsgáltunk meg, melyet három különböző, független kísérletben ismételtünk.

4.3.3. A zárósejtek ROS és NO produkciójának meghatározása

A sztómák ROS produkcióját 2',7'-dikloro-dihidro-fluoreszcein diacetát (H₂DCFDA), míg a NO termelődését 4-amino-5-metilamino-2',7'-difluoro-fluoreszcein diacetát (DAF-FM DA) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) festéssel vizsgáltuk meg az epidermisz-nyúzatokban (Suhita és mtsai. 2004; Bright és mtsai. 2006). A nyúzatokat inkubációs pufferrel készített 10 µM H₂DCFDA vagy 10 µM DAF-FM DA oldatban 30 percig sötétben, szobahőmérsékleten inkubáltuk. Az inkubációs idő leteltével a nyúzatokat kétszer mostuk át inkubációs pufferrel.

A fluoreszcencia intenzitását Zeiss Axiowert 200 M típusú fluoerszcens mikroszkóppal (Carl Zeiss Inc., Jéna, Németország) detektáltuk. A nyúzatokról nagy felbontású digitális kamera (Axiocam HR, HQ CCD kamera) segítségével készítettünk fotókat, melyhez 10-es filter szettet (gerjesztés: 450-495 nm, emisszió: 515-565 nm)

használtunk, majd a fluoreszcencia intenzitását Axiovision Rel. 4.8. (Carl Zeiss Inc., München, Németország) szoftver segítségével határoztuk meg. Kísérletenként legalább 30-40, három különböző növényről származó sztómát vizsgáltunk meg, melyet három független alkalommal ismételtünk.

4.3.4. A zárósejtek klorofill fluoreszcencia indukciós paramétereinek meghatározása

A zárósejtek klorofill fluoreszcenciáját a kezeléseket követően speciális, Zeiss Axiovert 40 inverz epifluoreszcens mikroszkóphoz (Carl Zeiss Inc., Jéna, Németország) csatlakozó PAM klorofill fluorométerrel (Microscopy-PAM; Heinz Waltz GmbH, Németország) határoztuk meg szobahőmérsékleten, sötétben. Minden kezelés során négy, különböző növényről készített nyúzatot 1-2 random módon kiválasztott sztóma önálló, mezofillum sejtektől független fotoszintetikus aktivitását vizsgáltuk meg. A kísérleteket háromszor ismételtük. Közvetlenül a nyúzatkészítés után, 10 percig sötétadaptáltuk a nyúzatokat, majd a beállított paraméterekkel elindítottuk a mérést. A mért klorofill fluoreszcencia értékekből (F_m , F_0 , F_v , F_s , F_m' , F_0') a következő paramétereket határoztuk meg (Genty és mtsai. 1989; Kramer és mtsai. 2004):

1. F_v/F_m : a PSII maximális kvantumhatásfoka sötétadaptációt követően.

$$F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$$

2. Φ_{PSII} : a PSII effektív kvantumhatásfoka fényadaptációt követően.

$$\Phi_{PSII} = (F_m' - F_s)/F_m'$$

3. qP : a fotokémiai kioltási együttható.

$$qP = (F_m' - F_s)/(F_m' - F_0')$$

4. NPQ: a fényindukált energia disszipáció kvantumhatásfoka a PSII rendszerben.

$$NPQ = (F_m - F_m')/F_m'$$

4.4. Intakt leveleken végzett kísérletek

4.4.1. A szuperoxid gyökanion produkció meghatározása

A levelek O_2^- tartalmát Chaitanya és Naithani (1994) módszere alapján határoztuk meg. 100 mg levelet 1 ml jéghideg 0,1 M nátrium-foszfát pufferben (pH 7,2) homogenizáltunk, mely 1 mM nátrium-dietil-ditiokarbamát-trihidrát (SDDT; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO,

USA) SOD inhibitort tartalmazott. Centrifugálást követően (18890 g, 15 perc, 4°C) 300 µl felülúszót 650 µl 0,1 M nátrium-foszfát puffer (pH 7,2) és 50 µl 12 mM nitrokék-tetrazólium-klorid (NBT; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) tartalmú reakcióelegybe helyeztünk. A minták abszorbanciáját a reakció kezdetétől számított 2. (A0) és 7. (AS) percben, 540 nm-en fotometriásan detektáltuk (KONTRON, Milánó, Olaszország). A $O_2^{\cdot -}$ mennyiségét a $\Delta A_{540} = AS - A_0$ formula segítségével határoztuk meg, majd az eredményeket friss tömegre (FT) vonatkoztattuk $\Delta A_{540} \text{ (min}^{-1} \text{ gFT}^{-1})$.

4.4.2. A H_2O_2 produkció meghatározása

Az alkalmazott kezelések H_2O_2 produkcióra gyakorolt hatásainak vizsgálatához 200 mg levélszövetet eldörzsöltünk 1 ml jéghideg 0,1% triklórecetsavval (TCA), majd lecentrifugáltuk (13400 g, 10 perc, 4°C). 250 µl felülúszóhoz 250 µl 50 mM kálium-foszfát puffert (pH 7,0) és 500 µl 1 M kálium-jodid oldatot adtunk, majd 10 perc sötétben történő inkubációt követően a minták abszorbanciáját 390 nm-en mértük meg spektrofotométerrel (KONTRON, Milánó, Olaszország) (Velikova és mtsai. 2000). A H_2O_2 mennyiségét H_2O_2 hígítási sorból készített, standard kalibrációs egyenes alapján határoztuk meg, majd az eredményeket $\mu\text{mol gFT}^{-1}$ formátumban adtuk meg.

4.4.3. A NO akkumulációjának meghatározása

A NO képződésének levélszövetekben történő vizualizációjához a különböző kezeléseket követően inkubációs pufferben oldott 10 µM DAF-FM DA festékkel infiltráltunk levélkorongokat 30 percig sötétben, szobahőmérsékleten, majd az inkubációs pufferrel történő mosási lépéseket követően a NO mennyiségét a gerjesztő fény által indukált fluoreszcencia emisszió alapján, a korábban ismertetett módszerek segítségével határoztuk meg (Poór és mtsai. 2015).

4.4.4. Az intakt levelek klorofill fluoreszcencia indukciós paramétereinek meghatározása

Az intakt paradicsomlevelek fotoszintetikus aktivitását a klorofill fluoreszcencia alapján, PAM klorofill fluorométer (PAM-2000; Heinz-Walz, Effenrich, Németország) segítségével határoztuk meg. A levelek 15 perces sötétadaptálását követően a méréseket

Poór és Tari (2012) módszere alapján végeztük el, melynek során az F_v/F_m , Φ_{PSII} , qP , valamint NPQ paramétereket a korábban bemutatott formulák alapján határoztuk meg. Minden kezelés esetében négy, különböző növényről származó levélen végeztük el a méréseket.

4.4.5. A sztómakonduktancia és a CO₂ asszimiláció meghatározása

A különböző kezelések hatását a levelek sztómakonduktanciájára és a CO₂ asszimilációra hordozható fotoszintézis-mérő műszer (LI-6400, LI-COR Inc., Lincoln, NE, USA) és a hozzákapcsolt infravörös gázanalizátor segítségével, 200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fényintenzitáson történő megvilágítást követően határoztuk meg, Poór és mtsai. (2011) módszere alapján. A mérés során a kamrában mindvégig standard körülményeket biztosítottunk (25°C, 65 \pm 10% relatív páratartalom, 400 $\mu\text{mol m}^{-1}$ CO₂ koncentráció).

4.4.6. Az ET produkció meghatározása

A levelek ET emissziójának meghatározásához 500 mg levelet 25 ml térfogatú gázgyűjtő üvegekbe helyeztünk, melyeket szilikongumival ellátott kupakkal zártunk le. A mérés megkezdése előtt az ET-t 1 órán keresztül gyűjtöttük sötétben, 25°C-on. Az inkubációt követően légmentesen záró Hamilton-fecskendő (Hamilton, Reno, NV, USA) segítségével 2,5 ml térfogatú gázt injektáltunk a lángionizációs detektorral és aktivált alumínium oszloppal felszerelt gázkromatográfba (Hewlett-Packard 5890 Series II; Palo Alto, CA, USA). A hélium vivőgáz áramlási sebessége 35 $\text{cm}^3 \text{perc}^{-1}$, a hidrogéné 30 $\text{cm}^3 \text{perc}^{-1}$, a levegőé 350 $\text{cm}^3 \text{perc}^{-1}$ volt. Az injektor hőmérséklete 120°C, a kolonnáé 100°C, a lángionizációs detektoré 160°C volt. A termelődött ET mennyiségét standard állapotú, ismert koncentrációjú ET-nel készített kalibráció alapján $\text{nl gFT}^{-1} \text{h}^{-1}$ értékben adtuk meg (Poór és mtsai. 2015). Minden kezelés esetében a méréshez használt leveleket hat különböző növényről gyűjtöttük. A méréseket három alkalommal ismételtük.

4.4.7. A SA- és a JA tartalom meghatározása

A kezelt, valamint szisztémikus levelek SA tartalmát nagynyomású folyadékkromatográfiás (HPLC) analízissel határoztuk meg. A mérés során 1 g levelet folyékony nitrogénben elporítottunk, majd centrifugacsövekben 2 ml 70%-os metanolt

adtunk hozzá, mely 250 ng orto-anizinsavat (oANI) és 25 mg para-hidroxi-benzoessavat (pHBA) tartalmazott. Centrifugálást követően (10000 g, 20 perc) a pelletet 2 ml 90%-os metanolban újra feloldottuk, majd szobahőmérsékleten vákuum alatt a vizes fázisig bepároltuk. A maradék vizes fázishoz 1 ml 5%-os TCA-t adtunk, majd újra lecentrifugáltuk (15000 g, 10 perc). A felülúszót 3 ml ciklohexán:etil-acetát 1:1 (v/v) arányú elegyével kétszer extraháltuk, melynek során a szabad fenolos savak a felső, szerves fázisba kerültek. A metanolban oldódó, kötött fenolos vegyületeket az alsó, vizes fázis tartalmazta, melynek savas hidrolízisét 1,3 ml 8 N HCl-ban oldott 250 ng oANI és 25 µg pHBA hozzáadását követően 60 percig, 80°C-on végeztük, majd e módszer alapján kétszer particionáltuk. A szerves fázisokat vákuum alatt bepároltuk, majd a HPLC analízishez használt első mobilis szolvens 1 ml-ében feloldottuk. A szabad SA tartalmat reverz-fázis oszloppal (Supelcosil ABZ Plus, 5 µm; 150x4,6 mm) ellátott HPLC készülékkel (WATERS, Milford, MA, USA), 25°C-on határoztuk meg, melynek detekciója 305 nm gerjesztési és 407 nm emissziós hullámhosszokon történt, UV/VIS detektor (W474 szkennings fluoreszcencia detektor, Waters, MA, USA) segítségével (Pál és mtsai. 2005).

A kezeléseket követően a JA tartalom változását Pál és mtsai. (2019) módszere alapján határoztuk meg, ultra nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás (UPLC) analízissel, melyhez Waters Acquity I class UPLC-t használtunk (Milford, MA, USA). Ezt követően a tömegspektrometriai analízist Unispray Source ionizátorral (Milford, MA, USA) ellátott Waters Xevo TQXS tömegspektrométerrel (Milford, MA, USA) hajtottuk végre. Az adatok elemzéséhez Waters MassLynx 4.2 és TargetLynx szoftvereket használtunk.

A hormontartalmak meghatározását kétszer ismételtük, melyek során minden esetben kezelésként öt párhuzamossal dolgoztunk, melyekhez legalább hat különböző növényről gyűjtöttünk mintát. A SA és a JA mennyiségét ng gFT⁻¹ értékben adtuk meg.

4.4.8. RNS izolálás, DNáz kezelés, cDNS írás, qRT-PCR

A növényekből származó össz-RNS kivonásához körülbelül 100 mg, folyékony nitrogénben, kvarchomok segítségével elporított mintához 1 ml TRI reagenst adtunk (1,82 M guanidinium izotiocianát, 11,36 mM nátrium-citrát, 200 mM kálium-acetát (pH 4,0), 0,73 mM N-laurilszarkozin, 45,45% fenol), majd 65°C-on 3 percig történő inkubációt követően 200 µl kloroformot adtunk hozzá. Centrifugálást követően (11180 g, 15 perc,

4°C) a felülúszót 375 µl kloroform:izoamilalkoholba (24:1) pipettáztuk, majd ismét lecentrifugáltuk azonos körülmények között. A felülúszót 500 µl izopropanolba helyezve 10 percig szobahőmérsékleten inkubáltuk. Centrifugálás után a pelletet 500 µl 70%-os hideg etanollal tisztítottuk, majd az RNS-t 30 µl molekuláris tisztaságú vízben (AccuGENE®, Lonza Group Ltd, Basel, Svájc) oldottuk fel.

A genomi DNS maradványok eltávolítása érdekében a mintákat DNáz enzimmel (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA USA) kezeltük. A reakció 8 µl DNáz puffert, 34 µl molekuláris tisztaságú vizet és 0,4 µl RNáz inhibitor (Fermentas UAB, Vilnius, Litvánia) tartalmazott, melyhez előbb 15 µl RNS mintát, majd 8 µl DNáz enzimet adtunk (Fermentas UAB, Vilnius, Litvánia). A mintákat 37°C-on 30 percig, majd 65°C-on 10 percig inkubáltuk. A fehérjéket 300 µl kloroform és 300 µl fenol segítségével távolítottuk el, majd a minták centrifugálását követően (16090 g, 15 perc, 4°C) a felülúszót tovább tisztítottuk 400 µl kloroformmal. Ismételt centrifugálás után a felülúszót 550 µl hideg 96%-os etanol és 20 µl 3 M-os Na-acetát elegyében egy éjszakán át -20°C-on inkubáltuk. Centrifugálást követően (16090 g, 10 perc, 4°C) a pelletet 500 µl 70%-os hideg etanollal mostuk, majd 30 µl molekuláris tisztaságú vízben oldottuk fel. Az esetleges RNS degradációt 1%-os agaróz gélelektroforézissel ellenőriztük. Az izolált RNS koncentrációját NanoDrop ND-1000 spektrofotométer (NanoDrop Technologies, Washington, DC, USA) segítségével határoztuk meg.

A tisztított RNS 1 µg-jából 200 U reverz transzkriptáz (RT) enzim (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA USA) segítségével cDNS-t szintetizáltunk, 4 µl RT reakció puffert, 0,5 µl random hexamer primert, 1 µl 25 mM-os dNTP keveréket, 0,5 µl RNáz inhibitor és 13 µl molekuláris tisztaságú vizet tartalmazó reakcióelegyben (Chomczynski és Sacchi, 2006). A reakció 37°C-on 1 órán át tartott. A vizsgálni kívánt gének expressziós mintázatát qRT-PCR (kvantitatív valós-idejű polimeráz láncreakció) készülékkel határoztuk meg (qTOWER Real-Time qPCR System, Analytik Jena, Jéna, Németország). Az NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) és Sol Genomics (<http://solgenomics.net/>) adatbázisokból azonosított szekvenciákra a Primer 3 szoftver segítségével terveztünk primereket (1. melléklet), melyek génspecifitását az NCBI BLAST segítségével ellenőriztük (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) (Takács és mtsai. 2016). A qRT-PCR reakcióelegy 5 µl 2X Maxima SYBR Green qPCR Master Mix-ből (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA), 3 µl nukleázmentes vízből, 0,4 µl primer párból, és 1,6 µl, 20-szorosára hígított cDNS-ből állt. A reakció során az első, 7 percig tartó, 95°C-on történő denaturációs lépést egy 40 ciklusból álló, ismétlődő reakciósor követte

(15 másodperc, 95°C; 1 perc, 60°C). A PCR lefutása után a termékek specifikusságát az olvadási görbék nyomonkövetésével ellenőriztük. Az adatok analíziséhez qTOWER 2.2 szoftvert használtunk (Analytik Jena, Jéna, Németország) (Takács és mtsai. 2018). A génexpressziós adatok normalizálásához a vizsgált szövetekben mindvégig konstans módon expresszáldó paradicsom elongációs faktor 1α (*SIEF1 α*) referenciagént használtuk. A génexpressziós változásokat a $2^{(-\Delta\Delta C_t)}$ módszer alapján határoztuk meg (Livak és Schmittgen, 2001). A kapott eredményeket a vizsgált időpontokban a vad típusú, fényben tartott növények alsó, kontroll oldattal kezelt (AA/steril desztillált víz) leveleinek kezdeti, kontroll értékeire normalizáltuk.

4.4.9. A fehérjetartalom meghatározása

A fehérjetartalom meghatározását Bradford (1976) módszere alapján végeztük. A mérések során 2 μ l felülúszót adtunk 900 μ l desztillált vízhez és 100 μ l Bradford festékhez (Biorad, Hercules CA, USA), majd alapos keverést követően a mintákat 595 nm-en fotometráltuk (KONTRON, Milánó, Olaszország). A fehérjetartalmat borjú szérum albumin (BSA; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) standard hígítási sorral készült kalibráció alapján határoztuk meg.

4.4.10. A növényi kitináz aktivitás meghatározása

A különböző kezelések növényi kitináz enzimek aktivitására gyakorolt hatását Yan és Fong (2018) módszerének kisebb módosításával határoztuk meg. A fehérjét 500 mg növényi mintából, 1 ml 50 mM nátrium-acetát puffer (pH 5,0) segítségével vontuk ki. A minták centrifugálását követően (16090 g, 15 perc, 4°C) 50 μ l felülúszót pipettáztunk 0,45 ml 50 mM nátrium-acetát pufferbe (pH 5,0), mely 0,5 mg ml⁻¹ *p*-nitrofenil *N*-acetil- β -D-glükózamidint [*p*-NP-(GlcNAc)_n] (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) tartalmazott. A mintákat 15 percig 37°C-on inkubáltuk, majd a reakciót 1 ml 0,4 M Na₂CO₃ hozzáadásával állítottuk le. A *p*-nitrofenol felszabadulás által kiváltott színváltozást fotometriásan, 405 nm-en detektáltuk (KONTRON, Milánó, Olaszország). 1 U az a kitináz aktivitás, ami a *p*-NP-(GlcNAc)_n szubsztrátból 1 perc alatt 1 μ mól *p*-nitrofenol felszabadítására képes pH 5,0 tartományban, 37°C-on. A kitináz aktivitást fehérjetartalomra vonatkoztatva adtuk meg U mg protein⁻¹ h⁻¹ értékben.

4.4.11. Western blot analízis

A vizsgálni kívánt, specifikus fehérjék produkciójának változását Western blot módszerrel határoztuk meg. 200 mg növényi mintát folyékony nitrogénben elporítottunk, majd a fehérjék extrakcióját 400 µl módosított Lacus pufferrel [25 mM Tris-HCl (pH 7,8), 10 mM MgCl₂, 15 mM EGTA, 75 mM NaCl, 1 mM ditiotritol (DTT), 0,5 mM fenil-metil-szulfonil-fluorid (PMSF), 0,05% Triton X-100] végeztük el (Hurný és mtsai. 2020). A minták centrifugálását követően (16090 g, 20 perc, 4°C) azok fehérjetartalmát Bradford (1976) módszere alapján határoztuk meg. Mintánként 15 µg proteint tartalmazó kivonatot denaturáló poliakrilamid gélelektroforézissel (SDS-PAGE; Cleaver Scientific Ltd., Rugby, Warwickshire, UK) választottunk el 12%-os szeparáló gélen, majd PVDF membránra (Immobilon-P, Millipore, Bedford, MA, USA) transzferáltuk (200 mA, 70 perc). A membránok blottolása 24 mg ml⁻¹ BSA-t tartalmazó TBS-T [50 mM Tris-HCl (pH 8,0), 150 mM NaCl, 0,05% Tween 20) oldattal történt szobahőmérsékleten, 1 órán keresztül. A blottolást követően a membránokat TBS-T-ben oldott anti-PR3 (AS07 207, 8 µg/ml), anti-BIP2 (AS09 481, 1:2000) vagy anti-Aktin (AS13 2640, 1:3000) elsődleges (nyúl) antitestekkel (Agrisera, Vännäs, Svédország) jelöltük egy éjszakán keresztül, 4°C-on. Az inkubációt követően a nem kötődött antitesteket háromszori mosással távolítottuk el, majd torna-peroxidáz (HRP) enzimmel konjugált, kecskében termelt anti-nyúl IgG másodlagos antitesttel (Agrisera, Vännäs, Svédország) végeztük az elsődleges antitestek specifikus immunológiai jelölését 1 órán át, szobahőmérsékleten. Négy újabb mosási lépést követően HRP szubsztrátként funkcionáló, luminol- és H₂O₂ tartalmú oldatokban 4 percig inkubáltuk a membránt (Western Chemiluminescent HRP Substrate, Immobilon, Millipore, USA), majd a kemilumineszcens szignált C-DiGit Western Blot Scanner (LI-COR, Lincoln, Nebraska, USA) segítségével detektáltuk (Meng és mtsai. 2016).

4.4.12. Statisztikai analízis

A mért adatokat SigmaPlot 11 (Systat Software Inc., Erkrath, Németország) program segítségével dolgoztuk fel és értékeltük ki. A kontrolltól való szignifikáns különbségeket az egy- vagy kétutas ANOVA varianciaanalízist követően Duncan- vagy Holm-Sidak-féle teszttel állapítottuk meg, ahol a statisztikailag szignifikáns, különböző betűvel jelölt átlagok $P \leq 0,05$ valószínűségi szinten térnek el egymástól. Az eredményeket átlag \pm standard hiba (SE) formátumban ábrázoltuk.

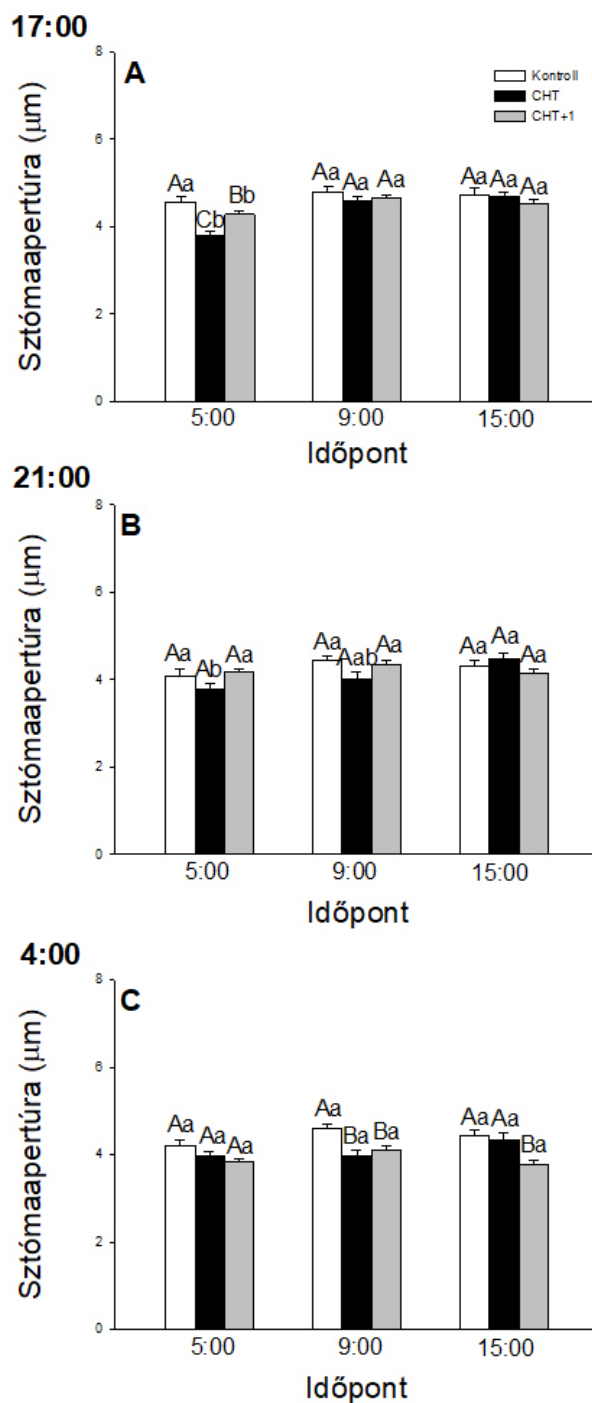
5. Eredmények

5.1. A CHT-indukálta lokális és szisztémikus védekezési válaszok fény-, valamint napszakfüggésének vizsgálata paradicsom növényekben

5.1.1. A sztómaapertúra méretének változása a különböző napszakokban alkalmazott CHT kezeléseket követően

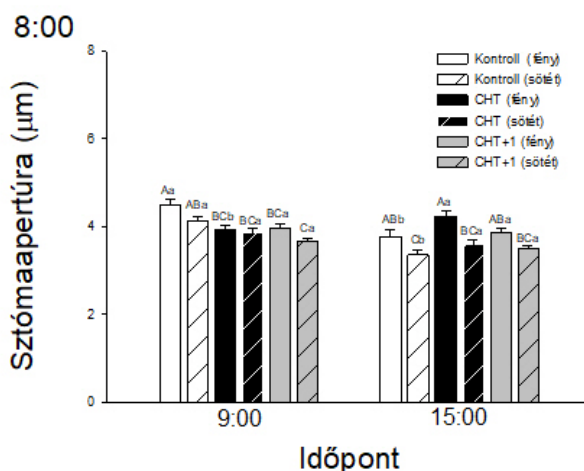
A gomba eredetű CHT elicitor napszakfüggő hatásainak vizsgálata érdekében különböző időpontokban (a fényszakasz végén, 17 órakor; a sötétszakasz kezdetén, 21 órakor és a sötétszakasz végén, 4 órakor) elvégzett kezeléseket követően a védekezési válaszok indukcióját szintén több napszakban detektáltuk (hajnalban, 5 órakor; reggel, 9 órakor, valamint délután, 15 órakor). A fény CHT-indukálta védelmi válaszokra gyakorolt, direkt hatásának tisztázása céljából a fényszakasz elején, 8 órakor kezelt növényeket párhuzamosan tartottunk fényben, illetve sötétben a 9, valamint 15 órakor történő mintavételekig (I. kísérleti elrendezés).

Korábbi tanulmányainkból ismert, hogy az intakt paradicsom növények sztómái hajnalban kezdenek el nyitódni, melynek maximumát 12 órakor érik el, ezt követően viszont lassan csökken a sztómaapertúrák mérete. Érdekes módon a CHT hajnalban, 5 órakor kizárólag a 17 órakor történő kezelés esetén gátolta a sztómanyitódást (5. ábra, A), viszont a hajnali kezelések reggel 9 órakor csökkentették szignifikánsan a sztómák pórusátmérőjét lokálisan és szisztémikusan egyaránt (5. ábra, C). Ezzel szemben a sötétben, 21 órakor elvégzett kezelések egyik vizsgált időpontban sem váltottak ki szignifikáns sztómazáródást (5. ábra, B). Megállapítható továbbá, hogy a CHT a kezelések időpontjától függetlenül, nem befolyásolja a sztómamozgást késő délután (15:00) (5-6. ábra).



5. ábra: A sztómaapertúra méretének változása intakt vad típusú paradicsom növények abaxiális levélfelszínéről készített epidermisz-nyúzatokon, a fényszakasz végén (17:00, **A**), este (21:00, **B**), valamint hajnalban (4:00, **C**) történő kitozán (CHT) kezeléseket követően, különböző időpontokban (5:00; 9:00; 15:00) (Átlag±SE, n=3). A kontrolltól való szignifikáns különbségeket kétutas ANOVA varianciaanalízist követően Holm-Sidak-féle teszttel állapítottuk meg, ahol a különböző betűvel jelzett oszlopok $P \leq 0,05$ valószínűségi szinteken, szignifikánsan különböznek egymástól. A nagybetűs jelölés ugyanazon időpontban a különböző kezelések, míg a kisbetűs nomenklatúra ugyanazon kezelés különböző időpontokban kiváltott hatásainak összehasonlítását reprezentálja. (Kontroll: 1 mM AA puffer (fehér oszlopok); CHT: 100 $\mu\text{g ml}^{-1}$ kitozánt tartalmazó 1 mM AA puffer (fekete oszlopok); CHT+1: a CHT-kezelt levelektől disztálisan elhelyezkedő, kezeletlen levélemelet (szürke oszlopok)).

A CHT a reggeli (8:00) kezeléseket követően a fény jelenlététől függetlenül mindössze egy óra elteltével (9:00) szignifikánsan csökkentette a sztómák pórusátmérőjét. A lokális sztómaválaszok mellett a CHT szignifikáns sztómazáródást indukált a kezelt levelekhez képest disztálisan elhelyezkedő, szisztemikus levelekben is, mely a 8 órákor történő kezeléseket követően egy óra múlva jelentkezett, a fényben és sötétben tartott növényekben egyaránt (6. ábra).

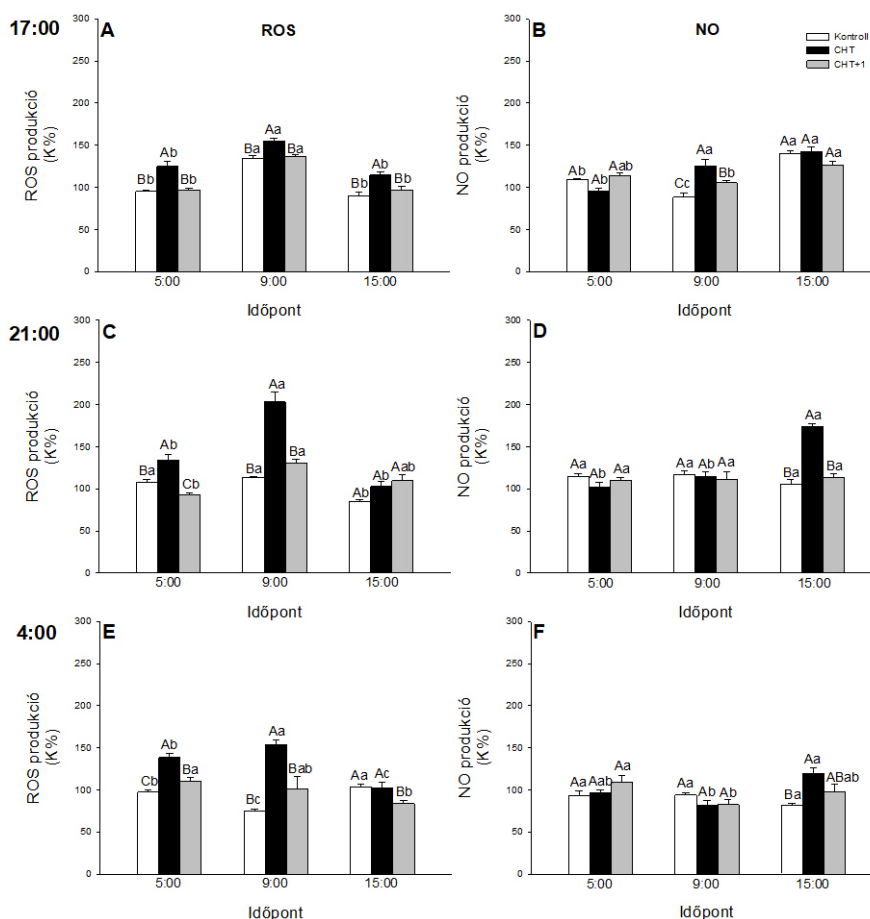


6. ábra: A sztómaapertúra méretének változása intakt vad típusú paradicsom növények abaxiális levélfelszínéről készített epidermisz-nyúzatokon, a reggel (8:00) történő kitozán (CHT) kezeléseket követően párhuzamosan fényben (sima oszlopok) vagy sötétben (sávozott oszlopok) tartott növényekben, különböző időpontokban (9:00; 15:00) (Átlag±SE, n=3). A kontrolltól való szignifikáns különbségeket kétutas ANOVA varianciaanalízist követően Holm-Sidak-féle teszttel állapítottuk meg, ahol a különböző betűvel jelzett oszlopok $P \leq 0,05$ valószínűségi szinteken, szignifikánsan különböznek egymástól. A nagybetűs jelölés ugyanazon időpontban a különböző kezelések, míg a kisbetűs nomenklatura ugyanazon kezelés különböző időpontokban kiváltott hatásainak összehasonlítását reprezentálja. (Kontroll: 1 mM AA puffer (fehér oszlopok); CHT: 100 $\mu\text{g ml}^{-1}$ kitozánt tartalmazó 1 mM AA puffer (fekete oszlopok); CHT+1: a CHT-kezelt levelektől disztálisan elhelyezkedő, kezeletlen levélemelet (szürke oszlopok)).

5.1.2. A zárósejtek ROS-, valamint NO produkciójának változása a különböző napszakokban alkalmazott CHT kezeléseket követően

Mivel a sztómamozgást alapvetően a ROS és NO szabályozzák, a CHT kezelések napszakfüggő, sztómazáródásra gyakorolt hatásainak igazolását követően megvizsgáltuk, hogyan változik a zárósejtekben a ROS és NO mennyisége, a különböző napszakokban történő CHT kezeléseket követően. A CHT minden esetben, a kezelések időpontjától függetlenül szignifikáns ROS produkciót váltott ki a fényciklus első felében a sztómákban, ez azonban lényegesen magasabb volt 9 órákor, mint 5 órákor, különösen az este, 21 órákor kezelt növények esetében (7. ábra). Érdekes módon azonban a NO termelődését

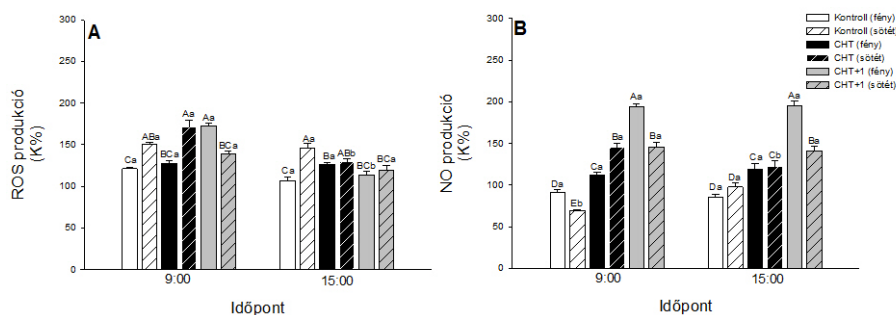
a CHT délután (15:00) fokozta szignifikánsan a sötét periódusban (21:00, 5:00) végzett kezeléseket követően (7. ábra, D, F). A fényszakasz végén (17:00) történő CHT kezelések eredményeként azonban reggel, 9 órakor nőtt meg a NO szintje szignifikánsan (7. ábra, B).



7. ábra: A zárósejtek ROS (H_2DCFDA fluoreszcencia; **A, C, E**) és NO (DAF-FM DA fluoreszcencia; **B, D, F**) produkciójának változása intakt vad típusú paradicsom növények abaxiális levélfelszínéről készített epidermisz-nyúzatokon (kontroll%-ban kifejezve), a fényszakasz végén (17:00; **A, B**), este (21:00; **C, D**), valamint hajnalban (4:00; **E, F**) történő kitozán (CHT) kezeléseket követően, különböző időpontokban (5:00; 9:00; 15:00) (Átlag \pm SE, $n=3$). A kontrolltól való szignifikáns különbségeket kétutas ANOVA varianciaanalízist követően Holm-Sidak-féle teszttel állapítottuk meg, ahol a különböző betűvel jelzett oszlopok $P \leq 0,05$ valószínűségi szinteken szignifikánsan különböznek egymástól. A nagybetűs jelölés ugyanazon időpontban a különböző kezelések, míg a kisbetűs nomenklatúra ugyanazon kezelés különböző időpontokban kiváltott hatásainak összehasonlítását reprezentálja. (Kontroll: 1 mM AA puffer (fehér oszlopok); CHT: 100 $\mu g\ ml^{-1}$ kitozánt tartalmazó 1 mM AA puffer (fekete oszlopok); CHT+1: a CHT-kezelt levelektől disztálisan elhelyezkedő, kezeletlen levélemelet (szürke oszlopok)).

A reggeli (8:00) CHT kezeléseket követően fokozott ROS produkció volt tapasztalható a fényben, valamint sötétben tartott növények zárósejtjeiben 9 órakor, mely a fény jelenlétében a disztális levelekben is jelentkezett (8. ábra, A). A NO akkumulációja azonban a reggeli (8:00) CHT kezelések után mesterséges sötét környezetben tartott

növények zárósejtjeiben 1 óra elteltével (9:00) és délután (15:00) is szignifikáns mértékben fokozódott (8. ábra, B). Érdekes módon a reggeli kezeléseket követően a CHT a lokális NO termelés fokozása mellett szignifikánsan növelte annak akkumulációját a kezelt levelektől disztálisan elhelyezkedő, szisztémikus levelek zárósejtjeiben is, fényben és sötétben egyaránt (8. ábra, B).

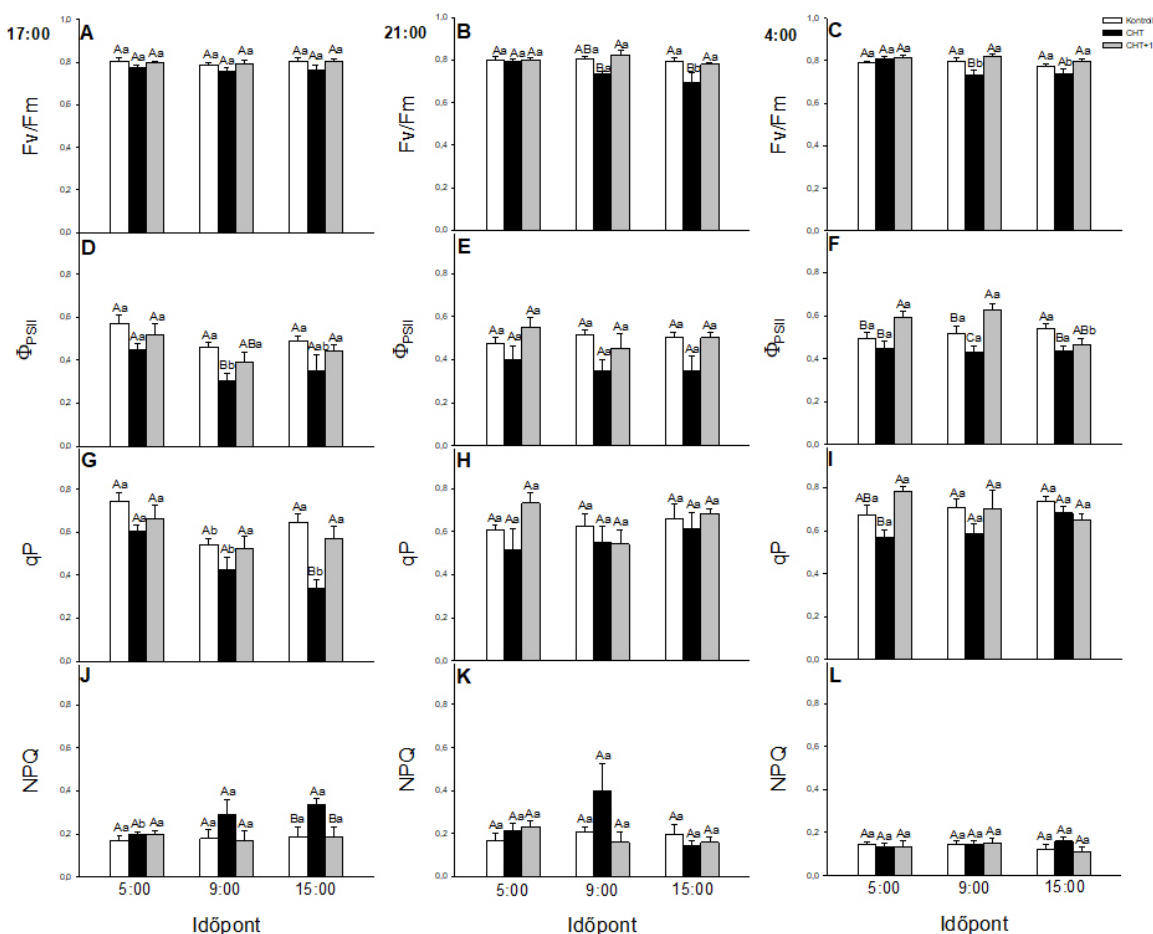


8. ábra: A zárósejtek ROS (H_2DCFDA fluoreszcencia; **A**) és NO (DAF-FM DA fluoreszcencia; **B**) produkciójának változása intakt vad típusú paradicsom növények abaxiális levélfelszínéről készített epidermisz-nyúzatokon (kontroll%-ban kifejezve), a reggel (8:00) történő kitozán (CHT) kezeléseket követően párhuzamosan fényben (sima oszlopok) vagy sötétben (sávozott oszlopok) tartott növényekben, különböző időpontokban (9:00; 15:00) (Átlag \pm SE, $n=3$). A kontrolltól való szignifikáns különbségeket kétutas ANOVA varianciaanalízist követően Holm-Sidak-féle teszttel állapítottuk meg, ahol a különböző betűvel jelzett oszlopok $P \leq 0,05$ valószínűségi szinteken szignifikánsan különböznek egymástól. A nagybetűs jelölés ugyanazon időpontban a különböző kezelések, míg a kisbetűs nomenklatura ugyanazon kezelés különböző időpontokban kiváltott hatásainak összehasonlítását reprezentálja. (Kontroll: 1 mM AA puffer (fehér oszlopok); CHT: 100 $\mu g\ ml^{-1}$ kitozánt tartalmazó 1 mM AA puffer (fekete oszlopok); CHT+1: a CHT-kezelt levelektől disztálisan elhelyezkedő, kezeletlen levélemelet (szürke oszlopok)).

5.1.3. A zárósejtek fotoszintetikus aktivitásának változása a különböző napszakokban alkalmazott CHT kezeléseket követően

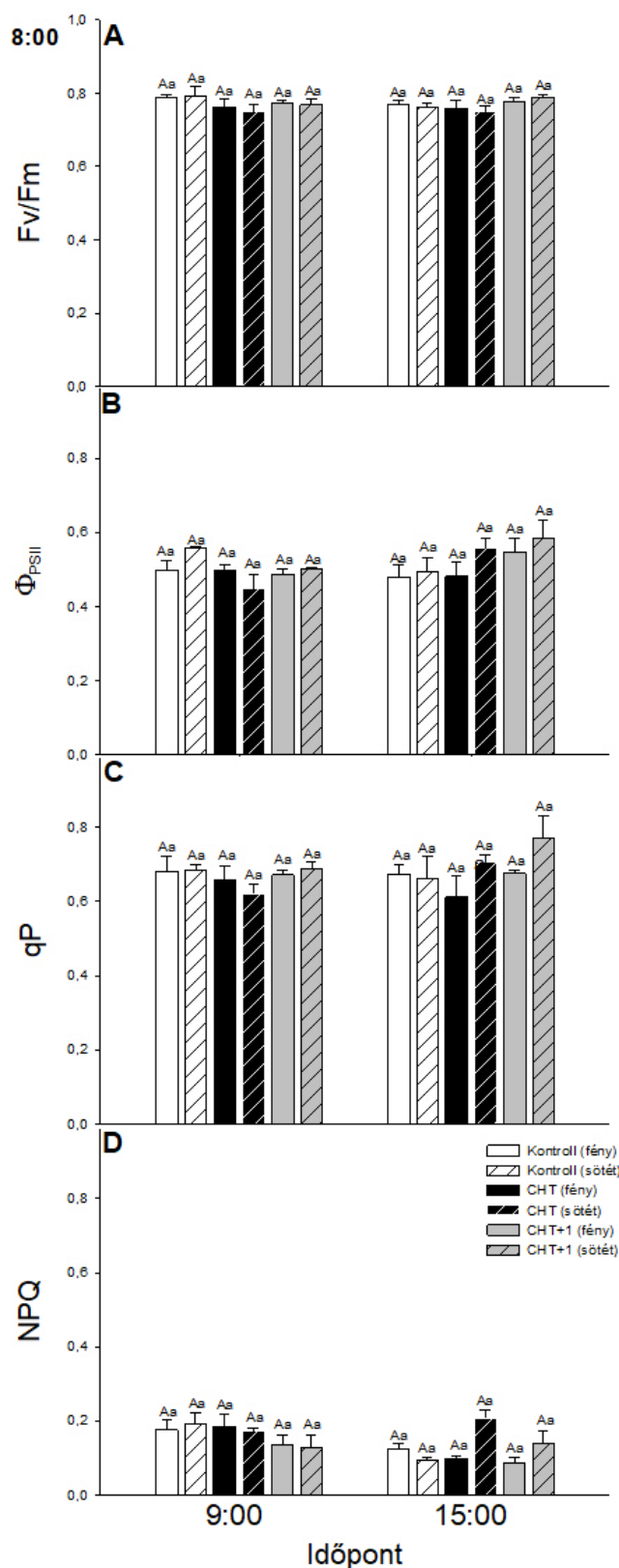
A CHT kezelések hatását a zárósejtek fotoszintetikus aktivitására azok PSII klorofill fluoreszcencia indukciós paramétereinek változásai alapján követtük nyomon. A PSII maximális kvantumhatásfoka (F_v/F_m) kismértékben csökkent reggel 9 órakor, a gomba elicitor kezeléseket követően, elsősorban annak sötétben történő alkalmazása során (9. ábra, C). Emellett a PSII effektív kvantumhatásfoka (Φ_{PSII}) szintén jelentősen visszaesett a hajnalban végzett CHT kezeléseket követően reggel (9:00), valamint délután (15:00) (9. ábra, F). A fotokémiai kioltás (qP) csökkenése a fényszakasz végén (17:00) alkalmazott CHT kezelést követően, másnap délután (15:00) vált szignifikánssá (9. ábra, G). A CHT ugyanakkor nem volt hatással a nem-fotokémiai kioltásra (NPQ) a

sztómaokban (9. ábra, J-L) a fényszakasz végén (17:00) történő kezelést követő másnap délutáni időpont (15:00) kivételével, ahol szignifikánsan növelte azt (9. ábra, J).



9. ábra: A zárósejtek klorofill fluoreszcencia indukciós paramétereinek [F_v/F_m (A-C), Φ_{PSII} (D-F), qP (G-I), NPQ (J-L)] változása intakt vad típusú paradicsom növények abaxiális levélfelszínéről készített epidermisz-nyúzatokon, a fényszakasz végén (17:00; A, D, G, J), este (21:00; B, E, H, K), valamint hajnalban (4:00; C, F, I, L) történő kitozán (CHT) kezeléseket követően, különböző időpontokban (5:00; 9:00; 15:00) (Átlag \pm SE, $n=3$). A kontrolltól való szignifikáns különbségeket kétutas ANOVA varianciaanalízist követően Holm-Sidak-féle teszttel állapítottuk meg, ahol a különböző betűvel jelzett oszlopok $P \leq 0.05$ valószínűségi szinteken szignifikánsan különböznek egymástól. A nagybetűs jelölés ugyanazon időpontban a különböző kezelések, míg a kisbetűs nomenklatura ugyanazon kezelés különböző időpontokban kiváltott hatásainak összehasonlítását reprezentálja. (Kontroll: 1 mM AA puffer (fehér oszlopok); CHT: 100 $\mu\text{g ml}^{-1}$ kitozánt tartalmazó 1 mM AA puffer (fekete oszlopok); CHT+1: a CHT-kezelt levelektől disztálisan elhelyezkedő, kezeletlen levélemelet (szürke oszlopok)).

Érdekes módon a reggel 8 órakor, a maximális sztómanyitottság időszakában alkalmazott CHT kezelés nem befolyásolta szignifikánsan az F_v/F_m , Φ_{PSII} , qP , valamint NPQ paramétereket (10. ábra, A-D). Ugyanakkor a gomba elicitor kezeléseket követően, az első fényperiódus alatt nem volt detektálható szignifikáns csökkenés a szisztémikus levelek sztómáinak klorofill fluoreszcencia indukciós paramétereiben (9, 10. ábra).

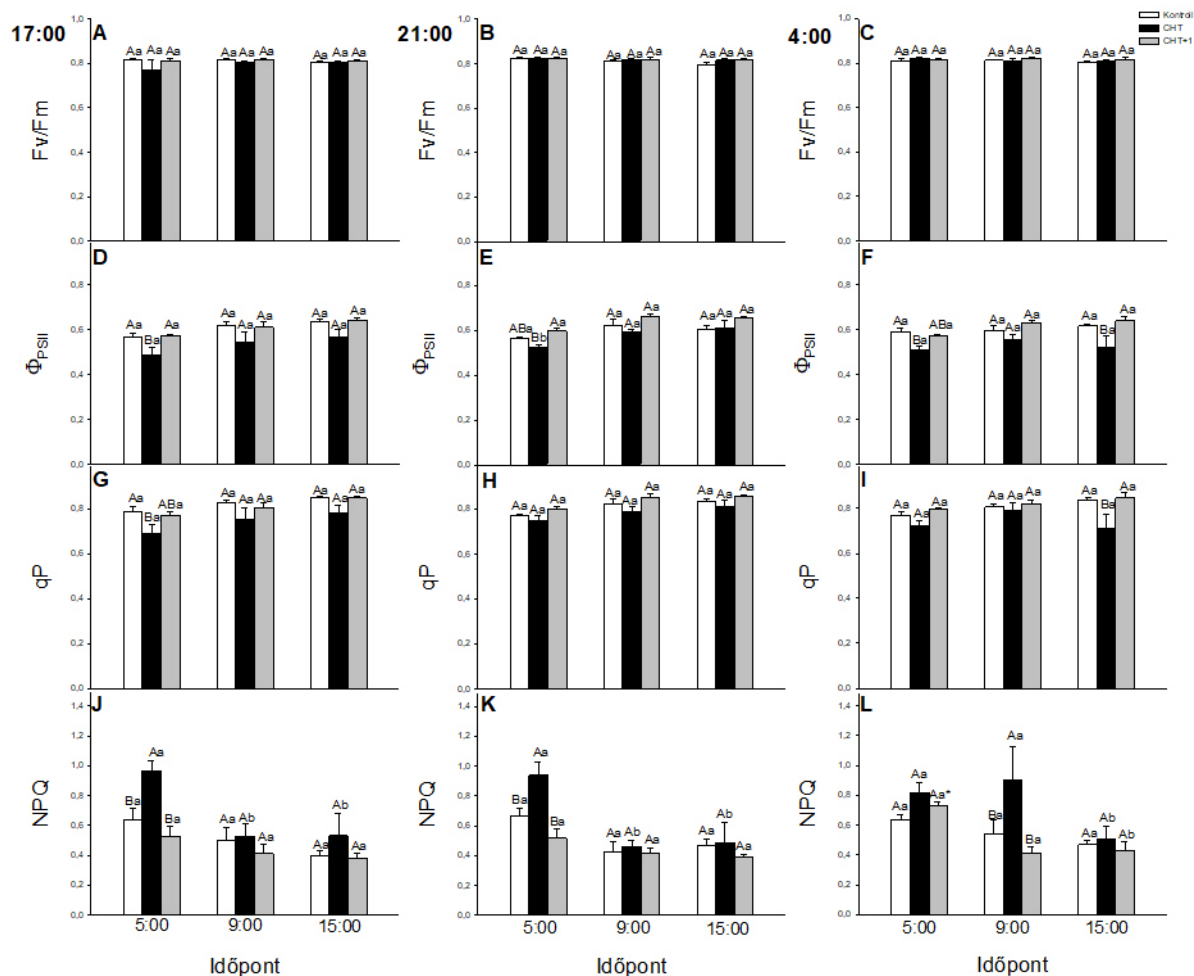


10. ábra: A zárósejtek klorofill fluoreszcencia indukciós paramétereinek [F_v/F_m (**A**), Φ_{PSII} (**B**), qP (**C**), NPQ (**D**)] változása intakt vad típusú paradicsom növények abaxiális levélfelszínéről készített epidermisz-nyúzatokon, a reggel (8:00) történő kitozán (CHT) kezeléseket követően párhuzamosan fényben (sima oszlopok) vagy sötétben (sávozott oszlopok) tartott növényekben, különböző időpontokban (9:00; 15:00) (Átlag \pm SE, $n=3$). A kontrolltól való szignifikáns különbségeket kétutas

ANOVA varianciaanalízist követően Holm-Sidak-féle teszttel állapítottuk meg, ahol a különböző betűvel jelzett oszlopok $P \leq 0,05$ valószínűségi szinteken szignifikánsan különböznek egymástól. A nagybetűs jelölés ugyanazon időpontban a különböző kezelések, míg a kisbetűs nomenklátúra ugyanazon kezelés különböző időpontokban kiváltott hatásainak összehasonlítását reprezentálja. (Kontroll: 1 mM AA puffer (fehér oszlopok); CHT: 100 $\mu\text{g ml}^{-1}$ kitozánt tartalmazó 1 mM AA puffer (fekete oszlopok); CHT+1: a CHT-kezelt levelektől disztálisan elhelyezkedő, kezeletlen levélemelet (szürke oszlopok)).

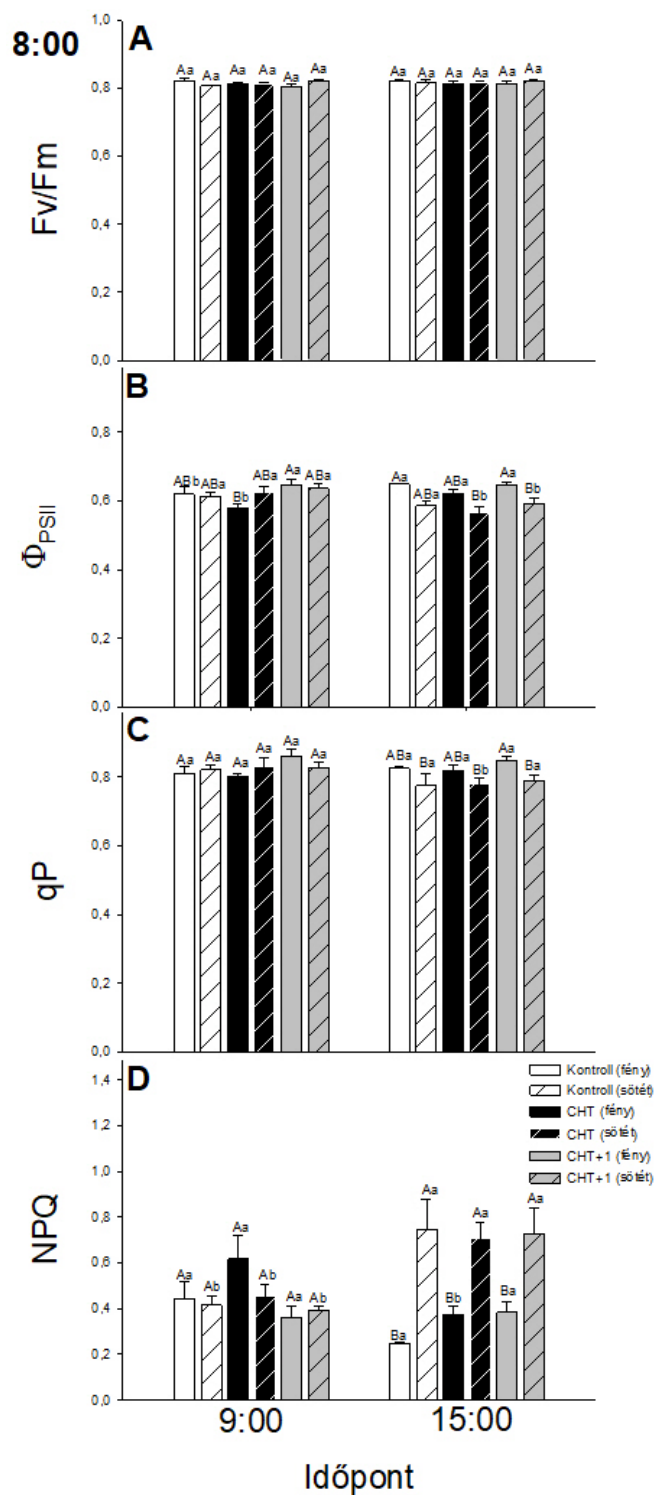
5.1.4. A mezofillum sejtek fotoszintetikus aktivitásának változása a különböző napszakokban alkalmazott CHT kezeléseket követően

A zárósejtek vizsgálatát követően, a CHT kezelések mezofillum sejtek fotoszintetikus aktivitására gyakorolt hatásainak feltárása érdekében a klorofill fluoreszcencia indukciós paraméterek analízisét a különböző napszakokban alkalmazott CHT kezeléseket követően, intakt leveleken is elvégeztük. Míg a Φ_{PSII} , valamint qP paraméterek szignifikánsan csökkentek hajnalban, a 17 órakor alkalmazott CHT kezeléseket követően (11. ábra, D, G), ezzel párhuzamosan az NPQ szignifikáns növekedést mutatott ugyanezen időpontban (11. ábra, J). A sötétszakasz végén történő CHT kezelések eredményeként szignifikánsan csökkent hajnalban a Φ_{PSII} , míg délután a Φ_{PSII} és a qP (11. ábra, F, I), az NPQ viszont reggel mutatott szignifikáns növekedést (11. ábra, L).



11. ábra: A klorofill fluoreszcencia indukciós paraméterek [F_v/F_m (A-C), Φ_{PSII} (D-F), qP (G-I), NPQ (J-L)] változása intakt vad típusú paradicsom növények leveleiben, a fényszakaszk végén (17:00; A, D, G, J), este (21:00; B, E, H, K), valamint hajnalban (4:00; C, F, I, L) történő kitozán (CHT) kezeléseket követően, különböző időpontokban (5:00; 9:00; 15:00) (Átlag \pm SE, $n=3$). A kontrolltól való szignifikáns különbségeket kétutas ANOVA varianciaanalízist követően Holm-Sidak-féle teszttel állapítottuk meg, ahol a különböző betűvel jelzett oszlopok $P \leq 0,05$ valószínűségi szinteken szignifikánsan különböznek egymástól. A nagybetűs jelölés ugyanazon időpontban a különböző kezelések, míg a kisbetűs nómenklatura ugyanazon kezelés különböző időpontokban kiváltott hatásainak összehasonlítását reprezentálja. (Kontroll: 1 mM AA puffer (fehér oszlopok); CHT: 100 $\mu\text{g ml}^{-1}$ kitozánt tartalmazó 1 mM AA puffer (fekete oszlopok); CHT+1: a CHT-kezelt levelektől disztálisan elhelyezkedő, kezeletlen levélemelet (szürke oszlopok)).

A CHT ugyanakkor nem befolyásolta szignifikánsan a mezofillum sejtek klorofill fluoreszcencia indukciós paramétereit a reggeli kezeléseket követően (12. ábra). Emellett a gomba elicitor kezelések időpontjától függetlenül, a disztális levelek mezofillum sejtjeiben sem tapasztaltunk szignifikáns változást a vizsgált klorofill fluoreszcencia indukciós paraméterekben.



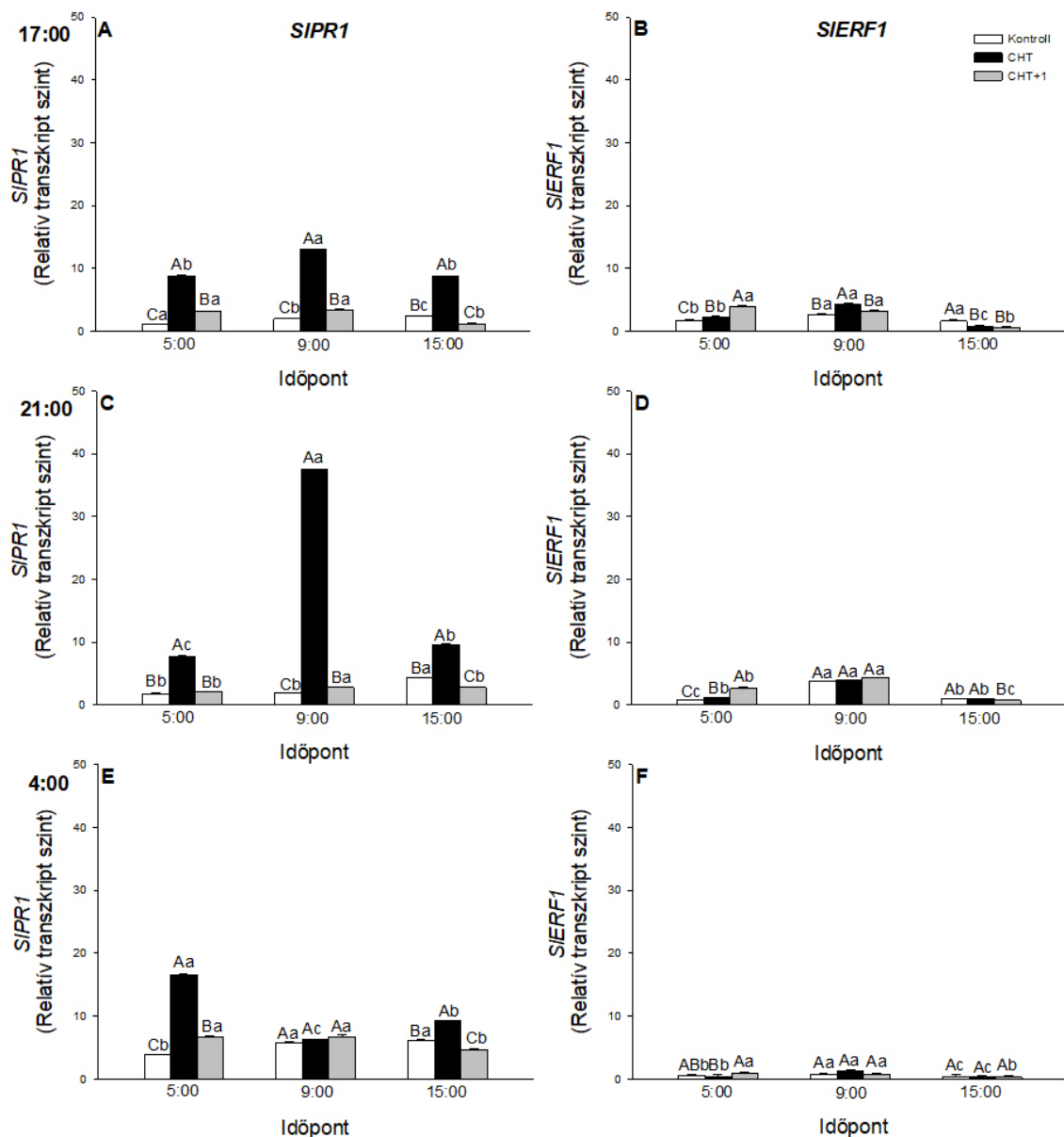
12. ábra: A klorofill fluoreszcencia indukciós paraméterek [F_v/F_m (A), Φ_{PSII} (B), qP (C), NPQ (D)] változása intakt vad típusú paradicsom növények leveleiben, a reggel (8:00) történő kitozán (CHT) kezeléseket követően párhuzamosan fényben (sima oszlopok) vagy sötétben (sávozott oszlopok) tartott növényekben, különböző időpontokban (9:00; 15:00) (Átlag \pm SE, $n=3$). A kontrolltól való szignifikáns különbségeket kétutas ANOVA varianciaanalízist követően Holm-Sidak-féle teszttel állapítottuk meg, ahol a különböző betűvel jelzett oszlopok $P \leq 0,05$ valószínűségi szinteken szignifikánsan különböznek egymástól. A nagybetűs jelölés ugyanazon időpontban a különböző kezelések, míg a kisbetűs nomenklátúra ugyanazon kezelés különböző időpontokban kiváltott hatásainak összehasonlítását reprezentálja. (Kontroll: 1 mM AA puffer (fehér oszlopok); CHT:

100 $\mu\text{g ml}^{-1}$ kitozánt tartalmazó 1 mM AA puffer (fekete oszlopok); CHT+1: a CHT-kezelt levelektől disztálisan elhelyezkedő, kezeltetlen levélemelet (szürke oszlopok)).

5.1.5. A főbb védekezési hormonválasz gének expressziójának változása a különböző napszakokban alkalmazott CHT kezeléseket követően

További kísérleteink során megvizsgáltuk, hogy mely főbb védekezési hormonválasz gének expresszálódnak a CHT kezelések hatására, valamint azok rendelkeznek-e napszak-, fény-, vagy levélemelet-specifikus kifejeződési mintázattal az elicitor kezeléseket követően. A legerőteljesebb indukció a gomba elicitor alkalmazása során a SA markergén *SLPR1* expressziójában jelentkezett (13. ábra, A, C, E; 14. ábra). Az *SLPR1* kifejeződése már a legkorábbi vizsgált időpontban, hajnalban is szignifikáns növekedést mutatott a CHT-kezelt levelekben. Expressziós maximumát 9 órakor érte el, az esti, 21 órakor történő CHT kezeléseket követően (13. ábra, C).

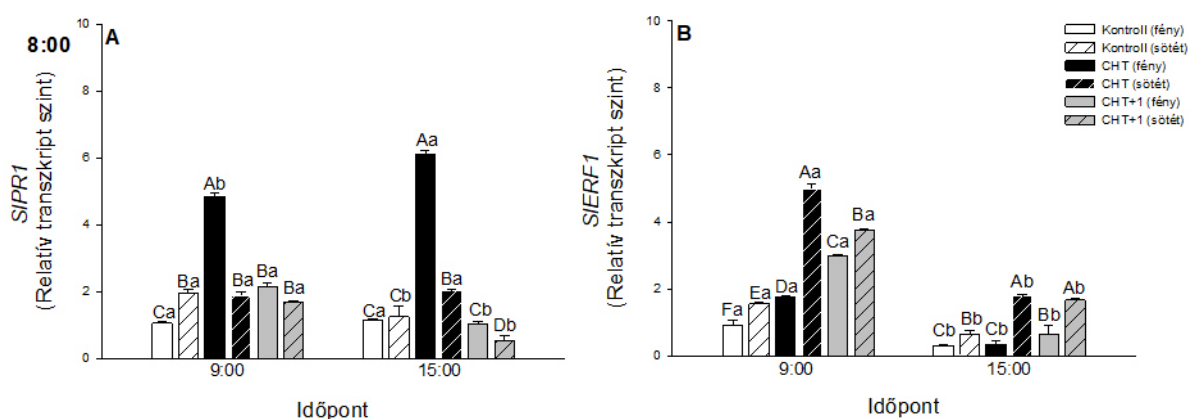
Érdekes módon az *SLERF1* expressziója hajnalban mutatott szignifikáns indukciót, a 17, valamint 21 órakor alkalmazott CHT kezeléseket követően (13. ábra, B, D).



13. ábra: Az *SIPR1* (A, C, E) és az *SIERF1* (B, D, F) relatív transzkript szintjének változása intakt vad típusú paradicsom növények leveleiben, a fényszakasz végén (17:00; A, B), este (21:00; C, D), valamint hajnalban (4:00; E, F) történő kitozán (CHT) kezeléseket követően, különböző időpontokban (5:00; 9:00; 15:00) (Átlag±SE, n=3). A kontrolltól való szignifikáns különbségeket kétutas ANOVA varianciaanalízist követően Holm-Sidak-féle teszttel állapítottuk meg, ahol a különböző betűvel jelzett oszlopok $P \leq 0,05$ valószínűségi szinteken szignifikánsan különböznek egymástól. A nagybetűs jelölés ugyanazon időpontban a különböző kezelések, míg a kisbetűs nomenklátúra ugyanazon kezelés különböző időpontokban kiváltott hatásainak összehasonlítását reprezentálja. (Kontroll: 1 mM AA puffer (fehér oszlopok); CHT: 100 $\mu\text{g ml}^{-1}$ kitozánt tartalmazó 1 mM AA puffer (fekete oszlopok); CHT+1: a CHT-kezelt levelektől disztálisan elhelyezkedő, kezeletlen levélemelet (szürke oszlopok)).

Az *SIPRI* kapcsán a legfontosabb eredmények azonban reggel, a korai fényszakaszban voltak megfigyelhetők, ahol a CHT mindössze 1 órán belül indukálta annak kifejeződését a fényben (14. ábra, A). A párhuzamosan sötétben tartott növényekben ugyanakkor gátlódott az *SIPRI* transzkriptumok akumulációja. Az *SIPRI* lokális kifejeződése mellett expressziója szignifikánsan fokozódott 1 óra alatt a disztális levelekben is (14. ábra, A).

Emellett a gomba elicitor 1 órán belül fokozta az *SIERF1* kifejeződését, amennyiben reggel történt a kezelés (14. ábra, B). Ugyanakkor az *SIERF1* relatív transzkript akumulációja szignifikánsan megnőtt a sötétben. Az *SIPRI*-hez hasonlóan az *SIERF1* kifejeződése is szignifikánsan fokozódott reggel, 1 órával a gomba elicitor kezelést követően a kezelt levélemelethez képest disztálisan elhelyezkedő, szisztémikus levelekben (14. ábra).



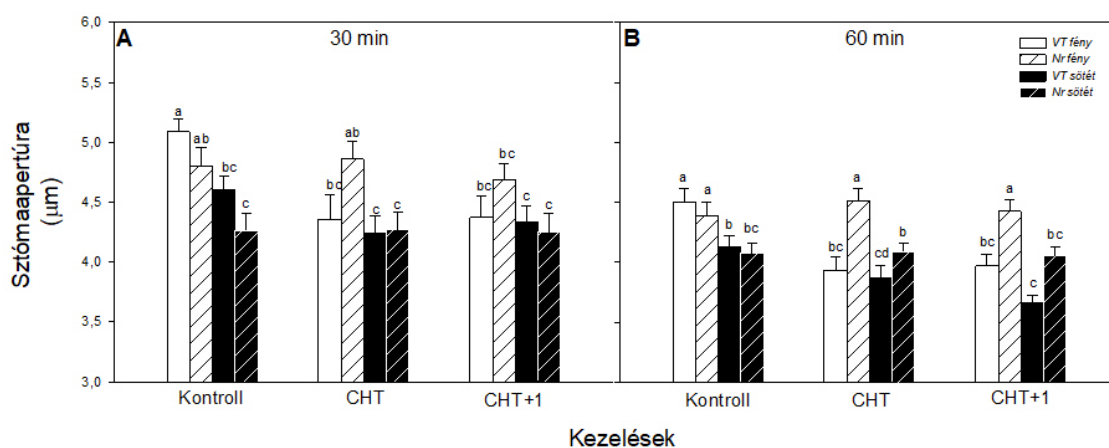
14. ábra: Az *SIPRI* (A) és az *SIERF1* (B) relatív transzkript szintjének változása intakt vad típusú paradicsom növények leveleiben, a reggel (8:00) történő kitozán (CHT) kezeléseket követően párhuzamosan fényben (sima oszlopok) vagy sötétben (sávozott oszlopok) tartott növényekben, különböző időpontokban (9:00; 15:00) (Átlag \pm SE, n=3). A kontrolltól való szignifikáns különbségeket kétutas ANOVA varianciaanalízist követően Holm-Sidak-féle teszttel állapítottuk meg, ahol a különböző betűvel jelzett oszlopok $P \leq 0,05$ valószínűségi szinteken szignifikánsan különböznek egymástól. A nagybetűs jelölés ugyanazon időpontban a különböző kezelések, míg a kisbetűs nomenklátúra ugyanazon kezelés különböző időpontokban kiváltott hatásainak összehasonlítását reprezentálja. (Kontroll: 1 mM AA puffer (fehér oszlopok); CHT: 100 $\mu\text{g ml}^{-1}$ kitozánt tartalmazó 1 mM AA puffer (fekete oszlopok); CHT+1: a CHT-kezelt levelektől disztálisan elhelyezkedő, kezeletlen levélemelet (szürke oszlopok)).

5.2. A fény és az ET szerepének vizsgálata a CHT-indukálta lokális és szisztémikus védekezési válaszok szabályozásában

5.2.1. A CHT sztómazáródásra gyakorolt hatásainak fény- és ET-függése

Az előző alfejezetben leírt megfigyeléseink során igazoltuk, hogy a CHT hatása alapvetően függ attól, hogy a kezelések mely napszakban történtek, viszont a mesterséges sötét környezetben vagy fényben tartott növényeknél szintén jelentős különbségeket tapasztaltunk a védekezési válaszok indukciójában, ami azok közvetlen, fény általi regulációját feltételezi. Ebből kifolyólag további kísérleteink során a CHT-indukálta gyors védekezési válaszok ET-függése mellett azok cirkadián órától független, direkt fény általi regulációjának tanulmányozására fókuszáltunk (II. kísérleti elrendezés).

Eredményeink alapján a CHT rövid időn belül, mindössze 30 perc vagy 1 óra alatt szignifikánsan csökkentette fényben a VT növények sztómaapertúrájának méretét. A CHT hatása azonban nem kizárólag a kezelt levélemeletekre terjedt ki, hanem az azoktól disztálisan elhelyezkedő, szisztémikus levelekben is detektálható volt. Fény hiányában ezen lokális és szisztémikus sztómaválaszok szintén megfigyelhetők voltak a VT növények esetében, ugyanakkor az ET inszenzitív *Nr* mutánsokban a CHT nem volt képes a sztómazáródás kiváltására (15. ábra).

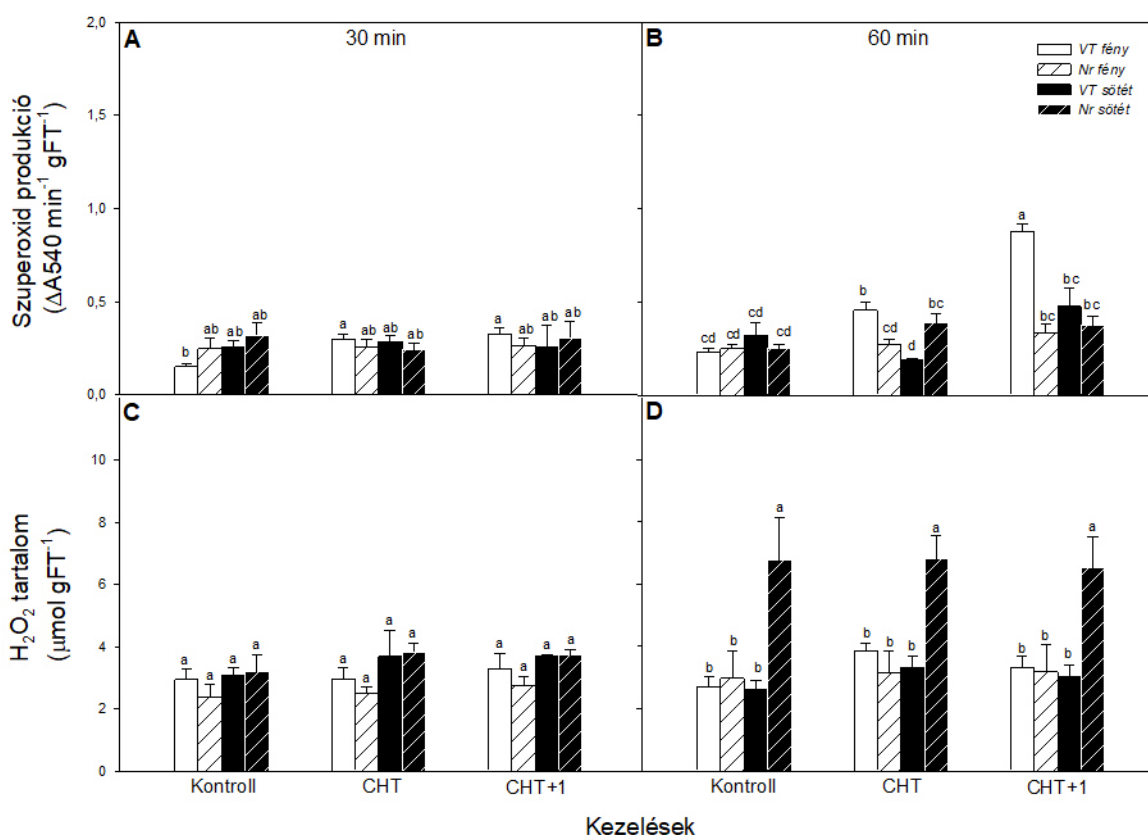


15. ábra: A sztómaapertúra méretének változása intakt vad típusú (VT, sima oszlopok) és ET inszenzitív, *Never ripe* (*Nr*) mutáns (sávozott oszlopok) paradicsom növények abaxiális levélfelszínéről készített epidermisz-nyúzatokon, a reggel (8:00) történő kitozán (CHT) kezeléseket követően párhuzamosan fényben (fehér oszlopok) vagy sötétben (fekete oszlopok) tartott növényekben, 30 perc (8:30, **A**) vagy 60 perc (9:00, **B**) elteltével (Átlag±SE, n=3). A kontrolltól való szignifikáns különbségeket egyutas ANOVA varianciaanalízist követően Duncan-féle teszttel állapítottuk meg, ahol a különböző betűvel jelzett oszlopok $P \leq 0,05$ valószínűségi szinteken, szignifikánsan különböznek egymástól. (Kontroll: 1 mM AA puffer; CHT: 100 µg ml⁻¹ kitozánt tartalmazó 1 mM AA puffer; CHT+1: a CHT-kezelt levelektől disztálisan elhelyezkedő, kezeletlen levélemelet).

5.2.2. A ROS produkció fény- és ET-függő változása a CHT kezeléseket követően

Vizsgálataink során azt tapasztaltuk, hogy a O_2^- szintje mindössze kismértékben, a CHT alkalmazását követően 30 perccel emelkedett meg a VT növények kezelt levélemeleteiben (16. ábra, A). Ugyanakkor 1 óra múlva ez tovább fokozódott a szisztémikus levelekben is, mely tendencia azonban sokkal erőteljesebb volt fényben a mesterséges sötét környezetben tartott növényekhez viszonyítva, melyek lokális leveleiben a disztális levélemeletekhez képest kismértékű O_2^- tartalom csökkenés volt tapasztalható a CHT kezelést követően. A VT növényekkel szemben, a *Nr* mutánsokban viszont a CHT kezelés nem befolyásolta szignifikánsan a O_2^- produkciót (16. ábra, B).

A H_2O_2 termelődése azonban sem a VT, sem a *Nr* növényekben nem mutatott szignifikáns változást a lokális vagy szisztémikus levelekben, a CHT kezeléseket követő 30 vagy 60 perc elteltével (16. ábra, C, D). A sötétben tartott *Nr* növények leveleinek H_2O_2 tartalmában azonban jelentős növekedés volt megfigyelhető 60 perc elteltével, melyet sem a CHT kezelés, sem a levélemelet nem befolyásolt (16. ábra, D).

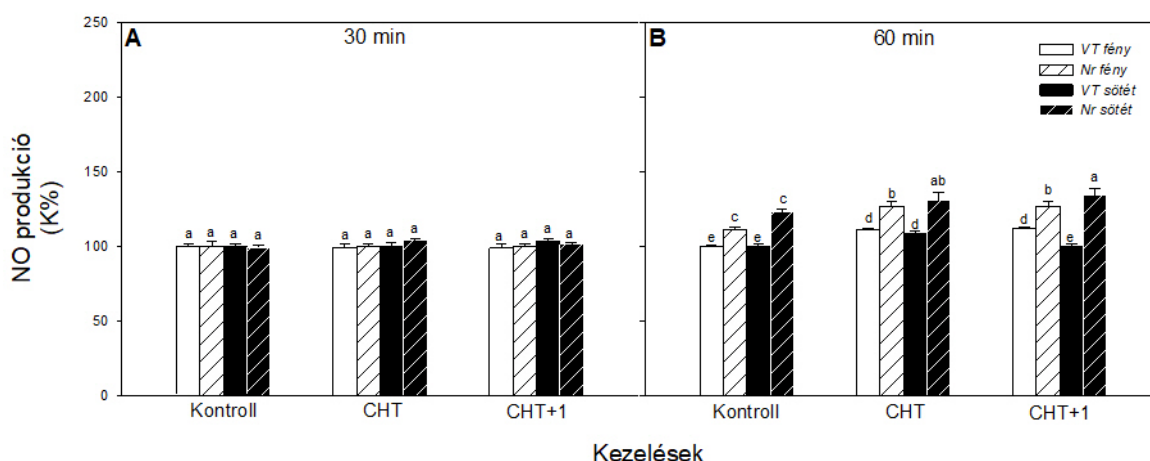


16. ábra: A O_2^- (A, B) és a H_2O_2 (C, D) tartalom változása intakt vad típusú (VT, sima oszlopok) és ET inszenzitív, *Never ripe* (*Nr*) mutáns (sávozott oszlopok) paradicsom növények leveleiben, a reggel (8:00) történő kitozán (CHT) kezeléseket követően párhuzamosan fényben (fehér

oszlopok) vagy sötétben (fekete oszlopok) tartott növényekben, 30 perc (8:30, A, C) vagy 60 perc (9:00, B, D) elteltével (Átlag \pm SE, n=3). A kontrolltól való szignifikáns különbségeket egyutas ANOVA varianciaanalízist követően Duncan-féle teszttel állapítottuk meg, ahol a különböző betűvel jelzett oszlopok $P \leq 0,05$ valószínűségi szinteken, szignifikánsan különböznek egymástól. (Kontroll: 1 mM AA puffer; CHT: 100 $\mu\text{g ml}^{-1}$ kitozánt tartalmazó 1 mM AA puffer; CHT+1: a CHT-kezelt levelektől disztálisan elhelyezkedő, kezeletlen levélemelet).

5.2.3. A NO termelődésének fény- és ET-függő változása a CHT kezeléseket követően

A ROS mellett a NO produkcióját szintén meghatároztuk. A CHT 30 percen belül egyik genotípusban sem váltott ki szignifikáns változást a NO produkciójában (17. ábra, A), viszont 1 óra elteltével szignifikánsan fokozta annak akkumulációját a VT és *Nr* mutáns növények lokális és szisztémikus leveleiben, fényben és sötétben egyaránt, mely mindössze a sötétben tartott VT növények disztális leveleiben maradt el (17. ábra, B).

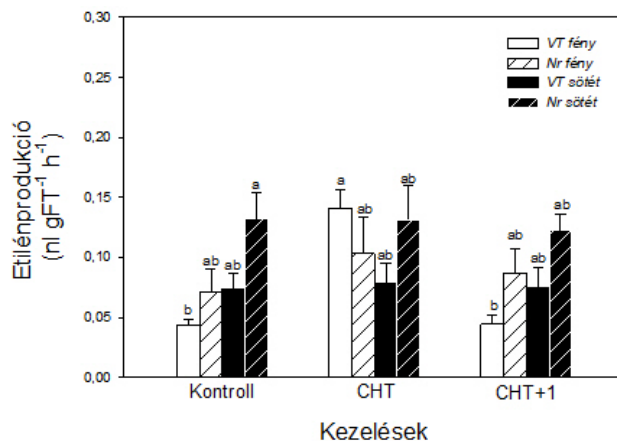


17. ábra: A NO tartalom változása (DAF-FM DA fluoreszcencia) intakt vad típusú (VT, sima oszlopok) és ET inszenzitív, *Never ripe* (*Nr*) mutáns (sávozott oszlopok) paradicsom növények leveleiben (kontroll%-ban kifejezve), a reggel (8:00) történő kitozán (CHT) kezeléseket követően párhuzamosan fényben (fehér oszlopok) vagy sötétben (fekete oszlopok) tartott növényekben, 30 perc (8:30, A) vagy 60 perc (9:00, B) elteltével (Átlag \pm SE, n=3). A kontrolltól való szignifikáns különbségeket egyutas ANOVA varianciaanalízist követően Duncan-féle teszttel állapítottuk meg, ahol a különböző betűvel jelzett oszlopok $P \leq 0,05$ valószínűségi szinteken, szignifikánsan különböznek egymástól. (Kontroll: 1 mM AA puffer; CHT: 100 $\mu\text{g ml}^{-1}$ kitozánt tartalmazó 1 mM AA puffer; CHT+1: a CHT-kezelt levelektől disztálisan elhelyezkedő, kezeletlen levélemelet).

5.2.4. Az ET jelátvitel és a fény szerepe a CHT-indukálta ET produkcióban

A CHT-indukálta védekezési válaszok hormonális regulációjának tanulmányozása érdekében az elicitor kezeléseket követően megvizsgáltuk a levelek által kibocsátott ET mennyiségét. Míg a CHT a VT növényekben, fényben 1 óra alatt lokális ET emissziót

indukált, addig a sötétben tartott növényekben nem volt megfigyelhető ez a változás. Szisztémikus ET produkció egyik vizsgált genotípusban sem jelentkezett a CHT kezelések hatására (18. ábra).

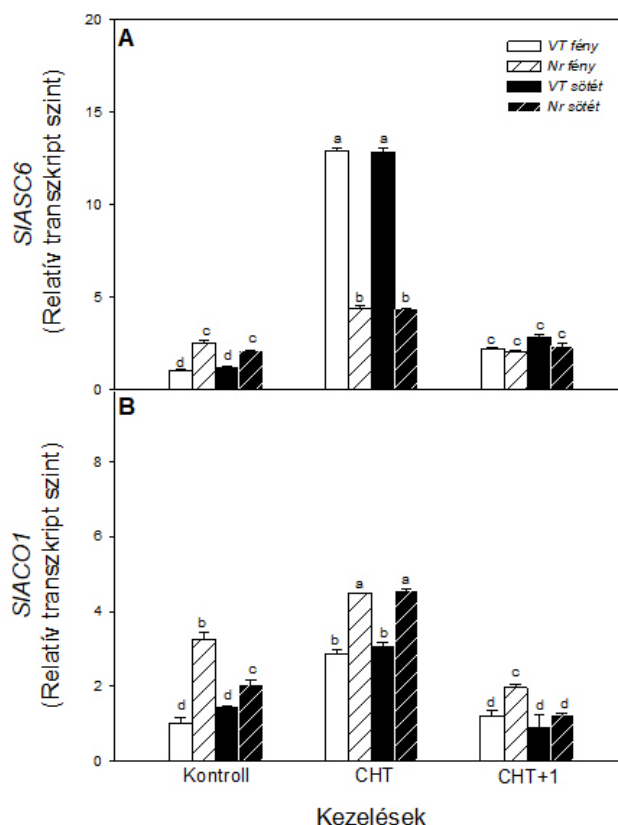


18. ábra: Az etilén (ET) tartalom változása intakt vad típusú (VT, sima oszlopok) és ET inszenzitív, *Never ripe* (*Nr*) mutáns (sávozott oszlopok) paradicsom növények leveleiben, a reggel (8:00) történő kitozán (CHT) kezeléseket követően párhuzamosan fényben (fehér oszlopok) vagy sötétben (fekete oszlopok) tartott növényeken, 1 óra elteltével (9:00) (Átlag±SE, n=3). A kontrolltól való szignifikáns különbségeket egyutas ANOVA varianciaanalízist követően Duncan-féle teszttel állapítottuk meg, ahol a különböző betűvel jelzett oszlopok $P \leq 0,05$ valószínűségi szinteken, szignifikánsan különböznek egymástól. (Kontroll: 1 mM AA puffer; CHT: 100 $\mu\text{g ml}^{-1}$ kitozánt tartalmazó 1 mM AA puffer; CHT+1: a CHT-kezelt levelektől disztálisan elhelyezkedő, kezeltetlen levélemelet).

5.2.5. Az ET jelátvitel és a fény szerepe a CHT hatására indukálódó ET bioszintézis gének expressziójában

A CHT hatására indukálódó ET produkciót génexpressziós szinten is megvizsgáltuk, az ET bioszintézisében szerepet játszó *SIACS6* és *SIACO1* kifejeződésének analízisével. A CHT kezelések hatására a VT növényekben szignifikánsan fokozódott az *SIACS6* expressziója lokálisan, a fény jelenlététől függetlenül, viszont a szisztémikus levelekben mindössze kismértékű indukció volt tapasztalható. Az *SIACS6* relatív transzkript szintje az ET inszenzitív mutánsokban is szignifikáns növekedést mutatott a kezelt levélemeletekben mind fényben és sötétben, azonban a VT növényekhez képest lényegesen alacsonyabb mértékben (19. ábra, A).

A CHT kezelések ugyancsak szignifikánsan fokozták az *SIACO1* lokális kifejeződését a VT és *Nr* növények leveleiben, fényben és sötétben egyaránt, azonban a VT növények disztális leveleiben ez nem változott, míg a *Nr* mutánsokban lényegesen csökkent az *SIACO1* relatív transzkript akkumulációja (19. ábra, B).

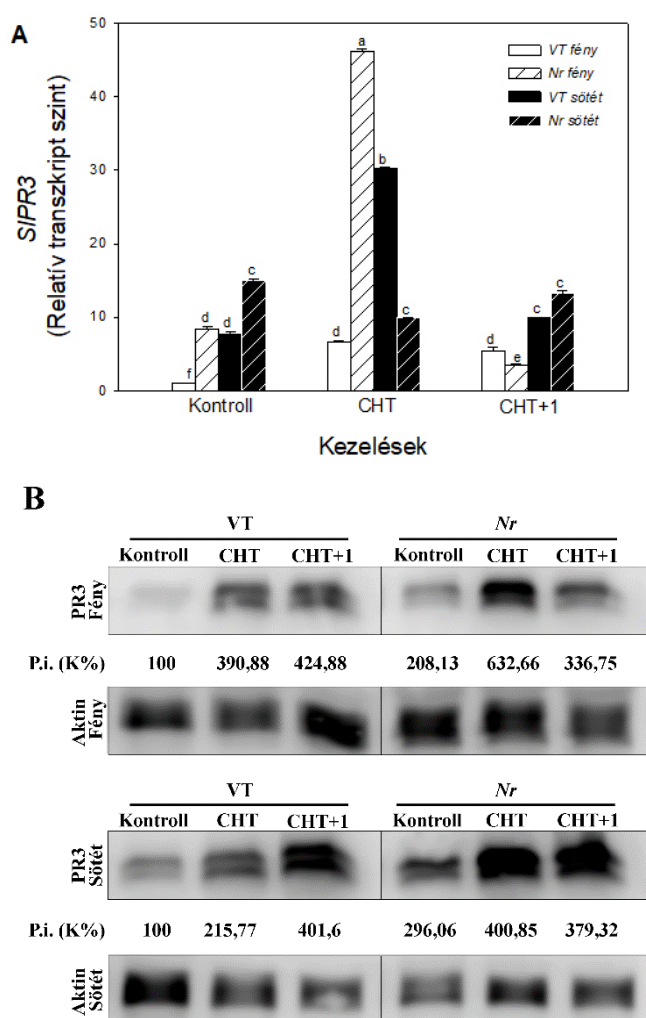


19. ábra: Az *SIACS6* (A) és az *SIACO1* (B) relatív transzkript szintjének változása intakt vad típusú (VT, sima oszlopok) és ET inszenzitív, *Never ripe* (*Nr*) mutáns (sávozott oszlopok) paradicsom növények leveleiben, a reggel (8:00) történő kitozán (CHT) kezeléseket követően párhuzamosan fényben (fehér oszlopok) vagy sötétben (fekete oszlopok) tartott növényekben, 1 óra elteltével (9:00) (Átlag±SE, n=3). A kontrolltól való szignifikáns különbségeket egyutas ANOVA varianciaanalízist követően Duncan-féle teszttel állapítottuk meg, ahol a különböző betűvel jelzett oszlopok $P \leq 0,05$ valószínűségi szinteken, szignifikánsan különböznek egymástól. (Kontroll: 1 mM AA puffer; CHT: 100 $\mu\text{g ml}^{-1}$ kitozánt tartalmazó 1 mM AA puffer; CHT+1: a CHT-kezelt levelektől disztálisan elhelyezkedő, kezeletlen levélemelet).

5.2.6. A CHT kitináz enzimek expressziójára és aktivitására gyakorolt hatásának fény- és ET-függése

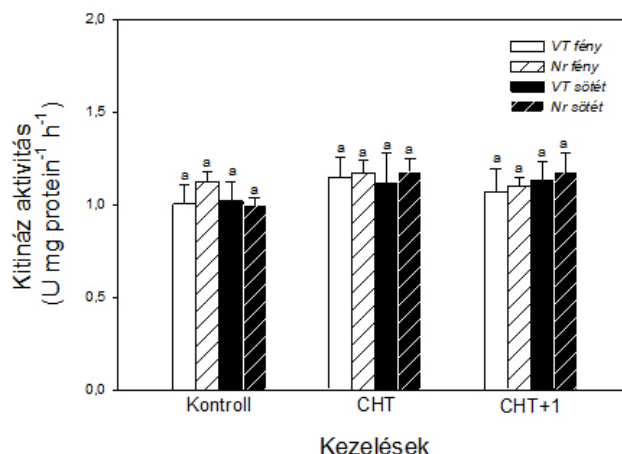
A gombafertőzés hatására indukálódó növényi immunválaszok általános jellemzője a különböző PR proteinek fokozott akkumulációja, melyek között kiemelt jelentőséggel bírnak a gomba sejtfal lebontásáért felelős, *PR3* gén által kódolt kitináz enzimek. Munkánk során a CHT kitináz enzimekre gyakorolt indukciós hatását az *SIPR3* expressziós mintázatának, valamint a *PR3* fehérje mennyiségének monitorozásával tanulmányoztuk a reggel 8 órakor történő kezeléseket követően, egy óra elteltével. A gomba elicitor mind lokálisan, mind szisztemikusan szignifikánsan megnövelte a VT növények leveleiben az *SIPR3* expresszióját, mely a *PR3* fehérje mennyiségének változásaival szoros korrelációt mutatott. A CHT által kiváltott *SIPR3* és *PR3* indukció a sötétben tartott növényekben is

megfigyelhető volt, sőt, sokkal szignifikánsabb hatásúnak bizonyult. A *Nr* mutánsokban a kitinázok expressziója gén- és fehérjeszinten alapvetően magasabb volt a VT növényekhez viszonyítva, a fény jelenlététől függetlenül. A CHT azonban kizárólag fényben, a lokális levelekben fokozta az ET receptor mutánsokban az *SIPR3* expresszióját, míg ez a disztális levelekben csökkent (20. ábra, A). A PR3 azonban jelentős mértékben akkumulálódott a fényben és a sötétben tartott mutáns növények lokális és szisztémikus leveleiben egyaránt, a CHT kezeléseket követően (20. ábra, B).



20. ábra: Az *SIPR3* relatív transzkript szintjének (A) és a PR3 fehérje mennyiségének (B) változása intakt vad típusú (VT, sima oszlopok) és ET inszenzitív, *Never ripe* (*Nr*) mutáns (sávozott oszlopok) paradicsom növények leveleiben, a reggel (8:00) történő kitozán (CHT) kezeléseket követően párhuzamosan fényben (fehér oszlopok) vagy sötétben (fekete oszlopok) tartott növényekben, 1 óra elteltével (9:00) (Átlag±SE, n=3). A kontrolltól való szignifikáns különbségeket egyutas ANOVA varianciaanalízist követően Duncan-féle teszttel állapítottuk meg, ahol a különböző betűvel jelzett oszlopok $P \leq 0,05$ valószínűségi szinteken, szignifikánsan különböznek egymástól. A pixel intenzitást (P.i.) kontroll%-ban (K%) fejeztük ki. (Kontroll: 1 mM AA puffer; CHT: 100 $\mu\text{g ml}^{-1}$ kitozánt tartalmazó 1 mM AA puffer; CHT+1: a CHT-kezelt levelektől disztálisan elhelyezkedő, kezeletlen levélemelet).

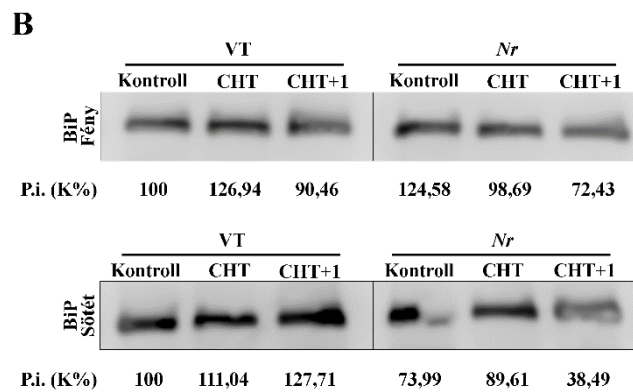
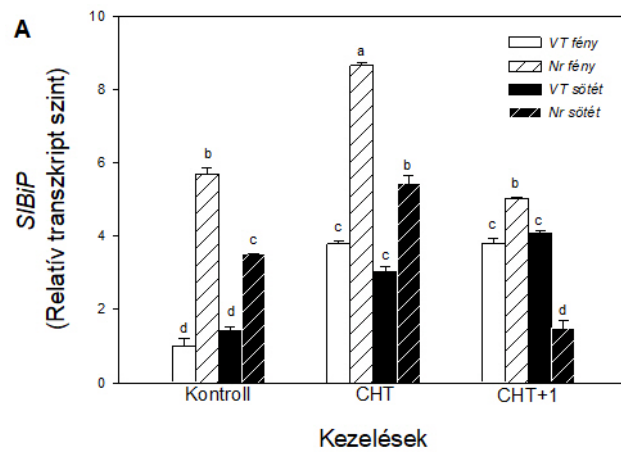
Mivel a CHT kezelések mindössze 1 órán belül fokozták a kitináz kódoló *SlPR3* expresszióját (20. ábra, A), valamint a PR3 akkumulációt (20. ábra, B), megvizsgáltuk, hogyan változik a kitináz aktivitása a gomba elicitor kezeléseket követően, azonban az enzimaktivitás szintjén egyik genotípusban sem történt szignifikáns változás a CHT kezeléseket követően a vizsgált 1 órás időintervallumon belül (21. ábra).



21. ábra: A kitináz aktivitásának változása intakt vad típusú (VT, sima oszlopok) és ET inszenzitív, *Never ripe* (*Nr*) mutáns (sávozott oszlopok) paradicsom növények leveleiben, a reggel (8:00) történő kitozán (CHT) kezeléseket követően párhuzamosan fényben (fehér oszlopok) vagy sötétben (fekete oszlopok) tartott növényekben, 1 óra elteltével (9:00) (Átlag±SE, n=3). A kontrolltól való szignifikáns különbségeket egyutas ANOVA varianciaanalízist követően Duncan-féle teszttel állapítottuk meg, ahol a különböző betűvel jelzett oszlopok $P \leq 0,05$ valószínűségi szinteken, szignifikánsan különböznek egymástól. (Kontroll: 1 mM AA puffer; CHT: 100 $\mu\text{g ml}^{-1}$ kitozánt tartalmazó 1 mM AA puffer; CHT+1: a CHT-kezelt levelektől disztálisan elhelyezkedő, kezeletlen levélemelet).

5.2.7. A CHT által indukált UPR fény-, valamint ET-függése

A védekezésben szerepet játszó fehérjék fokozott szintézise szükségszerűen igényli bizonyos ER-lokalizált chaperon proteinek akkumulációját, melyek segítik az újonnan szintetizálódó fehérjék negyedleges térszerkezetének kialakulását. Kísérleteink során a CHT által generált UPR-t az *SlBiP* relatív transzkript szintjének monitorozása mellett Western blot analízissel, a BiP proteinek akkumulációjának vizsgálatával is igazoltuk. Az ET inszenzitív *Nr* mutánsokban az *SlBiP* expressziója alapvetően magasabbnak bizonyult a VT növényekhez képest. A CHT a fény jelenlététől függetlenül, szignifikáns *SlBiP* transzkript akkumulációt indukált mindkét genotípusban, azonban ez az expressziós növekedés kizárólag a VT növényekben volt lokálisan és az egész növényre kiterjedően, szisztémikusan is megfigyelhető. A sötétben tartott *Nr* növények szisztémikus leveleiben jelentős mértékben csökkent az *SlBiP* kifejeződése. A BiP fehérjeszintjében jelentkező változások alapvetően hasonló tendenciát mutattak a génexpressziós eredményekkel (22. ábra).



22. ábra: Az *SlBiP* relatív transzkript szintjének (**A**) és a BiP fehérje mennyiségének (**B**) változása intakt vad típusú (VT, sima oszlopok) és ET inszenzitív, *Never ripe* (*Nr*) mutáns (sávozott oszlopok) paradicsom növények leveleiben, a reggel (8:00) történő kitozán (CHT) kezeléseket követően párhuzamosan fényben (fehér oszlopok) vagy sötétben (fekete oszlopok) tartott növényekben, 1 óra elteltével (9:00) (Átlag±SE, n=3). A kontrolltól való szignifikáns különbségeket egyutas ANOVA varianciaanalízist követően Duncan-féle teszttel állapítottuk meg, ahol a különböző betűvel jelzett oszlopok $P \leq 0,05$ valószínűségi szinteken, szignifikánsan különböznek egymástól. A pixel intenzitást (P.i.) kontroll%-ban (K%) fejeztük ki. (Kontroll: 1 mM AA puffer; CHT: 100 $\mu\text{g ml}^{-1}$ kitozánt tartalmazó 1 mM AA puffer; CHT+1: a CHT-kezelt levelektől disztálisan elhelyezkedő, kezeletlen levélemelet).

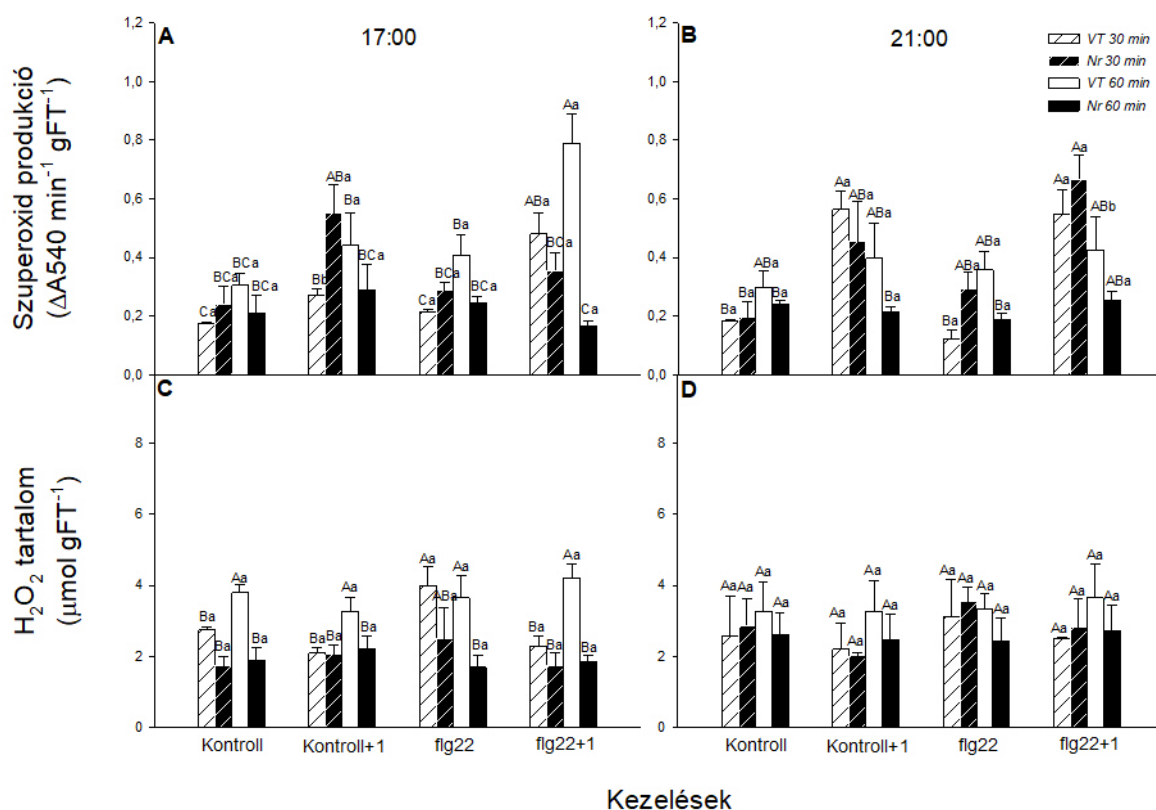
5.3. A flg22 által indukált gyors napszakfüggő lokális és szisztémikus védekezési válaszok ET-általi regulációja intakt paradicsom növényekben

5.3.1. A flg22-indukálta ROS produkció napszak- és ET-függése

A gomba eredetű CHT vizsgálatát követően további kísérleteink során a bakteriális flg22 elicitor által kiváltott lokális és szisztémikus védekezési válaszok napszak-, valamint ET-függését tanulmányoztuk intakt paradicsom növények leveleiben. Mivel a fény és sötétség növényi immunválaszokra gyakorolt, közvetlen hatását nehéz elkülöníteni azok endogén, cirkadián óra általi regulációjától, a flg22 kezeléseket két, egymáshoz közel eső napszakban, a fényszakasz végén, 17 órakor, valamint a sötétszakasz kezdetén, 21 órakor végeztük el, melyeket követően a gyors védekezési válaszok aktivációját 30 perc múlva (17:30, 21:30) vagy 60 perc elteltével (18:00, 22:00) detektáltuk (III. kísérleti elrendezés).

Elsőként megvizsgáltuk flg22 ET-függő hatását a ROS produkciójára, intakt VT és *Nr* növények leveleiben. Mivel a ROS akkumuláció az egyik első, leggyorsabban aktiválódó védekezési válasz patogénfertőzés során, a különböző napszakokban történő flg22 kezeléseket követően a lokális és szisztémikus levelek H_2O_2 , valamint O_2^- szintjeinek meghatározását 30, illetve 60 perc múlva is elvégeztük. Míg a flg22 a fényszakasz végén alkalmazva (17:00) mindössze kismértékű, lokális O_2^- akkumulációt váltott ki a VT növényekben a vizsgált mintavételi időpontokban, a szisztémikus levelekben egy óra múlva szignifikáns O_2^- szint-növekedés volt tapasztalható (23. ábra, A). Ugyanakkor a O_2^- produkció mind az este (21:00) történő flg22 kezeléseket követően, mind pedig az ET inszenzitív mutánsokban elmaradt (23. ábra, A, B), megerősítve a O_2^- termelődésének ET-, valamint napszakfüggését.

A H_2O_2 koncentrációja alapvetően alacsonyabbnak bizonyult a *Nr* mutánsok leveleiben, a VT növényekhez viszonyítva (23. ábra, C, D). A flg22 fokozott H_2O_2 akkumulációt indukált 30 perccel a kezelés után a VT növények leveleiben, ez azonban 1 óra múlva már nem bizonyult szignifikánsnak (23. ábra, C). A H_2O_2 mennyisége ugyanakkor nem nőtt meg jelentősen a *Nr* mutánsokban, a sötétszakaszban (21:00) történő kezeléseket követően pedig a VT növények leveleiben sem (23. ábra, C, D).

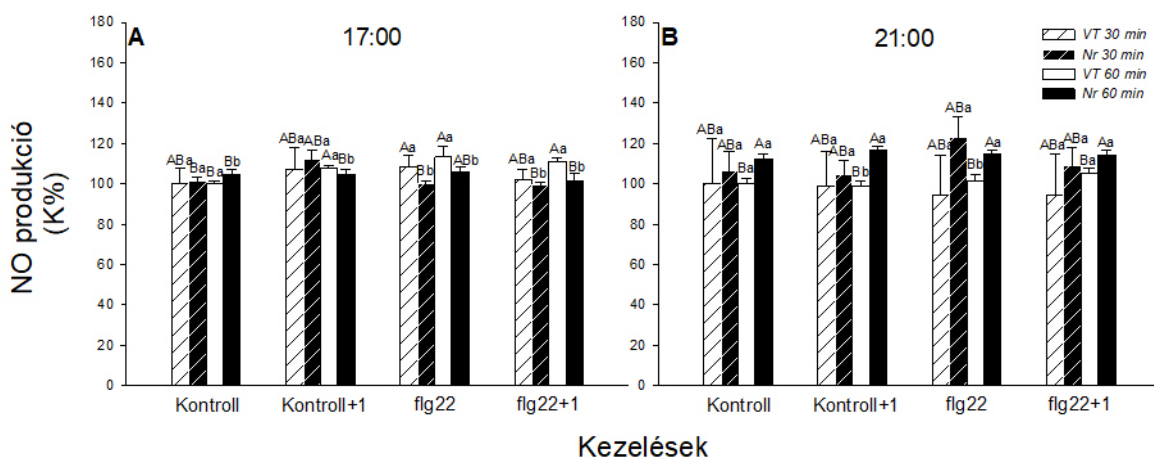


23. ábra: A O_2^- (A, B) és a H_2O_2 (C, D) tartalom változása intakt vad típusú (VT, fehér oszlopok) és ET inszenzitív, *Never ripe* (*Nr*) mutáns (fekete oszlopok) paradicsom növények leveleiben, a fényszakasz végén (17:00, A, C) és a sötétszakasz kezdetén (21:00, B, D) történő flagellin22 (*flg22*) kezeléseket követően, 30 perc (17:30, 21:30, sávozott oszlopok) vagy 60 perc (18:00, 22:00, üres oszlopok) elteltével (Átlag \pm SE, $n=3$). A kontrolltól való szignifikáns különbségeket kétutas ANOVA varianciaanalízist követően Duncan-féle teszttel állapítottuk meg, ahol a különböző betűvel jelzett oszlopok $P \leq 0,05$ valószínűségi szinteken, szignifikánsan különböznek egymástól. A nagybetűs jelölés ugyanazon napszakban a különböző kezelések, míg a kisbetűs nomenklatura ugyanazon kezelés különböző napszakokban kiváltott hatásainak összehasonlítását reprezentálja. (Kontroll: steril desztillált víz; Kontroll+1: a kontroll levelektől disztálisan elhelyezkedő kezeletlen levélemelet; *flg22*: 5 $\mu g\ ml^{-1}$ flagellin22 steril desztillált vízben oldva; *flg22*+1: a *flg22*-kezelt levelektől disztálisan elhelyezkedő kezeletlen, szisztémikus levélemelet).

5.3.2. A *flg22*-indukálta NO produkció napszak- és ET-függése

A ROS mellett a növényi védekezési válaszok szignalizációjában szintén esszenciális szerepet játszó NO produkcióját is meghatároztuk a *flg22* kezeléseket követően. Míg a NO mennyisége a fényszakasz végén (17:00) történő *flg22* kezeléseket követően 30 perc alatt nem változott szignifikánsan a VT növényekben, 60 perc múlva már jelentős NO akkumuláció volt megfigyelhető a lokális, valamint szisztémikus levelekben egyaránt, viszont a disztális levélemeletekben alapvetően magasabb volt a NO szintje a kontroll levelekhez viszonyítva (24. ábra, A). Habár a *Nr* mutánsok leveleiben a NO mennyisége a VT növényekhez képest kontroll körülmények közt is magasabb volt, a *flg22* nem

befolyásolta azt szignifikánsan (24. ábra). Az esti (21:00) flg22 kezelések azonban a VT növényekben sem indukáltak szignifikáns NO produktiót (24. ábra, B).



24. ábra: A NO tartalom változása (DAF-FM DA fluoreszcencia) intakt vad típusú (VT, fehér oszlopok) és ET inszenzitív, *Never ripe* (*Nr*) mutáns (fekete oszlopok) paradicsom növények leveleiben (kontroll%-ban kifejezve), a fényszakasz végén (17:00, A) és a sötétszakasz kezdetén (21:00, B) történő flagellin22 (flg22) kezeléseket követően, 30 perc (17:30, 21:30, sávozott oszlopok) vagy 60 perc (18:00, 22:00, üres oszlopok) elteltével (Átlag±SE, n=3). A kontrolltól való szignifikáns különbségeket kétutas ANOVA varianciaanalízist követően Duncan-féle teszttel állapítottuk meg, ahol a különböző betűvel jelzett oszlopok $P \leq 0,05$ valószínűségi szinteken, szignifikánsan különböznek egymástól. A nagybetűs jelölés ugyanazon napszakban a különböző kezelések, míg a kisbetűs nomenklatura ugyanazon kezelés különböző napszakokban kiváltott hatásainak összehasonlítását reprezentálja. (Kontroll: steril desztillált víz; Kontroll+1: a kontroll levelektől disztálisan elhelyezkedő kezeletlen levélemelet; flg22: 5 $\mu\text{g ml}^{-1}$ flagellin22 steril desztillált vízben oldva; flg22+1: a flg22-kezelt levelektől disztálisan elhelyezkedő kezeletlen, szisztemikus levélemelet).

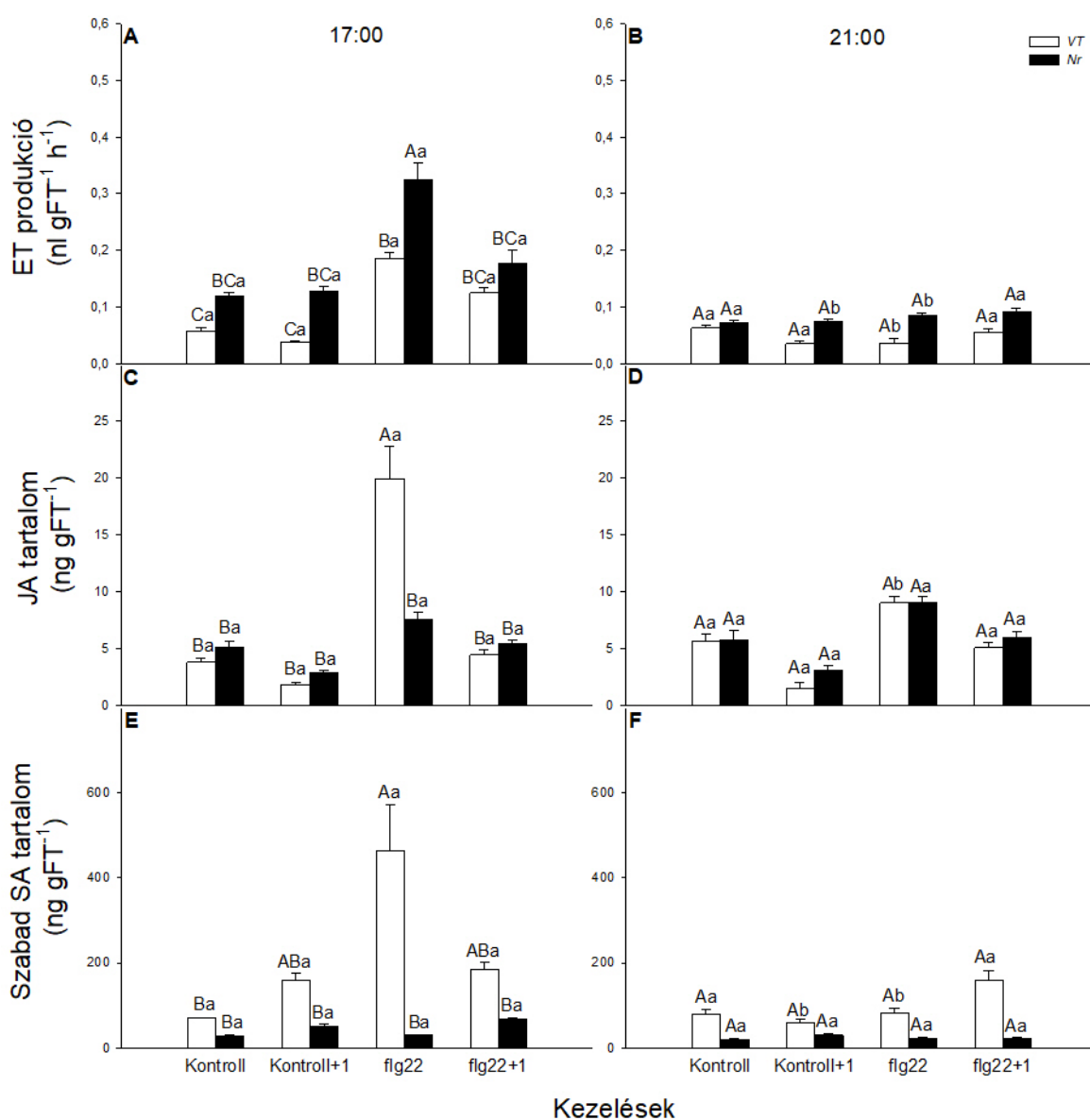
5.3.3. Az ET, JA és SA flg22 által indukált, lokális és szisztemikus akkumulációjának változása különböző napszakokban és annak ET-függése

A növényi védekezési válaszok indukciója alapvetően hormonális szabályozás alatt áll. További kísérleteink során a bakteriális elicitor kezeléseket követően meghatároztuk az ET, a JA, valamint a SA szintjeinek változását VT, valamint *Nr* növények leveleiben. A flg22 az intakt VT, valamint *Nr* paradicsom növények kezelt leveleiben egyaránt szignifikáns ET emissziót indukált a fényszakasz végén (17:00) történő kezeléseket követően (25. ábra, A). Érdekes módon azonban a gáz halmazállapotú fitohormon akkumulációja nem fokozódott szignifikánsan a sötétszakaszban (21:00) kezelt növényekben (25. ábra, B).

Hasonló változásokat figyeltünk meg a JA tartalom vizsgálata során, mely a 17 órákor kezelt VT növények levelében szignifikánsan növekedett lokálisan (25. ábra, C),

viszont a fényszakaszban kezelt *Nr* növényekben, valamint a 21 órakor történő flg22 kezeléseket követően egyik genotípusban sem fokozódott a produkciója (25. ábra, C, D).

A SA mennyisége kontroll körülmények között magasabb volt a fényszakasz végén (17:00) kezelt VT növények disztális leveleiben, azonban a bakteriális elicitor kizárólag lokálisan indukálta a SA akkumulációját ezen időpontban (25. ábra, E). Ezzel szemben a sötétszakasz kezdetén (21:00) történő flg22 kezelések egyik genotípusban sem befolyásolták szignifikánsan a SA mennyiségét (25. ábra, F). A *Nr* mutánsok leveleinek SA tartalma alapvetően alacsonyabb volt a VT növényekhez képest, ugyanakkor a flg22 kezelések egyik vizsgált időpontban sem befolyásolták azt szignifikánsan (25. ábra, E, F).



25. ábra: Az ET (A, B) emisszió, valamint a JA (C, D) és a szabad SA (E, F) tartalom változása intakt vad típusú (VT, fehér oszlopok) és ET inszenzitív, *Never ripe* (*Nr*) mutáns (fekete oszlopok) paradicsom növények leveleiben, a fényszakasz végén (17:00, A, C, E) és a sötétszakasz kezdetén

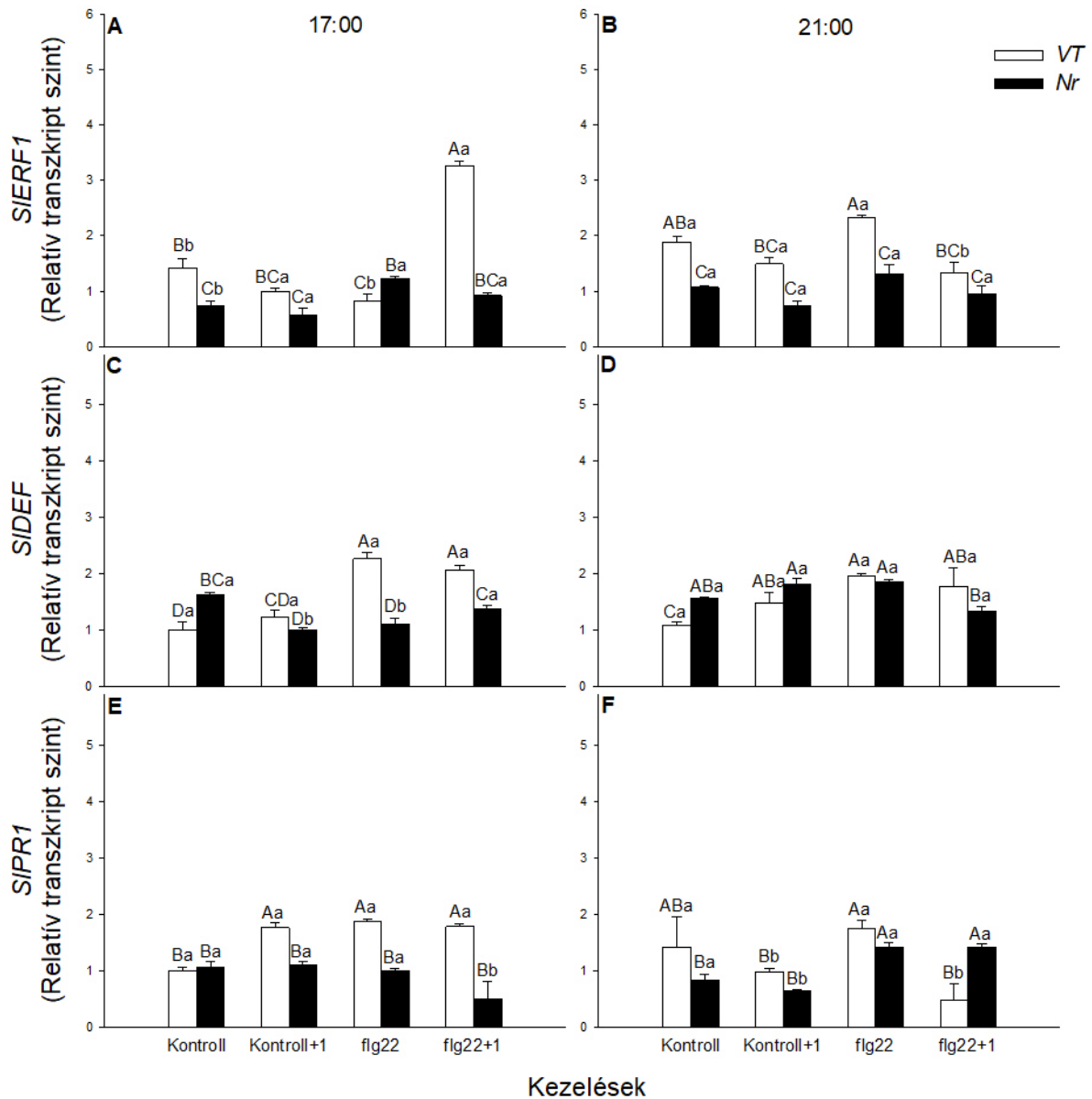
(21:00, B, D, F) történő flagellin22 (flg22) kezeléseket követően, 1 óra elteltével (18:00, 22:00) (Átlag \pm SE, n=5). A kontrolltól való szignifikáns különbségeket kétutas ANOVA varianciaanalízist követően Duncan-féle teszttel állapítottuk meg, ahol a különböző betűvel jelzett oszlopok $P \leq 0,05$ valószínűségi szinteken, szignifikánsan különböznek egymástól. A nagybetűs jelölés ugyanazon napszakban a különböző kezelések, míg a kisbetűs nómenklatúra ugyanazon kezelés különböző napszakokban kiváltott hatásainak összehasonlítását reprezentálja. (Kontroll: steril desztillált víz; Kontroll+1: a kontroll levelektől disztálisan elhelyezkedő kezeletlen levélemelet; flg22: 5 $\mu\text{g ml}^{-1}$ flagellin22 steril desztillált vízben oldva; flg22+1: a flg22-kezelt levelektől disztálisan elhelyezkedő kezeletlen, szisztémikus levélemelet).

5.3.4. Az *SIERF1*, *SIDEF* és *SIPRI* expressziójának ET- és napszakfüggő változása, flg22 kezelést követően

A különböző védelmi hormonok által indukált szignalizációs folyamatok elsősorban a hormonválasz gének expressziójának analízisével követhetők nyomon, melyek közül munkánk során az *SIERF1*, az *SIDEF* (defenzin), valamint az *SIPRI* kifejeződését tanulmányoztuk a lokális és szisztémikus levelekben a flg22 kezeléseket követően. A bakteriális elicitor a fényszakasz végén (17:00) alkalmazva 1 órán belül, szignifikánsan fokozta a VT növények disztális leveleiben az *SIERF1* expresszióját (26. ábra, A). Az *SIERF1* relatív transzkript szintje ugyanakkor nem változott szignifikánsan a 21 órakor történő kezeléseket követően sem a VT, sem a *Nr* mutáns növények leveleiben (26. ábra, B).

Ezzel szemben az *SIDEF* kifejeződése szignifikáns növekedést mutatott a VT növények lokális és szisztémikus leveleiben, attól függetlenül, hogy a flg22 kezelések mely napszakban történtek, hatásuk viszont erőteljesebbnek bizonyult a fényszakasz végén (17:00). Az *SIDEF* expressziója az ET inszenzitív mutánsokban azonban egyik vizsgált napszakban sem nőtt meg szignifikánsan a bakteriális elicitor kezeléseket követően (26. ábra, C, D).

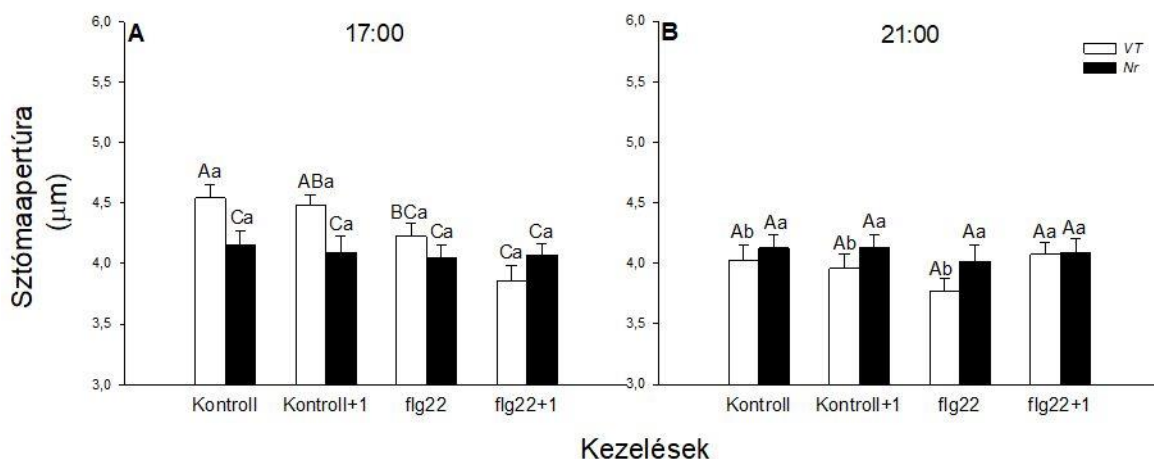
Az *SIDEF* expressziójához hasonlóan, a SA jelátvitelében szerepet játszó *SIPRI* transzkripcióját is szignifikánsan fokozta a flg22 a VT növényekben, azonban ez csak a fényszakasz végén (17:00) történő kezeléseket követően volt megfigyelhető (26. ábra, E). Érdekes módon a *Nr* mutánsok levelében a 21 órakor alkalmazott flg22 kezeléseket követően nőtt meg az *SIPRI* expressziója, mely a lokális és szisztémikus levelekben is kimutatható volt (26. ábra, F).



26. ábra: Az *SIERF1* (A, B), az *SDEF* (C, D) és az *SIPR1* (E, F) relatív transzkript szintjének változása intakt vad típusú (VT, fehér oszlopok) és ET inszenzitív, *Never ripe* (Nr) mutáns (fekete oszlopok) paradicsom növények leveleiben, a fényszakasz végén (17:00, A, C, E) és a sötétszakasz kezdetén (21:00, B, D, F) történő flagellin22 (flg22) kezeléseket követően, 1 óra elteltével (18:00, 22:00) (Átlag±SE, n=3). A kontrolltól való szignifikáns különbségeket kétutas ANOVA varianciaanalízist követően Duncan-féle teszttel állapítottuk meg, ahol a különböző betűvel jelzett oszlopok $P \leq 0,05$ valószínűségi szinteken, szignifikánsan különböznek egymástól. A nagybetűs jelölés ugyanazon napszakban a különböző kezelések, míg a kisbetűs nomenklátúra ugyanazon kezelés különböző napszakokban kiváltott hatásainak összehasonlítását reprezentálja. (Kontroll: steril desztillált víz; Kontroll+1: a kontroll levelektől disztálisan elhelyezkedő kezeletlen levélemelet; flg22: 5 $\mu\text{g ml}^{-1}$ flagellin22 steril desztillált vízben oldva; flg22+1: a flg22-kezelt levelektől disztálisan elhelyezkedő kezeletlen, szisztemikus levélemelet).

5.3.5. A flg22 sztómazáródásra gyakorolt hatásának ET- és napszakfüggése

A flg22 ET-, valamint napszakfüggő hatásait a növények fiziológiai válaszaira a sztómamozgás változásai alapján tanulmányoztuk. Míg a flg22 szignifikánsan csökkentette lokálisan a sztómaapertúra méretét a VT növények leveleiben a 17 órakor történő kezeléseket követően, a sötétszakaszban, 21 órakor alkalmazva nem befolyásolta azt jelentősen, ahol a napszaktól következően a kontroll növények sztómaapertúrájának mérete megegyezett a flg22-kezelt levelekével (27. ábra). A VT növényekben a flg22 sztómazáró hatása kiterjedt a szisztemikus levelekre is nappal (27. ábra, A), este viszont ez is elmaradt (27. ábra, B). A *Nr* mutánsok leveleiben azonban a flg22 a VT növényekkel ellentétben egyik vizsgált napszakban sem okozott sztómazáródást (27. ábra).



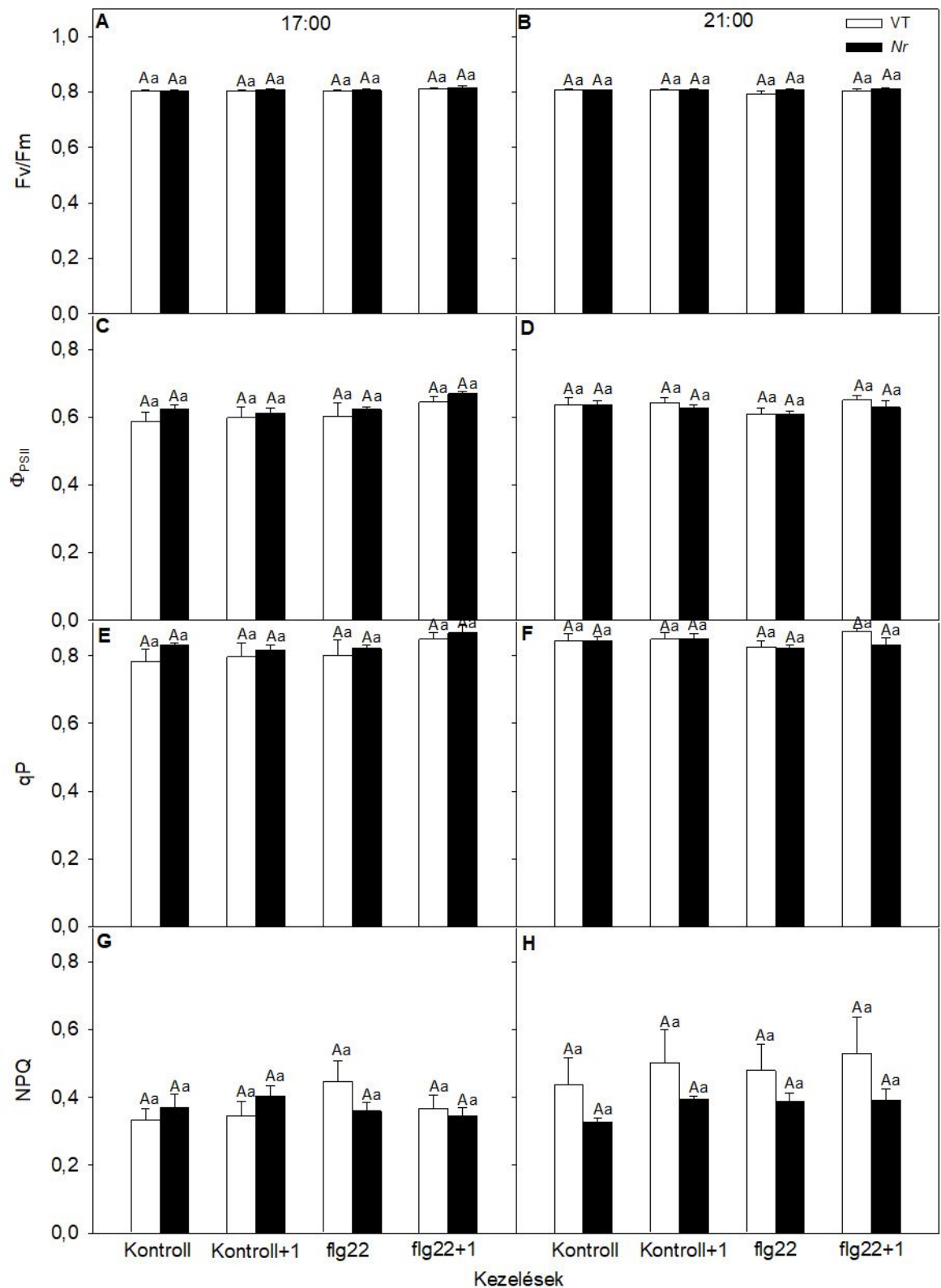
27. ábra: A sztómaapertúra méretének változása intakt vad típusú (VT, fehér oszlopok) és ET inszenzitív, *Never ripe* (*Nr*) mutáns (fekete oszlopok) paradicsom növények abaxiális levélfelszínéről készített epidermisz-nyúzatokon, a fényszakasz végén (17:00, A) és a sötétszakasz kezdetén (21:00, B) történő flagellin22 (flg22) kezeléseket követően, 1 óra elteltével (18:00, 22:00) (Átlag±SE, n=3). A kontrolltól való szignifikáns különbségeket kétutas ANOVA varianciaanalízist követően Duncan-féle teszttel állapítottuk meg, ahol a különböző betűvel jelzett oszlopok $P \leq 0,05$ valószínűségi szinteken, szignifikánsan különböznek egymástól. A nagybetűs jelölés ugyanazon napszakban a különböző kezelések, míg a kisbetűs nomenklatura ugyanazon kezelés különböző napszakokban kiváltott hatásainak összehasonlítását reprezentálja. (Kontroll: steril desztillált víz; Kontroll+1: a kontroll levelektől disztálisan elhelyezkedő kezeletlen levélemelet; flg22: 5 $\mu\text{g ml}^{-1}$ flagellin22 steril desztillált vízben oldva; flg22+1: a flg22-kezelt levelektől disztálisan elhelyezkedő kezeletlen, szisztemikus levélemelet).

5.4. A fotoszintetikus aktivitás szerepe a flg22 által indukált, napszak-, valamint ET-függő lokális és szisztémikus védekezési folyamatokban

5.4.1. A mezofillum sejtek fotoszintetikus aktivitásának ET-függő változása a különböző napszakokban alkalmazott flg22 kezeléseket követően

A flg22 kezelések napszak-, valamint ET-függő, hosszútávú lokális és szisztémikus hatásainak tanulmányozása érdekében a fényszakasz végén (17:00), valamint a sötétszakasz kezdetén (21:00) alkalmazott kezeléseket követően a védekezési válaszokat a következő fényszakasz elején (9:00) detektáltuk (IV. kísérleti elrendezés). Mivel a hosszútávú védekezési folyamatok szabályozásában fontos szerepet játszik a fotoszintézis, további kísérleteink során megvizsgáltuk a fotoszintetikus aktivitás változását intakt VT, valamint ET receptor mutáns *Nr* paradicsom növények leveleiben.

A mezofillum sejtek fotoszintetikus aktivitásának ET-, valamint napszakfüggő változásait a flg22 kezeléseket követően az intakt levelek klorofill fluoreszcencia indukciós paraméterei alapján határoztuk meg. Érdekes módon, a kezelések időpontjától, valamint a vizsgált genotípustól függetlenül, a flg22 kezelések nem befolyásolták szignifikánsan az F_v/F_m , Φ_{PSII} , qP , valamint NPQ paramétereket másnap reggel 9 órakor a levelekben (28. ábra).

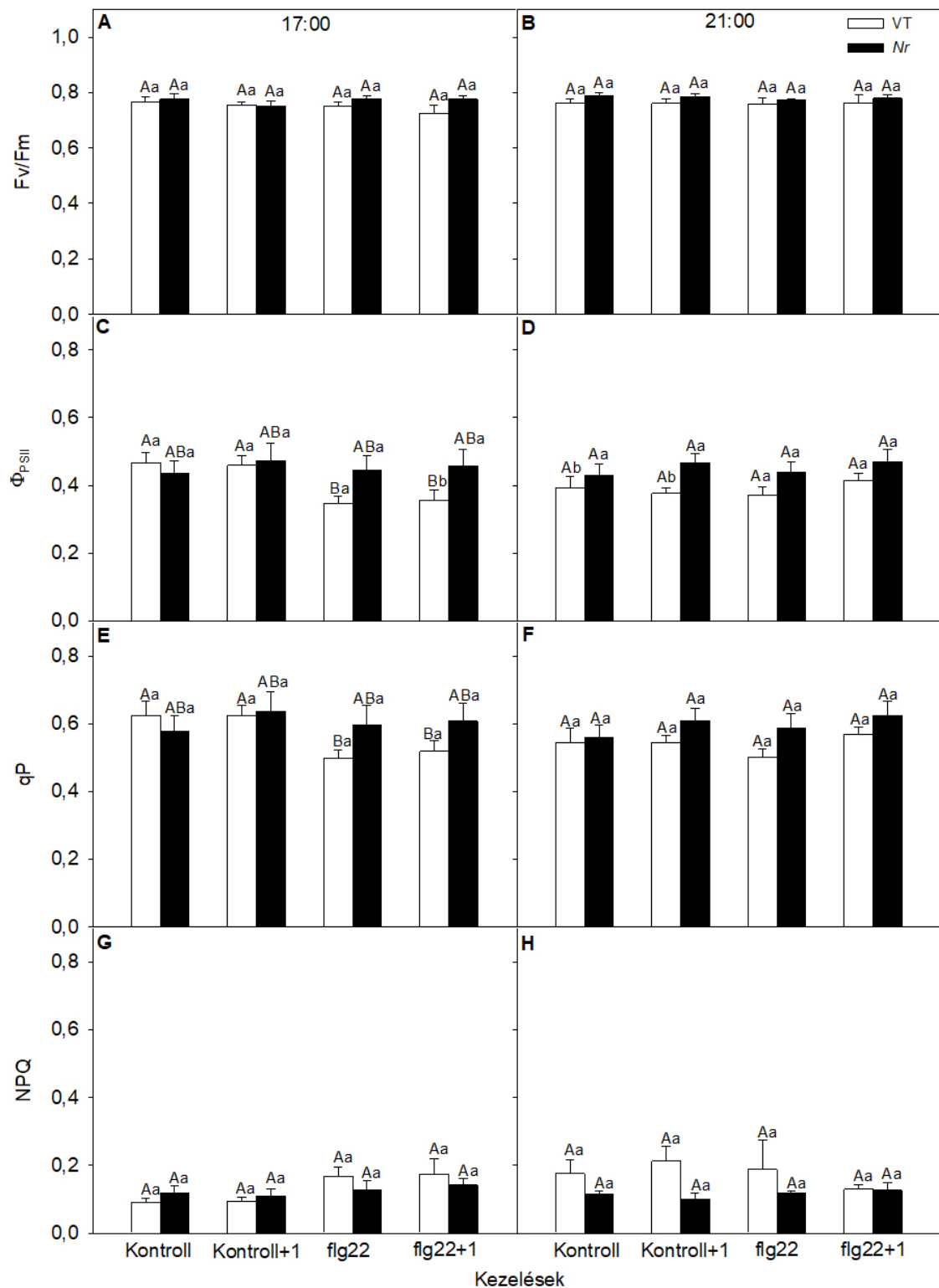


28. ábra: A klorofill fluoreszcencia indukciós paraméterek [F_v/F_m (A, B), Φ_{PSII} (C, D), qP (E, F), NPQ (G, H)] változása intakt vad típusú (VT, fehér oszlopok) és *Never ripe* (Nr) mutáns (fekete oszlopok) paradicsom növények leveleiben, a fényszakasz végén (17:00; A, C, E, G), valamint a sötétszakasz kezdetén (21:00; B, D, F, H) történő flagellin22 (flg22) kezeléseket követően, a következő fényszakaszban (9:00) nézve (Átlag \pm SE, $n=3$). A kontrolltól való szignifikáns különbségeket kétutas ANOVA varianciaanalízist követően Duncan-féle teszttel állapítottuk meg,

ahol a különböző betűvel jelzett oszlopok $P \leq 0,05$ valószínűségi szinteken, szignifikánsan különböznek egymástól. A nagybetűs jelölés ugyanazon napszakban a különböző kezelések, míg a kisbetűs nomenklatura ugyanazon kezelés különböző napszakokban kiváltott hatásainak összehasonlítását reprezentálja. (Kontroll: steril desztillált víz; Kontroll+1: a kontroll levelektől disztálisan elhelyezkedő kezeletlen levélemelet; flg22: $5 \mu\text{g ml}^{-1}$ flagellin22 steril desztillált vízben oldva; flg22+1: a flg22-kezelt levelektől disztálisan elhelyezkedő kezeletlen, szisztemikus levélemelet).

5.4.2. A zárósejtek fotoszintetikus aktivitásának ET-függő változása a különböző napszakokban alkalmazott flg22 kezeléseket követően

A mezofillum sejtekkel ellentétben, a fényszakasz végén (17:00) kezelt VT növények lokális és szisztemikus leveleinek sztómáiban egyaránt szignifikánsan csökkentek a Φ_{PSII} , valamint a qP paraméterek értékei másnap reggel 9 órakor a flg22 hatására (29. ábra, C, E). Az NPQ ezen kezelések során kismértékű, azonban nem szignifikáns növekedést mutatott a VT növények zárósejtjeiben (29. ábra, G). A Φ_{PSII} ugyanakkor sem a sötétszakasz kezdetén (21:00) kezelt növények (29. ábra, D), sem az ET receptor mutánsok sztómáiban nem csökkent szignifikánsan a zárósejtekben (29. ábra, C, D).



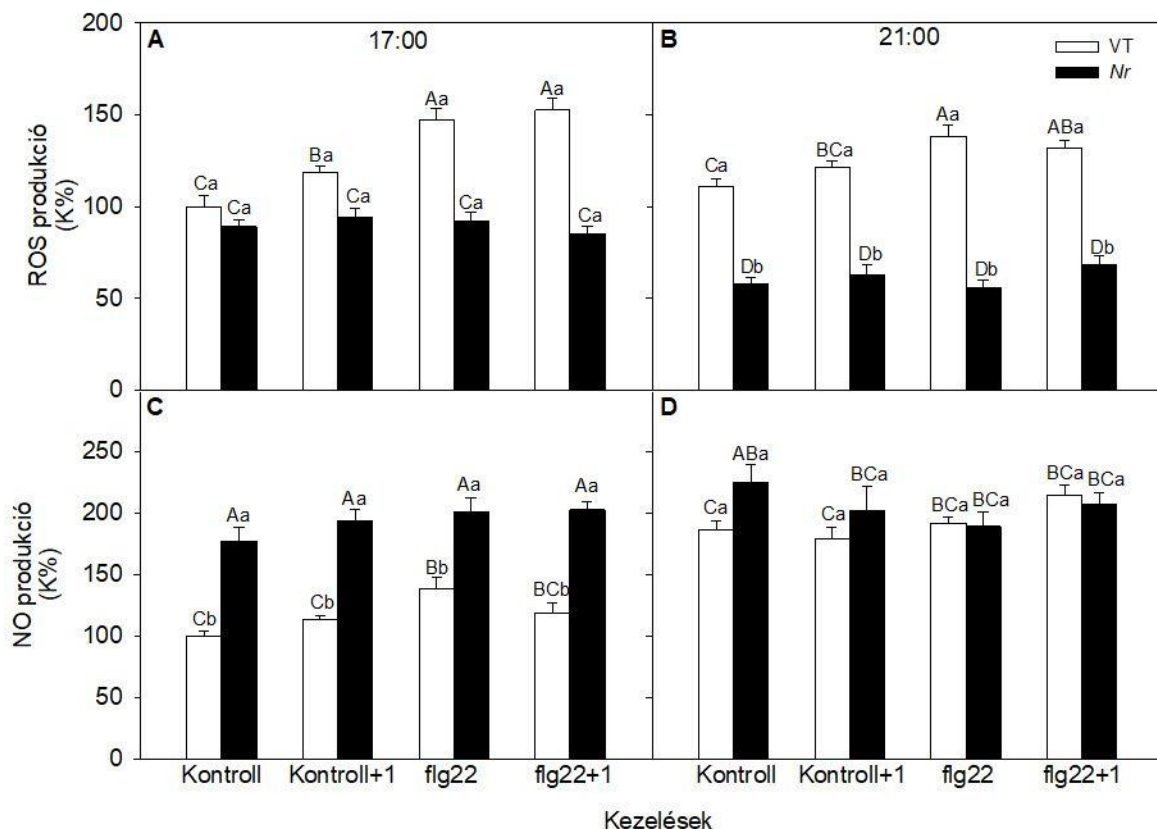
29. ábra: A klorofill fluoreszcencia indukciós paraméterek [F_v/F_m (A, B), Φ_{PSII} (C, D), q_P (E, F), NPQ (G, H)] változása intakt vad típusú (VT, fehér oszlopok) és *Never ripe* (*Nr*) mutáns (fekete oszlopok) paradicsom növények abaxiális levélfelszínéről készített epidermisz-nyúzatok zárósejtjeiben, a fényszakasz végén (17:00; A, C, E, G), valamint a sötétszakasz kezdetén (21:00; B, D, F, H) történő flagellin22 (flg22) kezeléseket követően, a következő fényszakaszban (9:00) nézve (Átlag \pm SE, n=3). A kontrolltól való szignifikáns különbségeket kétutas ANOVA varianciaanalízist követően Duncan-féle teszttel állapítottuk meg, ahol a különböző betűvel jelzett

oszlopok $P \leq 0,05$ valószínűségi szinteken, szignifikánsan különböznek egymástól. A nagybetűs jelölés ugyanazon napszakban a különböző kezelések, míg a kisbetűs nomenklatúra ugyanazon kezelés különböző napszakokban kiváltott hatásainak összehasonlítását reprezentálja. (Kontroll: steril desztillált víz; Kontroll+1: a kontroll levelektől disztálisan elhelyezkedő kezeletlen levélemelet; flg22: $5 \mu\text{g ml}^{-1}$ flagellin22 steril desztillált vízben oldva; flg22+1: a flg22-kezelt levelektől disztálisan elhelyezkedő kezeletlen, szisztemikus levélemelet).

5.4.3. A zárósejtek ROS-, valamint NO produkciójának ET-függő változása a különböző napszakokban alkalmazott flg22 kezeléseket követően

Vizsgálataink során megfigyeltük, hogy a flg22 alkalmazása szignifikáns ROS akkumulációt váltott ki a VT növények zárósejtjeiben, mely a kezelt, és az attól disztálisan elhelyezkedő, szisztemikus levélemeletekben is jelentkezett. A flg22-indukálta ROS produkció a kezelés idejétől függetlenül indukálódott a következő fényszakasz elején, azonban a *Nr* mutánsokban ez elmaradt (30. ábra, A, B).

Ezzel ellentétben, a NO mennyisége kizárólag a fényszakasz végén (17:00) történő flg22 kezeléseket követően nőtt meg szignifikánsan másnap reggel 9 órakor a VT növények sztómáiban, azonban produkciója nem változott jelentősen a *Nr* mutánsok zárósejtjeiben, az este (21:00) alkalmazott bakteriális elicitor kezeléseket követően pedig a VT növényekben sem (30. ábra, C, D).



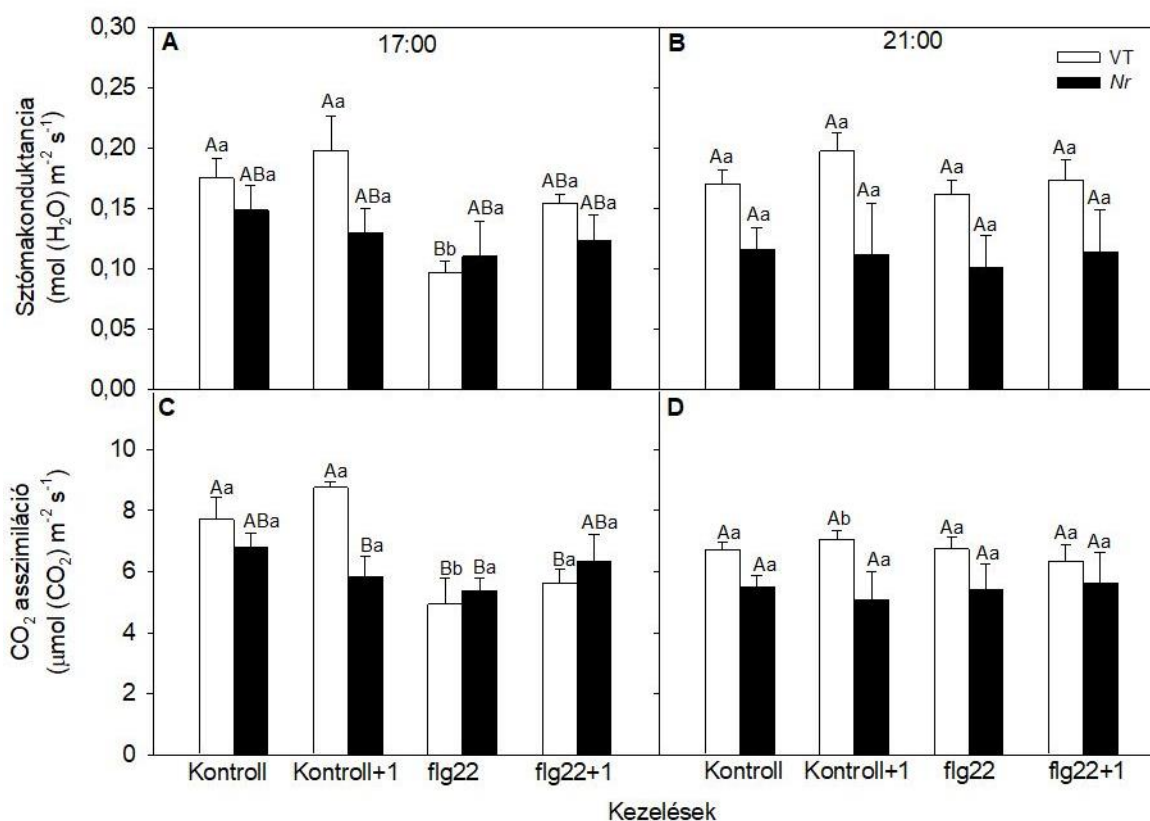
30. ábra: A zárósejtek ROS (H_2DCFDA fluoreszcencia; **A**, **B**) és NO (DAF-FM DA fluoreszcencia; **C**, **D**) produkciójának változása intakt vad típusú (VT, fehér oszlopok) és *Never ripe* (*Nr*) mutáns (fekete oszlopok) paradicsom növények abaxiális levélfelszínéről készített epidermisz-nyúzatok zárósejtjeiben (kontroll%-ban kifejezve), a fényszakasz végén (17:00; **A**, **C**), valamint a sötétszakasz kezdetén (21:00; **B**, **D**) történő flagellin22 (*flg22*) kezeléseket követően, a következő fényszakaszban (9:00) nézve (Átlag \pm SE, $n=3$). A kontrolltól való szignifikáns különbségeket kétutas ANOVA varianciaanalízist követően Duncan-féle teszttel állapítottuk meg, ahol a különböző betűvel jelzett oszlopok $P \leq 0,05$ valószínűségi szinteken, szignifikánsan különböznek egymástól. A nagybetűs jelölés ugyanazon napszakban a különböző kezelések, míg a kisbetűs nomenklatura ugyanazon kezelés különböző napszakokban kiváltott hatásainak összehasonlítását reprezentálja. (Kontroll: steril desztillált víz; Kontroll+1: a kontroll levelektől disztálisan elhelyezkedő kezeletlen levélemelet; *flg22*: $5 \mu g\ ml^{-1}$ flagellin22 steril desztillált vízben oldva; *flg22+1*: a *flg22*-kezelt levelektől disztálisan elhelyezkedő kezeletlen, szisztémikus levélemelet).

5.4.4. A sztómakonduktancia és a CO_2 asszimiláció ET-függő változása a különböző napszakokban alkalmazott *flg22* kezeléseket követően

A fényszakasz végén (17:00) alkalmazott *flg22* kezelések eredményeként másnap reggel 9 órakor szignifikánsan csökkent a VT növények sztómakonduktanciája a kezelt és a szisztémikus levelekben egyaránt (31. ábra, A).

A sztómakonduktancia változásaival szoros korrelációt mutatott a CO_2 fixáció hatékonysága a *flg22* kezeléseket követően, mely ugyancsak szignifikánsan csökkent a

17 órakor végzett bakteriális elicitor kezelések hatására a lokális és disztális levelekben egyaránt másnap reggel 9 órakor nézve (31. ábra, C). Ezzel szemben sem a sztómakonduktancia, sem a CO₂ fixáció aktivitása nem változott szignifikánsan az ET inszenzitív mutánsokban, valamint a sötétszakaszban (21:00) kezelt növények leveleiben (31. ábra).



31. ábra: A sztómakonduktancia (A, B) és a CO₂ asszimiláció (C, D) változása intakt vad típusú (VT, fehér oszlopok) és *Never ripe* (Nr) mutáns (fekete oszlopok) paradicsom növények leveleiben, a fényszakasz végén (17:00; A, C), valamint a sötétszakasz kezdetén (21:00; B, D) történő flagellin22 (flg22) kezeléseket követően, a következő fényszakaszban (9:00) nézve (Átlag±SE, n=3). A kontrolltól való szignifikáns különbségeket kétutas ANOVA varianciaanalízist követően Duncan-féle teszttel állapítottuk meg, ahol a különböző betűvel jelzett oszlopok P≤0,05 valószínűségi szinteken, szignifikánsan különböznek egymástól. A nagybetűs jelölés ugyanazon napszakban a különböző kezelések, míg a kisbetűs nomenklátúra ugyanazon kezelés különböző napszakokban kiváltott hatásainak összehasonlítását reprezentálja. (Kontroll: steril desztillált víz; Kontroll+1: a kontroll levelektől disztálisan elhelyezkedő kezeletlen levélemelet; flg22: 5 μg ml⁻¹ flagellin22 steril desztillált vízben oldva; flg22+1: a flg22-kezelt levelektől disztálisan elhelyezkedő kezeletlen, szisztémikus levélemelet).

6. Eredmények értékelése

6.1. A CHT által indukált lokális és szisztémikus védelmi válaszok fény- és napszakfüggése

Annak ellenére, hogy a növények patogénekkal szembeni rezisztenciájának kialakulása a növénybiológiai kutatások intenzíven vizsgált területe, a növényi védekezési válaszok különböző környezeti faktorokkal, különösen a fénnel való kölcsönhatása még kevésbé feltárt (Iqbal és mtsai. 2021). Mivel a növények nem rendelkeznek az állatok esetében megfigyelhető sejtes immunrendszerrel, a különböző kórokozókkal szembeni védekezési válaszok kimenetelét alapvetően meghatározza azon hosszútávú szignalizációs molekulák gyors produkciója, melyek a fertőzés helyén keletkezve az egész szervezetre kiterjedő szisztémikus válaszok és a SAR kialakulását biztosítják (Ausubel, 2005; Vlot és mtsai. 2021). A különböző szisztémikus szignálok kialakulása és integrációja azonban eltérő lehet a különböző napszakokban, illetve a fényben vagy sötétben történő fertőzés esetén, mely azonban még napjainkban is nagyrészt ismeretlen maradt (Fichman és Mittler, 2020).

Munkánk során elsőként vizsgáltuk meg a gomba eredetű CHT elicitor napszak-, valamint fényfüggő hatásait az intakt paradicsom növények sztómamozgására, a zárósejtek ROS- és NO produkciójára, valamint a mezofillum- és zárósejtek fotoszintetikus aktivitására a kezelt lokális, valamint az azoktól disztálisan elhelyezkedő, szisztémikus levelekben (I. kísérleti elrendezés). A sztómaapertúrák méretének vizsgálata során azt tapasztaltuk, hogy a CHT a fényszakasz végén (17:00) alkalmazva másnap hajnalban (5:00), míg a sötétszakasz végén (4:00) és a fényszakasz kezdetén (8:00) történő kezeléseket követően reggel (9:00) váltott ki szignifikáns sztómazáródást. Koers és mtsai. (2011) szintén a fényszakaszban, reggel 9 és 15 óra között alkalmazott CHT kezelések során figyeltek meg gyors, átlagosan 10 percen belül indukálódó sztómazáródást árpa zárósejtekben, melyben az S-típusú anion csatornák játszhatnak elsődleges szerepet. A sötétszakasz kezdetén (21:00) kezelt növényekben viszont nem változott szignifikánsan a sztómák porusátmérője, mely a CHT-indukálta védekezési válaszok fény- vagy napszakfüggését feltételezi.

A hajnalban bekövetkező fény/sötét tranzíció időpontja kitüntetett jelentőséggel bírhat a növény-patogén interakciók során (Shimazaki és mtsai. 2007). Korábbi tanulmányokból ismert, hogy a CHT a sztómazáródás kiváltása mellett gátolja a fényindukált sztómanyitódást is (Lee és mtsai. 1999; Srivastava és mtsai. 2009; Khokon és

mtsai. 2010). A CHT sztómazáró hatásában központi szerepet játszhat a fotoszintetikus elektrontranszport sebességének csökkentése, valamint az ioncsatornák aktivitásának gátlása, melyet Ördög és mtsai. (2011) lóbab zárósejtekben mutattak ki. Emellett ismert, hogy a CHT fokozza a zárósejtek ROS- és NO akkumulációját, mely a SA szignalizációs útvonalon keresztül szintén hozzájárul a sztómazáródás megvalósításához (Prodhan és mtsai. 2017). Eredményeink azonban arra engednek következtetni, hogy a CHT a hajnali sztómanyitódást kizárólag az előző nap fényszakaszának végén (17:00) alkalmazva képes meggátolni. Ez viszont alapvetően meghatározza a továbbiakban a védekezési válaszok kimenetelét, ugyanis, habár a hajnali, fény/sötét átmenetet követő sztómanyitódás nélkülözhetetlen a fotoszintetikus CO₂ asszimilációhoz, egyúttal potenciális infekciós ablakként is szolgálhat a patogének számára (Karapetyan és Dong, 2018). A fény/sötét tranzíciót követően a fényszakasz első órái játszanak meghatározó szerepet a védelmi válaszok kialakulásában. Reggel a cirkadián óra központi komponenseként funkcionáló CCA1 számos olyan, védekezésben részt vevő gén (pl.: katalázok) expresszióját fokozza, melyek a redox homeosztázis fenntartásával hozzájárulnak a hatékony védelem megvalósításához a növényekben (Lai és mtsai. 2012). A hajnalban (4:00), valamint reggel (8:00) történő CHT kezeléseket követően 9 órakor szignifikánsan záródtak az intakt paradicsom növények sztómái, mely egyúttal egybeesik a védekezési gének expressziós maximumának idejével is (Karapetyan és Dong, 2018).

Ezzel szemben késő délután (15:00) már nem változott szignifikánsan a sztómák pórusátmérője a különböző időpontokban történő CHT kezeléseket követően, mely alapján feltételezhető, hogy a CHT által indukált szignalizációs események eltérőek lehetnek a különböző napszakokban. A fényszakasz végén a sztómazáródással párhuzamosan ugyanis megkezdődik a fotoszintetikus termékek cirkadián óra által szabályozott akkumulációja (Lawson, 2009), mely valószínűleg felülírja a CHT által indukált sztómaválaszokat. A sztómamozgást emellett alapvetően meghatározza a szintén cirkadián reguláció alatt álló JA/SA hormonális egyensúly, mely jelentős eltérést mutat a fényszakasz végén, ahol a JA szintje tetőzik (Goodspeed és mtsai. 2012).

Érdekes módon a CHT-kezelt levélemeletektől disztálisan elhelyezkedő, szisztemikus levelekben kizárólag a fényszakasz elején (8:00) kezelt növényekben váltott ki a gomba elicitor sztómazáródást, mindössze 1 órán belül. Jelitto-Van Dooren és mtsai. (1999) bakteriális elicitor kezelést követően szintén gyors, 2 óra után indukálódó szisztemikus választ detektáltak dohány növények disztális leveleiben, melyet a SA szabályozott. Eredményeink arra engednek következtetni, hogy a gomba eredetű CHT

elicitor kezelést követően szintén az első óra játszhat kulcsfontosságú szerepet a szisztémikus válasz kialakulásában az *SIPRI* és az *SIERF1* védekezési hormon markergének expressziós mintázatai alapján.

Mivel a ROS és NO produkciója szerves részét képezi a sztómazáródás folyamatának (Gayatri és mtsai. 2013; Singh és mtsai. 2017), a következőkben megvizsgáltuk a CHT kezelések fény- és napszakfüggő hatásait a zárósejtek ROS és NO koncentrációjára. A kezelések időpontjától függetlenül a gomba elicitor szignifikánsan fokozta a zárósejtek ROS akkumulációját a fényszakasz első felében (9:00). Ezzel szemben a NO szintje elsősorban a fényszakasz végén (15:00), valamint a CHT kezelést követően mesterséges sötétben tartott növények sztómáiban nőtt meg szignifikánsan. A ROS és NO produkció változásai szoros korrelációt mutattak a CHT által kiváltott sztómaválaszokkal. A fényszakasz végén (17:00) történő CHT kezelés másnap hajnalban (5:00) gátolta a sztómák nyitódását, míg a sötétszakasz végén (4:00) és a fényszakasz kezdetén (8:00) alkalmazva reggel (9:00) sztómazáródást indukált, melynek során szignifikánsan fokozódott a ROS termelődése a zárósejtekben. Ugyanakkor a sztómazáródás már a fényszakasz végén elkezdődik, melyet a CHT-kezelt növényekben fokozott NO produkció kísért. A különböző fitohormonok (pl.: ABA, ET, JA, SA) által indukált sztómazáródás szintén a ROS és NO közreműködésével valósul meg (Desikan és mtsai. 2002; García-Mata és Lamattina, 2003; Liu és mtsai. 2005; Desikan és mtsai. 2006; Khokon és mtsai. 2011; Poór és Tari, 2012; Giday és mtsai. 2013). Produkciójuk mellett fény-, valamint cirkadián óra általi szabályozás alatt áll (Suetsugu és mtsai. 2014; Murata és mtsai. 2015). A sztómazáródásra gyakorolt direkt hatásuk mellett ismert, hogy bizonyos ioncsatornák oxidatív/nitrozatív poszttranszlációs modifikációja által közvetetten is befolyásolják a sztómamozgást (Molassiotis és Fotopoulos, 2011). A ROS és NO esszenciális szerepét a CHT-indukálta gyors sztómazáródásban Srivastava és mtsai. (2009) publikálták, kísérleteik során azonban az elicitor kezeléseket borsó növényekről származó epidermisz-nyúzatokon végezték CHT oldatban történő inkubálással, melyet követően a sztómákban már 30 percen belül fokozódott a ROS és NO produkciója. A CHT szintén szignifikáns NO produkciót váltott ki a CHT-kezelt *Nicotiana benthamiana* növények sztómáiban, valamint H₂O₂ akkumulációt az intakt levelekben a kezelést követően 6 óra elteltével (Wu és mtsai. 2017). Ezen megfigyelésekhez hasonlóan, intakt paradicsom növényekben a CHT gyors ROS akkumulációt generált hajnalban (5:00) és reggel (9:00) a zárósejtekben, azonban a sztómazáródás annak függvényében indukálódott, hogy mely napszakban történt a CHT kezelés. Az intakt növények disztális, kezeletlen leveleiben a

sztómák ROS/NO produkciója a gomba elicitor kezelést követően 1 órán belül szignifikánsan megnőtt, mely a sztómazáródást elősegítve a gyors, szisztemikus védekezési válaszok fontos részét képezi intakt növényekben.

A klorofill fluoreszcencia indukciós paraméterek vizsgálata széleskörűen alkalmazható a különböző stresszorok, így a CHT PSII aktivitására gyakorolt hatásának tanulmányozására a sztómákban és mezofillum sejtekben egyaránt (Liu és mtsai. 2005). Korábbi tanulmányok alapján ismert, hogy a CHT kezelés lóbab zárósejtekben szignifikánsan csökkentette a Φ_{PSII} értékét és a lineáris fotoszintetikus elektrontranszport sebességét a PSII-ben (ETRII) nappal (Ördög és mtsai. 2011). Munkánk során a CHT kezelések PSII aktivitásra gyakorolt, fény- és napszakfüggő hatásait tanulmányoztuk, különös tekintettel annak sejt-specifikus fény- és cirkadián óra általi regulációjára, intakt paradicsom növényekben. Míg a zárósejtekben az F_v/F_m mindössze kismértékben csökkent a CHT alkalmazását követően, a Φ_{PSII} reggel (9:00) szignifikánsan visszaesett a CHT-kezelt levelek sztómáiban a kontrollhoz képest. Ezen eredményeink azt bizonyítják, hogy a CHT jelentősen befolyásolja a zárósejtek fotoszintetikus aktivitását, mely különösen a fényszakasz kezdeti óráiban bír meghatározó jelentőséggel. Mind a Φ_{PSII} csökkenése, valamint a ROS fokozott produkciója hozzájárulhat a CHT-indukálta sztómazáródáshoz.

Érdekes módon a Φ_{PSII} a zárósejtek mellett a mezofillum sejtekben is csökkent a CHT kezeléseket követően, azonban ez elsősorban hajnalban (5:00) volt szignifikáns mértékű, míg az F_v/F_m nem változott számottevően az intakt levelekben. A Φ_{PSII} csökkenése hajnalban a védelmi válaszreakciók fontos momentuma lehet, mivel a fény/sötét átmenet megváltoztatja a kloroplasztisz redox homeosztázisát (Cejudo és mtsai. 2019). Korábbi megfigyelések alapján a CHT önmagában nem befolyásolta szignifikánsan az F_v/F_m , Φ_{PSII} , valamint qP paramétereket, viszont kukorica csíranövényekben Cd stressz során, valamint paradicsomban uborka mozaikvírus (CMV) fertőzés esetén jelentősen fokozta azokat, hozzájárulva a fotoszintetikus aktivitás optimális szintjének biztosításához abiotikus vagy biotikus stressz fennállása esetén (Qu és mtsai. 2019; Rendina és mtsai. 2019; Carmona és mtsai. 2020). Az eredményeinkhez hasonlóan Iriti és mtsai. (2009) sem tapasztaltak szignifikáns változást az F_v/F_m paraméterben intakt veteménybab levelekben 24 órával a CHT kezelést követően, viszont az NPQ jelentősen megnőtt az elicitor kezelés eredményeként. Kísérleteink során az NPQ ugyancsak szignifikáns növekedést mutatott az intakt paradicsom növények leveleiben, azonban ez kizárólag hajnalban volt megfigyelhető. Az NPQ növekedése a védekezési folyamatok indukciójának fontos indikátora, mivel a ROS termelés csökkentésével mérsékli a fotokémiai károsodást, ezáltal

pedig fokozza a fotoszintetikus aktivitást az egyik legmeghatározóbb napszakban (Zhao és mtsai. 2017). Eredményeink alapján feltételezhető, hogy a növények elsődleges védelmi vonalát képző epidermisz rétegen keresztül megvalósuló CHT-érzékelés olyan szignalizációs folyamatokat aktivál, melyek a mezofillum sejtek metabolizmusát és fotoszintetikus aktivitását is megváltoztatják a korai fényszakaszban, ezáltal fokozva a növények védekezésének hatékonyságát. Mindemellett érdekes módon a CHT kezeléseket követően nem indukálódott az intakt paradicsom növényekben a zárósejtek vagy mezofillum sejtek fotoszintézisére kiterjedő, szisztémikus válasz a vizsgált klorofill fluoreszcencia indukciós paraméterek változásai alapján, így a fotoszintetikus aktivitás valószínűleg kevésbé releváns szerepű a szisztémikus rezisztencia kialakulásában a vizsgált időpontokban.

A különböző, védekezésben szerepet játszó növényi hormonok által indukált szignalizációs folyamatok, valamint a SAR kulcsfontosságú szerepet tölt be a patogénnel szembeni rezisztencia kialakításában. Ezen folyamatok hormonális szabályozása alapvetően a SA, az ET, valamint a JA által valósul meg (Liu és mtsai. 2011). Issak és mtsai. (2013) kimutatták, hogy a CHT által indukált sztómazáródás elsősorban a SA szabályozása alatt áll, míg az ABA lényegesen kisebb mértékben járul hozzá a kialakulásához. A CHT kezeléseket paradicsom növényekre gyakorolt, fény- és napszakfüggő hatásainak tanulmányozása érdekében az elicitor alkalmazását követően különböző SA-, valamint ET/JA-válaszgenek expresszióját analizáltuk, melyek *Arabidopsis*-ban *Pseudomonas syringae* fertőzés során igazoltan indukálódtak (Griebel és Zeier, 2008; Liu és mtsai. 2011). A SA markergén *SLPR1* transzkripciója korán, már hajnalban (5:00) szignifikáns növekedést mutatott a CHT kezeléseket követően, majd maximális expresszióját a korai fényszakaszban (9:00) érte el. Az *SLPR1* relatív transzkript akkumulációja azonban a sötétszakasz kezdetén (21:00) történő CHT kezeléseket követően volt a legmagasabb, mely a védekezési válaszok indukációjának késleltetését feltételezi, melyet tovább bizonyít, hogy ekkor még a sztómák sem záródtak szignifikánsan.

A védekezési válaszok cirkadián regulációjának és direkt, fény általi szabályozásának elkülönítése érdekében a fényszakasz kezdetén (8:00) kezelt növényeket párhuzamosan fényben vagy mesterséges sötét környezetben tartottuk. A CHT mindössze 1 órán belül, szignifikánsan fokozta az *SLPR1* kifejeződését a fényben tartott növények levelében, míg ez a sötétben elmaradt, mely a CHT-indukálta védekezési válaszok potenciális fényfüggését feltételezi. A CHT kezelést követő, 1 napon belül indukálódó *SLPR1* expressziót korábbi tanulmányok leírták többek között rizs sejtszuspenzióban,

sárgarépa levélben, valamint kivi gyümölcsben, míg az ismételt CHT kezelések akár 3 vagy 6 nap után is fokozták az *SIPRI* kifejeződését paradicsomlevélben (Lin és mtsai. 2005; Jayaraj és mtsai. 2009; Hua és mtsai. 2019; El-Garhy és mtsai. 2020), azonban a CHT kezelések hormonválasz gének szignalizációjára gyakorolt napszak-, valamint fényfüggő hatásait még nem vizsgálták különböző levélemeletekben, intakt növényeken.

Az ET szerepe a CHT által indukált védekezési válaszok kialakításában napjainkban is vitatott, mivel az szőlőlevélben 3 nap múlva indukálta a JA/ET-függő védekezési válaszokat, míg gátolta a SA szignalizációt, azonban veteménybabban nem játszott szerepet a CHT-indukálta rezisztencia kialakításában (Iriti és mtsai. 2010; De Bona és mtsai. 2021). Munkánk során az ET és a JA CHT által indukált védekezési válaszokban betöltött szerepét az *SIERF1* expressziós változásai alapján tanulmányoztuk. Az ET és JA által szabályozott ERF1 TF számos olyan *PR* gén expresszióját fokozza, melyek meggátolják a betegség progresszióját (Lorenzo és mtsai. 2003). Az *ERF1* indukcióját leírták többek között *Botrytis cinerea* és *Fusarium oxysporum* fertőzést követően *Arabidopsis*-ban, mely alapvetően ET- és JA-szignalizáció-függőnek bizonyult, azonban a SA nem befolyásolta azt számottevően (Berrocal-Lobo és Molina, 2004). A CHT által indukált *SIERF1* expresszió napszakfüggését elsőként figyeltük meg, mely hajnalban (5:00), a fény/sötét tranzíciós szakaszban fokozódott szignifikánsan. Ezen felül kifejeződése az *SIPRI* génhez hasonlóan szignifikáns növekedést mutatott a fényszakasz kezdetén (8:00) történő CHT kezeléseket követően fényen tartott növények levelében lokálisan és szisztémikusan, 1 órán belül. Ezen eredmények azt bizonyítják, hogy az ET és a JA kizárólag a CHT-indukálta gyors, órákon belül indukálódó védekezési válaszok kialakításáért felelősek, míg a SA domináns szerepet játszik abban, a fokozott *SIPRI* expresszió alapján. Az *SIERF1* relatív transzkript szintje ugyanakkor szignifikánsan megnőtt a sötétben, míg az *SIPRI* kifejeződése jelentősen csökkent, ami a fény CHT-indukálta védekezési válaszokban betöltött esszenciális szerepét bizonyítja. A lokális válaszok mellett a CHT-kezelt levélemeletektől disztálisan elhelyezkedő levelekben is szignifikánsan fokozódott az *SIPRI* és *SIERF1* átíródása a CHT kezelést követően 1 órán belül a fényen, mely szoros korrelációt mutatott az itt jelentkező ROS és NO akkumulációval, valamint a sztómazáródással. Atia és mtsai. (2005) paradicsomban szintén számos *PR* gén (*GLU*, *CHI*, *PR14*) lokális és szisztémikus akkumulációját detektálták CHT kezelést követően. Eredményeink szolgáltatják azonban az első bizonyítékokat arra vonatkozólag, hogy a CHT a fényszakasz kezdetén mindössze 1 órán belül képes a szisztémikus válasz kiváltására intakt paradicsom növényekben. A megfigyelt fiziológiai

és molekuláris változások megerősítik a napszak, valamint a megvilágítás alapvető jelentőségét az intakt paradicsom növények gomba elicitor kezelésre adott válaszaiban.

6.2. A CHT által indukált gyors lokális és szisztémikus védelmi válaszok fény- és ET általi regulációja

Annak ellenére, hogy a CHT az egyik legjobban tanulmányozott gomba eredetű MAMP, pontos hatásmechanizmusa, kifejezetten az egész növény szintjén még kevésbé ismert (Narula és mtsai. 2020). Ennek fő oka, hogy az elicitor kezelések hatását a növénybiológiai kutatások többsége levágott leveleken vizsgálta, ami egyúttal megakadályozza az esetlegesen aktiválódó, egész növényre kiterjedő, szisztémikus válaszok detekcióját. Korábbi, intakt paradicsom növényeken végzett kísérleteink során megfigyeltük, hogy a CHT képes a SAR indukciójára, ezért további kutatásainkban a lokális védelmi folyamatok mellett a szisztémikus válaszok tanulmányozására fektettünk hangsúlyt. Ezek szabályozásában a növények endogén cirkadián órája mellett kiemelt szerepet játszik a napszak, valamint a különböző abiotikus környezeti körülmények, mint például a fény (Karapetyan és Dong, 2018). Előzetes tanulmányaink alapján a fény közvetlenül szabályozza a paradicsom növények CHT-indukálta védelmi válaszait, így további kutatásaink során célul tűztük ki azok fényfüggésének tisztázását. Számos megfigyelés igazolta, hogy a CHT hosszútávú, akár napokig tartó hatás kifejtésére képes (Ben-Shalom és mtsai. 2003; Manjunatha és mtsai. 2009). Emellett a korábbi kutatások többségének álláspontja alapján a CHT által kiváltott rezisztencia késleltetve indukálódik, így a legtöbb tanulmány a kezeléseket követően 6-48 óra múlva vizsgálta a védekezési válaszokat (De Bona és mtsai. 2021). Egyes szerzők azonban, korábbi kutatási eredményeinkkel megegyezően, a CHT kezelést követő első óráknak tulajdonítottak kulcsfontosságú jelentőséget, a védekezési válaszok maximális aktivációja (pl.: ROS és NO akkumuláció) szempontjából (Yin és mtsai. 2013; Devireddy és mtsai. 2020a). Ezen megfigyelések figyelembevételével további kísérleteink során a CHT-indukálta gyors lokális és szisztémikus válaszok tanulmányozására fókuszáltunk (II. kísérleti elrendezés). Mivel előzetes méréseink alkalmával a gomba elicitor kezeléseket követően az *SIERF1* rövid időn belül jelentkező, szignifikáns expresszióját tapasztaltuk, viszont az ET szerepe a növény-patogén interakciók során még kevésbé ismert, további kísérleteinket ET receptor mutáns, *Nr* paradicsom növényeken is elvégeztük.

A sztómazáródás az egyik legkorábbi, akár percekben belül aktiválódó növényi védekezési válasz a patogének vagy elicitorok felismerését követően (Srivastava és mtsai. 2009; Koers és mtsai. 2011; Devireddy és mtsai. 2020b). A CHT sztómazáró hatásán felül a gázcsere nyitódását is hatékonyan meggátolja (Ördög és mtsai. 2011; Wu és mtsai. 2017). Eredményeink alapján a CHT mindössze 30 percen belül szignifikáns sztómazáródást váltott ki a VT növényekben, mely a kezelt levélemelettől disztálisan elhelyezkedő levelekre is kiterjedt, megerősítve korábbi feltételezéseinket a CHT szisztemikus hatására vonatkozólag. A fény hiánya önmagában szignifikánsan csökkentette a sztómaapertúrák méretét, azonban a CHT ezt tovább fokozta. A VT növényekkel ellentétben, az ET inszenzitív mutánsokban a CHT nem befolyásolta szignifikánsan a zárósejtek pórusátmérőjét, az ET szerepét igazolva a CHT által kiváltott lokális, valamint szisztemikus védelmi válaszok kialakulásában.

A ROS és NO termelődését gátló inhibitorok, valamint Ca^{2+} kelátorok alkalmazása megakadályozza a CHT-indukálta sztómazáródást (Srivastava és mtsai. 2009). Korábbi tanulmányok igazolták a ROS és NO akkumulációt, valamint a citoszolikus NAD(P)H elérhetőségének szükségességét a CHT által kiváltott sztómazáródás folyamatában, melynek során a ROS szintjei a kezeléseket követően mindössze 5, míg a NO koncentrációja 10 percen belül szignifikáns növekedést mutatott *in vitro* (Iriti és mtsai. 2009; Li és mtsai. 2009; Srivastava és mtsai. 2009). A CHT által kiváltott oxidatív robbanás általában a kezelést követő első órákban tetőzik. A CHT-indukálta H_2O_2 akkumuláció maximumát 12 percen belül érte el búza sejt kultúrában, 30 percen belül olajrepcében, míg 50 perc alatt rizs sejt szuszpenzióban (Lin és mtsai. 2005; Paulert és mtsai. 2010; Yin és mtsai. 2013). Rossard és mtsai. (2010) azonban kimutatták, hogy a CHT által okozott H_2O_2 produkció nem feltétlenül korlátozódik kizárólag a kezelés első óráira. Kísérleteik során bizonyították, hogy a CHT kezelést követően *Beta vulgaris* levélkorongokban kétfázisú H_2O_2 produkció figyelhető meg, melynek során az első, 1 óra után tapasztalható H_2O_2 maximumot követően 4 óra után egy második, órákig fennálló H_2O_2 csúcs generálódik, részben a konstitutív Cu/Zn SOD aktivitásnak köszönhetően (Rossard és mtsai. 2010). Érdekes módon, kísérleteink során az intakt növények leveleinek H_2O_2 produkciója nem változott szignifikánsan a CHT kezeléseket követően 30 perc vagy 1 óra elteltével, sem a VT, sem a *Nr* mutáns növények esetében, azonban a O_2^- termelődése már a kezelést követően 30 perc múlva fokozódott, mely a szisztemikus levelekben 1 óra után érte el a maximumát. A O_2^- termelődését nem csak a sötétség, de az aktív ET jelátvitel hiánya is negatívan befolyásolta, mivel az teljes mértékben gátlódott a

Nr mutánsokban, mely az ET elsődleges szerepét bizonyítja a ROS szignalizációban, a rezisztencia kialakulásának kezdeti szakaszában. Az ET O_2^- produkcióra gyakorolt, közvetlen hatását korábban Borbély és mtsai. (2019) írták le ET bioszintézis prekursor ACC használata segítségével. Eredményeink alapján a CHT által indukált lokális ET emisszió elősegítheti a O_2^- disztális levelekben történő akkumulációját, ezáltal aktiválva a szisztémikus védelmi válaszokat az intakt növényekben. A lokális ROS produkció időbeli fluktuációit a CHT kezeléseket követően *Artemisia annua* növényekben írták le, ahol eredményeinkhez hasonlóan gyors, folyamatos O_2^- akkumuláció jelentkezett közvetlenül a kezeléseket után, míg a H_2O_2 szintje mindössze órák múlva mutatott szignifikáns növekedést, mely csak 24 óra elteltével tetőzött (Lei és mtsai. 2011). Mindezek alapján feltételezhetően a O_2^- , és nem a H_2O_2 játszik elsődleges szerepet a CHT kezeléseket követő gyors, 1 órán belül indukálódó védekezési válaszok kialakításában. A korai, fokozott lokális O_2^- produkció igazoltan a NADPH-oxidáz direkt aktivációjára vezethető vissza CHT kezelést követően, míg az antioxidáns rendszer (pl.: APX, CAT, glutation-peroxidáz (GPX)) ezzel egyidejű aktivációja csökkentheti a ROS generációt, mely a H_2O_2 szintek relatíve alacsony szinten tartását biztosította kukorica csíranövényekben, CHT kezelés során (Prasad és mtsai. 2017; Turk, 2019; Xu és mtsai. 2020). A gyors, korai O_2^- produkciót követő késleltetett H_2O_2 válasz lehetséges magyarázata a SOD viszonylag lassú aktivációja korábbi megfigyelések alapján (Lei és mtsai. 2011). Devireddy és mtsai. (2020a) leírták, hogy nagy intenzitású fénystresszt követően a ROS szintjei órákig magasak maradnak a szisztémikus levelekben, mely egyfajta „szisztémikus stressz memória” funkciót tölthet be, mely a védekezési mechanizmusok up-regulált állapotának fenntartásában játszhat szerepet.

A ROS mellett a NO lokális akkumulációja szintén azonnal jelentkezik a CHT kezeléseket követően, mely a korai védekezési válaszok aktivációjának kulcsfontosságú eleme (Manjunatha és mtsai. 2009; Yin és mtsai. 2013; Chandra és mtsai. 2017). A CHT mind a VT és *Nr* paradicsom növények levelében fokozta a NO termelődését, a fény jelenlététől függetlenül, mely a szisztémikus levelekben is szignifikáns növekedést mutatott. Ezek alapján feltételezhető, hogy a CHT által generált NO produkció független az aktív ET szignalizációtól. A JA, valamint a SA esetében azonban ismert, hogy stressz körülmények során elősegítik a gyors NO akkumulációt (Mur és mtsai. 2013; Takács és mtsai. 2016). Ugyanakkor a NO termelődésében közvetlen szerepet játszó nitrát-reduktáz aktivitása gátolt a sötétben (Poór és mtsai. 2019b).

A gáz halmazállapotú ET a növények fejlődésének és biotikus stresszel szembeni védekezésének fontos szabályozó molekulája, azonban a pontos funkciójára vonatkozó információk gyakran ellentmondásosak. Általánosságban megállapítható, hogy a JA szignalizációs útvonalakkal együttműködve elsősorban a nekrotróf patogénekkal szembeni védekezésben játszik szerepet, míg a SA a biotrófok elleni védelem kulcsmolekulája (van Loon és mtsai. 2006a). Az inkompatibilis növény-patogén interakciók, valamint a HR kialakulása gyakran fokozott ET produkcióval kísért folyamatok, mely kiemelt szerepet tölt be a rezisztencia kialakulásában. Azonban ET inszenzitív, *Nr* mutáns növényekkel végzett kísérletek során igazolták, hogy az avirulens *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* fertőzést követően az ET nem játszik szerepet a nekrotikus lézió kialakulásában (Ciardi és mtsai. 2000; van Loon és mtsai. 2006a). A *Nr* paradicsom növények az ET receptor mutációja következtében nem képesek az ET érzékelésére, azonban ez az ET bioszintézisét nem akadályozza, sőt, a negatív ET visszacsatolási válasz következtében fokozott ET akkumuláció figyelhető meg bennük a VT növényekhez képest (Lanahan és mtsai. 1994; Borbély és mtsai. 2020; Nascimento és mtsai. 2021). Az ET CHT-indukálta, gyors védekezési válaszokban betöltött szerepét Yin és mtsai. (2006) oligoCHT kezelést követően olajrepcé levelekben írták le, melynek során két EREBP és egy ET receptor gén expressziója a kezelést követő egy órán belül szignifikáns növekedést mutatott. Az ET jelátvitel szintén szerepet játszik a SAR szignalizációban TMV fertőzést követően, azonban szerepe a CHT-indukálta, egész növényre kiterjedő szisztémikus válaszok kialakításában még nem ismert (Verberne és mtsai. 2003). A CHT közvetlen, pozitív hatását az ET termelődésére elsőként fenyő sejtszuspenzióban írták le (Popp és mtsai. 1997). A CHT szintén fokozott ET emissziót indukált az intakt paradicsom növények levelében, azonban ez a sötétben tartott növényekben elmaradt. A gomba elicitor kezelést követő ET akkumuláció kizárólag a lokális levelekre korlátozódott, a szisztémikus levelekben nem történt szignifikáns változás.

A ET bioszintézisében részt vevő *ACO* kifejeződése szignifikánsan fokozódott a CHT kezeléseket követően szőlőlevélben (De Bona és mtsai. 2021). Megfigyeléseink során az *SIACO1* és *SIACS6* ET bioszintézis gének expressziója szintén szignifikánsan nőtt a CHT kezeléseket követően mind a VT, mind a *Nr* mutáns paradicsom növényekben, azonban ezek a VT növények levelében lényegesen magasabb szinten fejeződtek ki. Ezen eredményeink szoros korrelációt mutattak Castagna és mtsai. (2007) korábbi megfigyeléseivel, miszerint az ET bioszintézis gének késleltetve fejeződnek ki a *Nr* mutánsok levelében a VT növényekhez viszonyítva, ez a lassan aktiválódó ET-válasz

pedig feltehetően az ET érzékelésének defektusára vezethető vissza. A fény ET bioszintézisre gyakorolt, közvetlen gátló hatását korábbi tanulmányokhoz (Kao és Yang, 1982) hasonlóan kísérleteink is igazolták, mivel a sötétben tartott növények leveleinek ET szintje kismértékben magasabb a fényen tartott növényekhez viszonyítva, mely különösen érvényes a *Nr* mutánsokra. A CHT ugyanakkor kizárólag a fényen tartott VT növények lokális leveleiben fokozta szignifikánsan az ET akkumulációját, mely mind a sötétben tartott növényekben, mind az ET inszenzitív *Nr* mutánsokban elmaradt. Mindez megerősíti azon korábbi megfigyeléseket, melyek bizonyították, hogy a HR kialakulása nem kizárólag az ET akkumuláció defektusa esetén, de a fény hiányában is gátlódik TCV fertőzés során, *Arabidopsis* növényekben (Chandra-Shekara és mtsai. 2006; van Loon és mtsai. 2006a).

A PR proteinek akkumulációja patogénfertőzést vagy elicitor kezelést követően erősen ET által szabályozott folyamat, mely amellet, hogy gátolja a kórokozók további terjedését, a szisztémikus válaszok kialakulásában is részt vesz (Hadwiger, 2013). Korábbi megfigyeléseink során a CHT rövid időn belül fokozta az *SIPRI* relatív transzkript akkumulációját lokálisan, valamint szisztémikusan az intakt VT paradicsom növények levelében. A PR fehérjecsaládba tartozó kitinázok elsődleges szerepe a gombák sejtfalát alkotó kitin és CHT polimerek hidrolízise, ezáltal pedig a gombafertőzést követő védekezési válaszok aktivációjának potenciális markereiként funkcionálnak (Grover, 2012; Xing és mtsai. 2015). A paradicsomban azonosított *SIPR3* olyan II-es kitináz osztályba tartozó endokitináz kódol, mely mind a HR és SAR folyamatában részt vesz (Sol Genomics Network; Grover, 2012). A PR3 alapvetően az ET- és JA szignalizációs útvonalakon keresztül aktiválódik, mely exogén ACC kezeléssel is kiváltható (van Loon és mtsai. 2006b; Mazarei és mtsai. 2007; Chen és mtsai. 2008; Zhu és mtsai. 2014). A kitinázok expressziója gátolt ET inszenzitív *Nr* mutáns paradicsom növényekben *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* fertőzés esetén, mely tovább bizonyítja a folyamat ET-függését a védekezési válaszok során (Ciardi és mtsai. 2000). A CHT hatása azonban jelentősen függ annak molekuláris tömegétől. Dubin és mtsai. (2020) leírták, hogy elsősorban az alacsony molekulásúlyú CHT képes a *PR* gének expressziójának fokozására, melyek közül a CHT elsősorban a *PR3b* endokitináz kifejeződését fokozta, mindössze 1 órán belül dohány növényekben. Az *SIPR3* relatív transzkript szintje az ET inszenzitív paradicsom mutánsok levelében alapvetően magasabb volt a VT növényekhez képest, kontroll körülmények között is. A CHT kezeléseket követően mindkét genotípusban 1 órán belül szignifikánsan fokozódott az *SIPR3* kifejeződése a fényen tartott növények lokális leveleiben, mely azonban sokkal erőteljesebben indukálódott a sötétben tartott VT

paradicsomokban. Érdekes módon ez a növekedés szignifikánsnak bizonyult a VT növények kezeletlen, disztális leveleiben is, viszont elmaradt a *Nr* mutánsokban, ami a CHT-indukálta szisztemikus válaszok kialakulásának ET-függését sugallja. A *CHI* búza növények disztális leveleiben a CHT kezelést követően 6 óra múlva mutatott maximális expressziót (Díaz-Martínez és mtsai. 2018). Western blot analízissel végzett kísérleteinkkel igazoltuk, hogy a PR3 protein szintek az *SIPR3* génexpressziós változásaihoz hasonló tendenciát mutattak, megerősítve a gyors és fokozott kitináz produkció alapvető jelentőségét a CHT által indukált lokális és szisztemikus védekezési válaszokban. Atia és mtsai. (2005) paradicsom növényekben exogén CHT kezelést követően szintén fokozott kitináz fehérje akkumulációt figyeltek meg a disztális levelekben, így eredményeink tovább erősítik a CHT pozitív regulációs szerepét a SAR kialakulásában. Érdekes módon a paradicsom PR3 fehérje akkumulációjának Western blot módszerrel történő vizsgálata során a PVDF membránon kettős PR3 fehérje sávot detektáltunk, melyet korábban egyéb növényfajokban is megfigyeltek (Munger és mtsai. 2012; Falcioni és mtsai. 2014). Ennek feltételezhető oka, hogy az I-es osztályba tartozó endokitináz két izoformával (CHN A, CHN B) rendelkezik, melyek szerkezete ugyan nagyon hasonló, bizonyos, specifikus AS-ak deléciója és szubsztitúciója a két izoforma molekuláris tömegében akár 1500-2000 Da különbséget is eredményezhet (Sticher és mtsai. 1993).

Számos kutatás demonstrálta, hogy a megemelkedett kitináz expresszió nem kizárólag a PR transzkriptumok és proteinek akkumulációját eredményezi, hanem azzal párhuzamosan a kitinázok aktivitása is fokozódik (Aziz és mtsai. 2006; Jayaraj és mtsai. 2009). Ugyan az *SIPR3* expressziója, valamint a PR3 proteinek akkumulációja a CHT kezeléseket követően mindössze 1 órán belül fokozódott az intakt paradicsom növények levelében, a kitinázok aktivitása ezidő alatt nem mutatott szignifikáns növekedést egyik vizsgált genotípusban sem. Ennek egyik lehetséges magyarázata a kitináz enzimek késleltetett aktivációja, mely a CHT kezelést követően szőlőlevélben 2 óra után kezdett nőni, míg sárgarépa levélben 12, rizs sejtszuspenzióban pedig 48 óra múlva érte el a maximumát (Lin és mtsai. 2005; Trotel-Aziz és mtsai. 2006; Jayaraj és mtsai. 2009). Mindazonáltal számos kutatás cáfolja a kitináz enzimek aktivációjának kritikus szerepét a rezisztencia kialakulásában, sőt, bizonyos szignalizációs molekulák generációjára gyakorolt indukciós hatásuknak relevánsabb szerepet tulajdonítanak, mint a direkt enzimatisz aktivitásuknak (Ciardi és mtsai. 2000; van Loon és mtsai. 2006b).

A PR fehérjék szintézisének elsődleges helyszíne a durva felszínű ER, ahol az abiotikus és biotikus stressz hatására indukálódó, fokozott transzlációs aktivitás

szükségszerűen igényli az olyan chaperon fehérjék akkumulációját, mint a BiP, a fehérjék megfelelő negyedleges térszerkezetének kialakítása érdekében (Carvalho és mtsai. 2014). Az ER stresszt előidéző misfolded és unfolded proteinek akkumulációját az UPR aktivációja moderálhatja, melyben a BiP chaperon IRE1, valamint bZIP28/17 fehérjéről történő disszociációja, valamint felhalmozódása alapvető szerepet játszik, ezáltal pedig az egyik legfontosabb UPR markerként funkcionál (Cheng és mtsai. 2015; Bao és Howell, 2017). A BiP akkumulációját növényekben CHT kezelés hatására elsőként Malerba és mtsai. (2012) írták le, melynek során az ER szerkezetének változását is megfigyelték. A kationos CHT és anionos pektin oligomerekből felépülő COS-OGA elicitorokról szintén bizonyították, hogy pozitívan regulálják bizonyos HSP70 chaperon gének expresszióját (Van Aubel és mtsai. 2016). A CHT kezeléseket követően mind a VT és ET inszenzitív *Nr* paradicsom növények levelében fokozódott az *SlBiP* kifejeződése, mely az ER stressz, majd a velejáró UPR fokozott aktivációját bizonyítja az elicitor érzékelését követő mindössze 1 órán belül. A *BiP* expressziójának lokális és szisztémikus gyors, átmeneti indukcióját biotikus stressz során Jelitto-Van Dooren és mtsai. (1999) dohány növényekben figyelték meg, mely megelőzte a szintén PR fehérje családba tartozó β -1,3-glükánáz indukcióját. A BiP akkumulációja alapvetően szoros korrelációt mutatott a génexpressziós eredményekkel. A CHT kezelés jelentős mértékben indukálta az *SlBiP* kifejeződését, melyet sem az ET szignalizáció defektusa, sem a fény hiánya nem befolyásolt szignifikánsan, viszont jelentősen csökkent a *Nr* mutánsok disztális leveleiben. Ezen eredmények alapján feltételezhetően a CHT-indukálta lokális *SlBiP* expresszió független az ET- és a fény szignalizációtól. Ugyanakkor az *SlBiP* és BiP fehérje szisztémikus akkumulációjának elmaradása az ET inszenzitív mutánsokban a CHT által kiváltott szisztémikus válaszok ET-függését bizonyítja.

6.3. Az ET szerepe a flg22 által indukált fény- és napszakfüggő, gyors lokális és szisztémikus védekezési válaszokban

A gomba eredetű CHT kezelések hatásainak vizsgálatát követően további munkánk során a bakteriális elicitorként funkcionáló flg22 által indukált védekezési válaszok tanulmányozására fókuszáltunk. Habár a flg22 az egyik legelterjedtebb, bakteriális fertőzések modellezésére használt elicitor molekula, fény-, valamint napszakfüggő hatásai még kevésbé feltártak. A növények patogénekkal szembeni védekezésének sikeressége ugyanis nagymértékben függ a különböző fiziológiai és molekuláris védekezési válaszok

aktivációjának megfelelő időszakra történő ütemezésétől, melynek szabályozásában a növényi hormonok, így az ET kulcsfontosságú szerepet játszik (Pieterse és mtsai. 2012; Vos és mtsai. 2013; Broekgaarden és mtsai. 2015). Ezen folyamatok ugyanakkor olyan külső tényezőktől is jelentősen függenek, mint a fény jelenléte és hiánya, vagy a növények endogén cirkadián órája (Roden és Ingle, 2009; Carvalho és Castillo, 2018; Karapetyan és Dong, 2018). Annak ellenére, hogy a JA és SA akkumulációja a cirkadián óra regulációja alatt áll, a növekedés és fejlődés szabályozásában részt vevő ET szignalizációs folyamatok alapvetően függetlenek a cirkadián ritmusoktól (Thain és mtsai. 2004; Broekgaarden és mtsai. 2015; Karapetyan és Dong, 2018). Ugyanakkor számos tanulmányban leírták, hogy az ET funkciója nagymértékben függ annak koncentrációjától, továbbá eltérő lehet fényben és sötétben (Mühlenbock és mtsai. 2007; Borbély és mtsai. 2019; Harkey és mtsai. 2019).

Munkánk során elsőként vizsgáltuk meg a bakteriális elicitor flg22 napszak-, valamint ET-függő hatását a lokális és szisztemikus védekezési válaszok aktivációjára, intakt paradicsom növények levelében. Mivel a fény közvetlen szabályozó szerepe az endogén cirkadián óra általi regulációtól nehezen megkülönböztethető, kísérleteinket két, egymáshoz közel eső napszakban, a fényszakasz végén (17:00) és a sötétszakasz kezdetén (21:00) történő flg22 kezeléseket követően végeztük el, melyekben előzetes megfigyeléseink alapján eltérően indukálódhatnak a különböző, elicitor által közvetített védekezési válaszok. A fényszakasz végén, délután elkezdődő sztómazáródással párhuzamosan csökken a fotoszintetikus termékek felhalmozódása (Lawson, 2009). Ugyanakkor a cirkadián óra szabályozása alatt álló JA akkumuláció pont ezen napszakban éri el a maximumát (Goodspeed és mtsai. 2012), így az ekkor aktiválódó szignalizációs események merőben eltérőek lehetnek a fényszakasz kezdetével összehasonlítva. Mivel a legtöbb baktérium éjszaka mutat maximális aktivitást (Santamaría-Hernando és mtsai. 2018), a természetes körülmények pontosabb modellezése érdekében mesterséges sötétítés helyett a flg22 fényfüggő hatásait a fényperiódus végét követően, 3 órával később (21:00) történő kezelések segítségével tanulmányoztuk, amikor a fényfüggő fotoszintetikus események, valamint a fitokróm szignalizáció már inaktiválódtak (Graf és mtsai. 2010; Medzihradszky és mtsai. 2013). E kísérleti elrendezés során az ellentétes napszakokban történő kezelések lehetővé teszik a fény flg22-indukálta védekezési reakciókban betöltött szerepének vizsgálatát, ugyanakkor ezek az időpontok egymáshoz kellőképpen közel esnek, így a metabolikus energiát szolgáltató szénhidrátok, mint a keményítő elérhetősége még nem tér el szignifikánsan, mely jelentősen befolyásolhatná a növények védekezési válaszait (Graf és Smith, 2011). Korábbi megfigyelések alapján a flg22 mindössze 1 órán

belül képes gyors molekuláris és fiziológiai válaszok kiváltására intakt növényekben, mint például a fokozott ROS akkumuláció, a védekezési- és hormonválasz gének expressziójának indukciója, valamint a sztómazáródás kiváltása (Denoux és mtsai. 2008; Sano és mtsai. 2014; Guzel Deger és mtsai. 2015; Bhattarai és mtsai. 2016; Toum és mtsai. 2016; Zhang és mtsai. 2016). Kísérleteink során ezen gyors, lokális és szisztémikus védekezési válaszok napszakfüggését a délután vagy este történő bakteriális elicitor kezeléseket követően 30 perc és 1 óra elteltével vizsgáltuk meg, VT és ET inszenzitív mutáns intakt paradicsom növényekben (III. kísérleti elrendezés).

A MAMP-ok érzékelését követő egyik leggyorsabban indukálódó növényi védekezési válasz a fokozott ROS produkció (Jones és Dangl, 2006). Ebben kulcsfontosságú szerepet játszanak a PM-ban lokalizálódó NADPH-oxidázok, melyek a citoszolikus NADPH molekulákról elektronokat közvetítenek a molekuláris oxigénre, ezáltal pedig O_2^- keletkezik. A gyors O_2^- produkció nélkülözhetetlen a lokális, intracelluláris szignalizációs események aktivációjához, valamint amplifikációjához, mely az egész növényre kiterjedő, szisztémikus védelem megvalósítását is percekben belül elősegíti (Mittler és mtsai. 2011; Dubiella és mtsai. 2013; Baxter és mtsai. 2014). Kísérleteink során a flg22 kezelések mindössze kismértékben növelték a O_2^- lokális termelődését a fényperiódus végén (18:00) a VT növények levelében, viszont szignifikáns O_2^- akkumulációt indukáltak azok disztális levélemeleteiben. Mind a O_2^- és H_2O_2 szintjei alapvetően alacsonyabbak voltak a *Nr* mutánsok leveleiben, a VT növényekhez viszonyítva. Az ET inszenzitív mutánsok disztális leveleiben ugyanakkor nem változott szignifikánsan a O_2^- mennyisége a bakteriális elicitor kezeléseket követően, mely az ET elsődleges szerepét igazolja a flg22-indukálta szisztémikus O_2^- akkumulációban. A fényszakasz végén (17:00) alkalmazott elicitor kezelésekkal ellentétben a sötétszakasz kezdetén (21:00) a flg22 nem befolyásolta szignifikánsan a O_2^- szintjeit egyik vizsgált genotípusban sem, mely tovább bizonyítja a flg22 kezelések napszak-, valamint ET-függő hatását a O_2^- termelődésre az intakt paradicsom növények levelében. Számos korábbi, alapvetően luminol-alapú O_2^- detekciós módszerrel végzett kísérlet során megfigyelték a gyors, percekben belül indukálódó lokális oxidatív robbanást flg22 kezelés hatására levélkorongokban (Robatzek és mtsai. 2007; Lyons és mtsai. 2013; Shi és mtsai. 2013; Bhattarai és mtsai. 2016; Zhang és mtsai. 2016; Qi és mtsai. 2018b). Ezen *in situ* megfigyelések azt feltételezik, hogy a ROS akkumulációja az egyik leggyorsabban aktiválódó lokális védekezési válasz a flg22 kezeléseket követően. A NADPH-oxidáz aktivációja a O_2^- gyors produkciója által ROS hullámot generál, mely hozzájárul a gyors,

szisztémikus válaszok kialakulásához a disztális levélemeletekben (Devireddy és mtsai. 2020a). Borbély és mtsai. (2019) megfigyelték, hogy az ET koncentráció-függő módon gyors O_2^- és H_2O_2 produkciót indukálhat intakt paradicsom növények leveleiben. Az ET esszenciális szerepet játszik a növényi védekezési válaszok kezdeti szakaszában, mivel a ROS termelődése elmaradt a flg22 kezeléseket követően az ET inszenzitív receptor mutáns *Arabidopsis* csíranövényekben is (Mersmann és mtsai. 2010). A sötétség ugyanakkor késleltetheti vagy gátolhatja a NADPH-oxidáz aktivációját, ezáltal a patogénfertőzést követő első, priming szerepű oxidatív robbanás és a ROS hullám kialakulását (Poór és mtsai. 2017), melyek következtében késleltetett a lokális és szisztémikus válaszok indukciója. Teljes transzkriptom analízis alapján *Arabidopsis* növényekben kimutatták, hogy a flg22 által 30 percen belül indukálódó gének 30%-a fényfüggő expressziót mutat (Sano és mtsai. 2014). A fény hiánya tehát egyaránt késleltetheti vagy akár gátolhatja molekuláris szinten a növények védekezési válaszait a stressz stimulusok érzékelésének és szignalizációjának befolyásolásával, melyben a ROS- és hormonmetabolizmus alapvető szerepet játszik. Megállapítható tehát, hogy az ET a O_2^- produkció szabályozása révén fontos szerepet játszik a szisztémikus védelem kialakulásában a fényszakaszban.

A O_2^- kevésbé toxikus H_2O_2 , valamint víz molekulákká történő dizmutációját a SOD katalizálja a védekezési folyamatok részeként, melynek szabályozásában fontos szerepet tölt be az ET és a SA (Poór és mtsai. 2018; Takács és mtsai. 2018). A H_2O_2 mennyisége szignifikánsan megnőtt a fényszakasz végén (17:00) kezelt VT növények leveleiben lokálisan, 30 perccel a bakteriális elicitor kezelést követően, azonban nem változott szignifikánsan a sötétszakaszban (22:00), valamint a *Nr* növények leveleiben. A H_2O_2 termelődése szintén fontos részét képezi a flg22 által indukált gyors lokális védekezési válaszoknak, mivel nem kizárólag a sejtek redox állapotát szabályozza, de számos védekezési válaszgén expressziójának regulációjában is részt vesz (Van Aken és mtsai. 2015). Guzel Deger és mtsai. (2015) *Arabidopsis* mezofillum sejtekben mindössze percekben belül indukálódó H_2O_2 csúcsot figyeltek meg a flg22 kezelést követően. A H_2O_2 produkciójának regulációjában az ET és a SA meghatározó szerepet töltenek be, mivel öngerősítő visszacsatolási körökben mindkét hormon pozitívan hat a H_2O_2 termelődésére, mely szintén fokozza a hormonok akkumulációját (Xia és mtsai. 2015). A sötétség ugyanakkor negatívan hat a H_2O_2 akkumulációjára (Poór és mtsai. 2017). Ezek alapján mind az ET, mind a fény jelentősen befolyásolja a ROS lokális és szisztémikus produkcióját a flg22 kezelése során. A H_2O_2 produkciója a flg22 kezelést követő 30 percen belül különösen fontos szerepet játszik a lokális, hormonális szabályozás alatt

álló védekezési válaszok aktivációjában a fényszakaszban paradicsom növényekben. Emellett viszont a NADPH-oxidáz által generált O_2^- (Fichman és Mittler, 2020) szintén kulcsfontosságú szerepet tölt be a sejt-sejt közti interakciókban, valamint a ROS hullámok generálásában, ezáltal pedig az intakt növények disztális szöveteire kiterjedő, gyors szisztémikus válaszok kialakulásában (Devireddy és mtsai. 2020a). Ugyanakkor az antioxidáns rendszerek, valamint a különböző növényi hormonok alapvetően meghatározhatják a vizsgált időpontokban a O_2^- és H_2O_2 szintjeit (Foyer és Noctor, 2016; Takács és mtsai. 2018).

A ROS szignalizáció számos folyamatban együttműködik a NO-mediálta jelátvitellel, melyek egyaránt meghatározhatják a sejtek redox állapotát, valamint a különböző fiziológiai- és stresszválaszokhoz kapcsolt szignalizációs folyamatok kimenetelét (Mur és mtsai. 2008b; Kocsy és mtsai. 2013). Kísérleteink során a NO tartalom szignifikáns növekedést mutatott a VT növények kezelt leveleiben a fényszakaszban, 1 órával az elicitor alkalmazását követően (18:00), ugyanakkor nem változott jelentősen a sötétszakaszban (22:00), valamint az ET receptor mutánsokban. Mindezek alapján feltételezhető, hogy az aktív ET szignalizáció, valamint a fény jelenléte meghatározó szerepű lehet a lokális NO produkció indukciójában, ezáltal a hatékony védelmi válaszok kialakulásában az intakt paradicsom növények levelében. Korábbi megfigyelések során kimutatták, hogy a flg22 kezelés szignifikáns NO akkumulációt eredményezett 2 órán belül kukorica levélkorongokban is (Zhang és mtsai. 2017), ugyanakkor a szisztémikus, egész növényre kiterjedő hatását nem vizsgálták. Kísérleti eredményeink alapján azonban a NO nem vesz részt a gyors, szisztémikus válaszokban paradicsom növényekben a flg22 kezeléseket követő első órában. Ismert, hogy a NO szintéziséhez közvetlenül kapcsolódó nitrát-reduktáz aktivitása gátolt a sötétben (Poór és mtsai. 2019b). Ezzel korrelációt mutatva, az este (21:00) történő flg22 kezeléseket sem befolyásolták szignifikánsan a NO tartalmat a VT növényekben. A NO tehát a lokális növényi védekezési válaszok meghatározó szabályozó molekulája lehet a fényperiódusban, melynek alacsony szintje késleltetheti vagy gátolhatja a védekezési válaszok aktivációját a fény hiányában, este. A ROS és NO egyik legáltalánosabb funkciója a rövid időn belül bekövetkező sztómazáródás kiváltása, mely a gyors védekezési válaszok alapvető komponense a növényekben (Mur és mtsai. 2008b; Zhang és mtsai. 2008; Wang és Gou, 2021). A fényperiódusban fokozódó ROS és NO produkció különösen fontos szerepet játszhat a flg22 kezeléseket követően is a sztómazáródás kiváltásában. Ugyanakkor jól ismert, hogy a NO számos védekezési folyamatban részt vevő protein poszt-transzlációs

modifikációjában szerepet játszik, továbbá szoros interakcióban áll az ET-, a JA- és a SA bioszintézissel és szignalizációval nappal (Freschi, 2013; Mur és mtsai. 2013; Kolbert és mtsai. 2019; Shine és mtsai. 2019).

Az ET a JA és a SA által regulált rövid- és hosszútávú védekezési válaszok finomhangolásában szerepet játszó egyik legfontosabb növényi hormon. Ennek ellenére a gyors lokális és szisztémikus hatásai, különösen azok napszakfüggése még kevésbé ismertek, míg az egyéb mobilis, floémen keresztül transzportálódó SAR szignalizációs molekulákról (pl.: Pip, NHP, AzA) lényegesen több információ áll rendelkezésre (Shine és mtsai. 2019). Denoux és mtsai. (2008) kimutatták, hogy a flg22 kezelés 1 órán belül fokozza az ACS gének expresszióját *Arabidopsis* növényekben, ugyanakkor ezzel párhuzamosan a korai védekezési válaszok részeként nappal aktiválódtak az ET, JA és SA szignalizációs útvonalak. Később számos tanulmány igazolta, hogy a flg22 kezelés órákon belül szignifikáns ET emissziót indukál a fényben, a flg22 által indukált védekezési válaszok pedig az ACS2 és ACS6 expressziótól függenek (Felix és mtsai. 1999; Mur és mtsai. 2008b; Yu és mtsai. 2021b), viszont az ET szerepét a szisztémikus védekezési válaszok indukációjában nem vizsgálták. A flg22 kezelés szignifikáns ET akkumulációt eredményezett a fényszakasz végén (18:00) mind a VT és Nr növények kezelt levélemeleteiben, ugyanakkor nem befolyásolta az ET szinteket a sötétben (22:00). A flg22-indukálta ET produkció hozzájárulhat a VT növények disztális leveleiben 1 órán belül jelentkező, fokozott *SIERF1* expresszióhoz, mely azonban mind a fény hiányában, mind az ET inszenzitív mutánsokban elmaradt. Ezt a levelek ROS és NO tartalma jelentősen modulálhatja, ugyanis ezek hozzájárulhatnak az ET produkció fokozásához (Freschi, 2013; Xia és mtsai. 2015). Ezen eredmények szolgáltatják az első bizonyítékokat arra vonatkozólag, hogy az ET nem kizárólag a lokális, de a szisztémikus, gyors védekezési válaszok aktivációjában is szerepet játszhat a fényperiódusban. Az 1 órás flg22 kezelés *Arabidopsis* növényekben is szignifikánsan fokozta az *ERF1* expresszióját, mely hozzájárulhat az ET- és JA-által regulált *PDF1.2* védekezési válaszgén indukációjához (Denoux és mtsai. 2008). Az ET és JA továbbá szerepet játszanak a rhizobaktériumok által indukált ISR kialakulásában, ugyanis *Pseudomonas syringae* fertőzés esetén órákon belül indukálódott az ET szintézise *Arabidopsis* növényekben (Pieterse és mtsai. 2000). Az ET szisztémikus védekezési válaszokban betöltött szerepét paradicsom növényekben is megfigyelték *Xanthomonas campestris* fertőzést követően, melynek során fokozódott az ET termelődése, valamint jelentős mértékű PR-válaszgén expresszió jelentkezett 1 nappal a fertőzést követően (Block és mtsai. 2005). Az *ERF* gének lokális és szisztémikus

kifejeződése szintén szignifikánsan fokozódott *Pseudomonas syringae* és *Xanthomonas translucens* fertőzést követően árpa levélben (Dey és mtsai. 2014). Paradicsom növényeken végzett kísérleteink során a flg22 szignifikánsan indukálta a JA lokális akkumulációját, valamint az *SIDEF* lokális és szisztémikus expresszióját, azonban ez az ET inszenzitív *Nr* mutánsokban elmaradt. A JA, valamint a JA-izoleucin (JA-Ile) akkumulációja szintén fokozódott *Vitis rupestris* sejtkultúrában a flg22 kezelést követő 30 percen belül (Chang és mtsai. 2017). A JA/ET szignalizációs útvonalon keresztül aktiválódó *PDF1.2* expressziója ugyancsak szignifikánsan fokozódott a flg22 kezelést követő mindössze 30 perc elteltével *Arabidopsis* levelekben (Hong és mtsai. 2018). Ezen eredmények azt igazolják, hogy az ET elsősorban a lokális, JA-kapcsolt szignalizációs események szabályozásában játszik fontos szerepet a flg22 kezeléseket követően. Érdekes módon a korábbi, *Arabidopsis* növényekben tett megfigyelésekkel ellentétben, paradicsom növényekben a szisztémikus védekezési válaszok nem feltétlenül jártak együtt fokozott *PR1* expresszióval vagy lokális/szisztémikus SA akkumulációval (Hase és mtsai. 2003; Mishina és Zeier, 2007). Ugyanakkor kísérleteink során a flg22 kezeléseket követően fokozódott a lokális SA akkumuláció és *SI-PR1* expresszió is, mely nem volt szignifikáns a sötétben (21:00) történő elicitor kezeléseket követően, valamint a *Nr* mutánsok esetében. Ezek alapján feltételezhető, hogy az ET fontos regulációs szerepet tölt be a flg22-indukálta lokális SA szignalizációs folyamatokban a fényperiódusban. Korábban leírták, hogy a flg22 fokozta a SA szignalizációs markergén *PR1* expresszióját, valamint növelte a SA és JA akkumulációját *Arabidopsis* növényekben (Denoux és mtsai. 2008; Gravino és mtsai. 2015; Chan és Zimmerli, 2019). A flg22 által indukált SA akkumulációjához azonban nélkülözhetetlen a fény (Sano és mtsai. 2014). Ezen megfigyelések alapján megállapítható, hogy a flg22 mellett, hogy szignifikánsan fokozza az ET, a JA, valamint a SA lokális akkumulációját és szignalizációját 1 órán belül az intakt növények levelében, hozzájárul a gyors, szisztémikus védekezési válaszok aktivációjához is, a vizsgált védekezési hormonválasz gének expressziós változásai alapján a fényperiódusban. Míg az *SI-ERF1* és *SIDEF* kifejeződése ugyanis fokozódott a VT növények szisztémikus leveleiben a fényszakasz végén (17:00) történő bakteriális elicitor kezeléseket követő 1 óra elteltével, addig a *Nr* mutánsokban ez nem változott szignifikánsan, ami tovább bizonyítja az ET szerepét a gyors szisztémikus védekezési válaszok kialakításában a fényperiódusban. Ezen eredmények alapján az ET a flg22-kezelt levelektől disztálisan elhelyezkedő levélemeletekben a napszak függvényében potenciális priming szerepet tölthet be a rezisztencia kialakulása során, az ISR-hez hasonlóan (Hase és mtsai. 2003). Eredményeink

tehát azt sugallják, hogy az ET a főbb védekezési hormon szignalizációs hálózatok finomhangolásában részt vevő, központi regulátorként funkcionálhat, mivel a fényszakasz végén indukálódó lokális és szisztémikus védekezési válaszok nagymértékű ET-függést mutattak a paradicsom növények leveleiben.

A patogéntámadást követő sztómazáródás az egyik leggyorsabb növényi védekezési válasznak tekinthető (Glazebrook, 2005; Dey és mtsai. 2014). A sztómamozgást az endogén regulációs elemek (pl.: növényi hormonok, ROS, NO) mellett a különböző környezeti tényezők, mint a fény és sötétség is jelentősen befolyásolják (Zeng és mtsai. 2010; Dey és mtsai. 2014; Toum és mtsai. 2016). Korábbi tanulmányokból ismert, hogy a *flg22* gátolja a fényindukált sztómanyitódást *Arabidopsis* epidermisz-nyúzatokban, valamint 50 percen belül zárja a sztómákat az intakt *Arabidopsis* levelekben (Zhang és mtsai. 2008; Guzel Deger és mtsai. 2015). Azonban, míg az ET és a cirkadián óra pozitív szerepét több kutatás igazolta az ABA-független sztómazáródás folyamatában, az ET hozzájárulása a szisztémikus válaszok kialakulásához még kevésbé ismert (Mersmann és mtsai. 2010; Montillet és mtsai. 2013; Panchal és Melotto, 2017). Megfigyeléseink alapján a *flg22* szignifikáns sztómazáródást indukált mind a lokális és szisztémikus levélemeletekben a fényszakasz végén (18:00) a VT növényekben, azonban ez mind a sötétben végzett kezeléseket követően (22:00), mind pedig a *Nr* mutánsokban gátlódott. Az ET tehát nem kizárólag a lokális, de a szisztémikus sztómazáródás kiváltásában is fontos szerepet játszik a *flg22* kezeléseket követően, viszont kizárólag a fényperiódusban. Eredményeink alapján a *flg22*-indukálta, ET-függő ROS és NO produkció hozzájárulhat a gyors, szisztémikus sztómazáródáshoz. Mindezek megerősítik az ET alapvető jelentőségét a *flg22*-indukálta gyors lokális és szisztémikus növényi védekezési válaszok aktivációjában, mely azonban eltérő lehet a különböző napszakokban az intakt paradicsom növényekben.

6.4. A *flg22* által indukált, hosszútávú lokális és szisztémikus védelmi válaszok napszak- és ET-függése

A *flg22*-indukálta gyors lokális és szisztémikus védekezési válaszok napszak-, fény-, valamint ET-függésének tanulmányozását követően további kísérleteink során a különböző napszakokban alkalmazott *flg22* kezelések hosszútávú, ET-függő hatásait vizsgáltuk meg intakt paradicsom növények lokális és szisztémikus leveleiben. Annak ellenére, hogy a különböző biotikus stresszorok által kiváltott védekezési válaszok aktivációjának

időfüggése jól ismert, még nem született olyan átfogó tanulmány, mely a különböző szisztémikus szignálok aktiválódásának és terjedésének gyorsaságát ugyanazon növényfajban, ugyanazon környezeti körülmények között vizsgálná, ezáltal az ún. „gyors” és „lassú” szignál felosztás is relatív, hiszen ezek aktivációja nagymértékben függ a vizsgált növényfajtól, illetve az adott környezeti faktoroktól (Fichman és Mittler, 2020). A korábbi kísérleti elrendezésünkben választott időpontokban (17:00, 21:00) történő flg22 kezeléseket követően a bakteriális elicitor hosszútávú hatásait a következő fénciklusban, másnap reggel (9:00) vizsgáltuk meg (IV. kísérleti elrendezés). A két kezelési időpontban a fény jelenléte vagy hiánya miatt alapvetően eltérőek lehetnek egyes fény-regulálta védekezési válaszok, ugyanakkor egymáshoz mégis közel esnek, így megközelítőleg hasonló a szénhidrátok elérhetősége, mely a metabolikus energia biztosítása révén meghatározó szerepű a védekezési válaszok aktivációjának szempontjából is (Graf és mtsai. 2010; Graf és Smith, 2011; Medzihradszky és mtsai. 2013). A sötét periódus végét követően, 3 óra múlva (9:00) a fény szignalizáció már aktiválódik, a sztómák nyitottak, így aktív fotoszintézis zajlik a levelekben. Mivel a lassan indukálódó védelmi válaszok regulációjában fontos szerepet játszhat a fotoszintézis, további munkánk során a flg22 kezelések hosszútávú, fotoszintetikus aktivitásra gyakorolt hatásainak vizsgálatára fókuszáltunk a VT és *Nr* mutáns intakt paradicsom növényekben.

A kloroplasztiszok szerepe nem kizárólag a fotoszintézis megvalósítására korlátozódik, de számos növényi hormon, valamint a ROS képződésének fontos sejtorganelleként is funkcionálnak, ezáltal pedig jelentősen hozzájárulhatnak a sikeres lokális és szisztémikus növényi védekezés megvalósulásához (Littlejohn és mtsai. 2021). A patogénfertőzések a gazdanövények fiziológiai és molekuláris folyamatainak befolyásolásával hatással vannak a fotoszintetikus aktivitásra, mely létfontosságú a növekedés és fejlődés biztosítása szempontjából (Kuźniak és Kopczewski, 2020). Ezen felül azonban biotikus stressz során a fotoszintetikus aktivitás fenntartása nélkülözhetetlen a sikeres védekezés megvalósításához (Dodd és mtsai. 2005; Berger és mtsai. 2007). Ugyanakkor ennek elkerülése érdekében számos kórokozó célzottan csökkenti a növények fotoszintetikus hatékonyságát bizonyos fotoszintézishez kapcsolódó gének expressziójának represszálasával, melyet többek között *Pseudomonas syringae* és *Xanthomonas oryzae* fertőzés során is leírtak (Bonfig és mtsai. 2006; Yu és mtsai. 2014). Nem hagyható figyelmen kívül azonban, hogy a fertőzés mely napszakban történik, ugyanis a fény jelenléte vagy hiánya nagymértékben befolyásolja a fotoinhibíciót, valamint a fotodegradációt a fertőzött levelekben. Cheng és mtsai. (2016) dohánylevelekben

megfigyelték, hogy a fotoszintetikus apparátus károsodása szignifikánsan nagyobb mértékű volt abban az esetben, ha a 3 nap időtartamú *Pseudomonas syringae* fertőzés sötétben történt. Azonban a flg22 kezelést követően lényegesen gyorsabb (30 perc és 2 óra alatt indukálódó) változások figyelhetők meg a fotoszintézishez kapcsolódó gének expressziójában, vagy a védekezési hormonok által szabályozott szignalizációs komponensek aktivációjában fényben vagy sötétben. Mivel a fotoszintézis inhibitor 3- (3,4-diklór-fenil)-1,1-dimetil-urea (DCMU) alkalmazása esetén hasonló folyamatok figyelhetők meg, a fotoszintézis feltételezhetően szerepet játszik a flg22 által indukált, fényfüggő expressziót mutató gének kifejeződésének szabályozásában is (Sano és mtsai. 2014). Elsőként Göhre és mtsai. (2012) írták le a flg22 kezelés fotoszintetikus aktivitásra gyakorolt rövid- és hosszútávú hatásait, *Arabidopsis* csíranövényekben. Kísérleteik során a bakteriális elicitor mindössze 20 percen belül szignifikánsan csökkentette az NPQ értékét, mely minimumát 1 óra múlva érte el, 4 óra elteltével azonban ismét kontroll szintre tért vissza, annak ellenére, hogy a flg22 folyamatosan jelen volt a folyadékközegben (Göhre és mtsai. 2012). A flg22 emellett szignifikáns ROS akkumulációt indukált, mely a kezelést követően 20 perc múlva tetőzött (Göhre és mtsai. 2012). A szerzők érdekes módon azt tapasztalták, hogy a flg22 hosszútávú hatást váltott ki az *Arabidopsis* csíranövényekben, melyet a vizsgálat 7 napja alatt a Φ_{PSII} csökkenése, míg az NPQ szignifikáns növekedése jellemzett (Göhre és mtsai. 2012). Ezen eredmények alapján feltételezhető, hogy a flg22 kezelés hosszútávú hatást gyakorol a növények fotoszintetikus aktivitására, mely a védekezési válaszokat is jelentős mértékben befolyásolhatja, azonban ezek napszakfüggését vagy szisztémikus hatását még nem tanulmányozták. Munkánk során elsőként vizsgáltuk meg a flg22 kezelések fotoszintetikus aktivitásra gyakorolt napszakfüggő hatását a paradicsom növények lokális, valamint szisztémikus leveleiben a következő fényperiódus kezdetén, reggel 9 órakor. Érdekes módon azonban a flg22 kezelések a vizsgált klorofill fluoreszcencia indukciós paraméterek változásai alapján nem befolyásolták szignifikánsan a mezofillum sejtek fotoszintetikus aktivitását. Ez alapján feltételezhetően az intakt levelek mezofillum sejtjeinek PSII aktivitása kevésbé érzékeny a flg22 kezelésekre, vagy azok hatásai később jelentkeznak, mint a folyamatos flg22 expozíciónak kitett csíranövények esetében (Göhre és mtsai. 2012).

A mezofillum réteg parenchimatikus sejtjeihez viszonyítva a zárósejtek kloroplasztiszainak száma lényegesen kevesebb, méretük pedig kisebb, mely jelentősen befolyásolja azok fotoszintetikus aktivitását. A sztómák keményítő metabolizmusa ezen felül jelentősen eltér a mezofillum sejtjétől, mely fontos szerepet játszik a sztómamozgás

szabályozásában (Lawson, 2009). Ugyanakkor, mivel a zárósejtek a flg22 kezelésnek leginkább kitett epidermiszben lokalizálódnak, a flg22 sztómák fotoszintetikus aktivitására gyakorolt hatása különösen fontos szerepet játszhat a hosszantartó sztómazáródás megvalósításában, a növényi védekezési válaszok részeként. Eredményeink alapján a flg22 szignifikánsan csökkentette a Φ_{PSII} és qP paraméterek értékeit a fényperiódusban (17:00) kezelt VT növények lokális és szisztémikus leveleiben másnap reggel (9:00). Ezzel párhuzamosan azonban az NPQ mindössze kismértékű növekedése volt megfigyelhető ezen növények sztómaiban. Mindez azt sugallja, hogy a sztómák fotoszintetikus aktivitása lényegesen érzékenyebb a flg22 lokális és szisztémikus hatásaira, mely egyaránt hozzájárulhat az egész növényre kiterjedő sztómazáródáshoz és a CO₂ asszimiláció csökkenéséhez, valamint a patogének inváziójának megfékezéséhez a következő nap reggelén. A flg22 zárósejtek fotoszintetikus aktivitására gyakorolt hatásai alapvetően a NADPH-oxidázok aktivációja eredményeként percekben belül jelentkező oxidatív robbanásra (Zhang és mtsai. 2008; Ranf és mtsai. 2011; Thor és Peiter, 2014), valamint a később indukálódó, kloroplasztikus, öngerjesztő ROS produkcióra vezethetők vissza (Kangasjärvi és mtsai. 2012), melyek korábbi megfigyeléseink alapján elősegítik a sztómazáródást, azonban a sötétben elmaradnak. Ugyanakkor a vizsgált klorofill fluoreszcencia indukciós paraméterek nem változtak szignifikánsan sem az este alkalmazott (21:00) flg22 kezeléseket követően, sem a *Nr* mutánsok leveleinek sztómaiban, mely a flg22 kezelések zárósejtek fotoszintetikus aktivitására gyakorolt hatásának napszak-, valamint ET-függését feltételezi. Ezen eredmények alapján a napszak (fény), valamint az ET fontos szabályozó szerepet töltenek be a flg22 FLS2 általi gyors detekciójában, valamint az ezt követő, ROS által közvetített szignalizációs eseményekben (Mersmann és mtsai. 2010), ugyanakkor hiányukban a flg22 a fotoszintetikus aktivitásra gyakorolt, hosszútávú hatását sem képes kifejteni. Mindezek jól korrelálnak Borbély és mtsai. (2019) korábbi megfigyeléseivel, melyek során kimutatták, hogy az ET idő- és koncentráció-függő módon gyors O₂⁻ és H₂O₂ produkciót indukál a paradicsom növények leveleiben, mellyel párhuzamosan csökken a Φ_{PSII} és fokozódik az NPQ. Az ET bioszintézise, érzékelése és szignalizációja ugyanakkor a növények fejlődési állapota mellett nagymértékben a fény által szabályozott (Harkey és mtsai. 2019). Korábbi megfigyeléseink szintén megerősítették, hogy a flg22 által indukált gyors ET produkció és szignalizáció fényfüggő, mivel azok kizárólag a fényszakaszban történő kezeléseket követően mutattak szignifikáns indukciót, míg a sötétszakaszban kezelt növényekben elmaradtak. A fény jelenléte vagy hiánya a kezelés időpontjában azonban a flg22

fotoszintetikus aktivitásra gyakorolt, hosszútávú hatásait is alapvetően meghatározta másnap reggel 9 órakor.

A fényszakaszc végén (17:00) történő flg22 kezelések azonban a fotoszintetikus aktivitásra gyakorolt hatásuk mellett a sztómákban fokozták a ROS produkcióját, mely a kloroplasztikus ROS generációval öngerjesztő körként működve hozzájárulhat a fotoszintetikus aktivitás csökkentéséhez (Kangasjärvi és mtsai. 2012), ezáltal biztosítva a hosszantartó, szisztémikus sztómazáródást. A flg22 emellett szignifikánsan növelte a lokális levelek zárósejtjeinek NO akkumulációját is a fényszakaszcban történő kezeléseket követően, mely azonban elmaradt a *Nr* mutánsok sztómaiban. Habár az ET inszenzitív mutánsok alapvetően magasabb NO szinttel rendelkeztek a VT növényekhez képest, a bakteriális elicitor kezelések nem befolyásolták a NO termelődését szignifikánsan, mely a folyamat potenciális ET-függését feltételezi. Jól ismert, hogy a flg22 érzékelését követő ROS és NO akkumuláció a zárósejtekben fokozza a PM-ban található Ca^{2+} csatornák, ezáltal pedig a SLAC1 anion csatorna, valamint a PIP1;2 aquaporinok aktivitását, melyek együttesen hozzájárulnak a MAMP-indukálta lokális sztómazáródáshoz a fényszakaszcban (Zhang és mtsai. 2008; Ranf és mtsai. 2011; Thor és Peiter, 2014; Guzel Deger és mtsai. 2015; Toum és mtsai. 2016; Rodrigues és Shan, 2021). A flg22 sztómákra gyakorolt, hosszútávú, másnap reggel jelentkező hatásai azonban még nem ismertek, melyet munkánk során elsőként vizsgáltunk meg. Mersmann és mtsai. (2010) kimutatták, hogy a flg22 nem képes a ROS által közvetített sztómazáródás kiváltására ET inszenzitív *Arabidopsis* mutánsokban. Az ET receptor mutáns *Nr* paradicsom növényekben ehhez hasonlóan elmaradt a flg22 által indukált sztómaválaszc, melyben kulcsszerepet játszhat az ET- és napszakfüggő ROS és NO produkció. Korábbi kísérleteink során kimutattuk, hogy a flg22 este nem fokozza az ET akkumulációját és szignalizációját, mely az oxidatív robbanás elmaradását eredményezheti a sötétszakaszcban, továbbá gátolja a sztómazáródást a következő fényciklus kezdetén. A délután (17:00) történő flg22 kezelés által másnap reggel (9:00) okozott sztómazáródás hozzájárulhat a nettó fotoszintetikus asszimiláció szignifikáns csökkenéséhez. A CO_2 asszimiláció csökkenése negatívan befolyásolhatja a Calvin-ciklus működését, valamint a cukrok bioszintézisét, mely a biomassa produkció szignifikáns csökkenését eredményezheti. A flg22 hosszútávú, növekedést gátló hatását 7 napos *Arabidopsis* csíranövényekben Göhre és mtsai. (2012) dokumentálták. Kísérleteink segítségével igazoltuk ezen flg22 által indukált, hosszútávú válaszok napszak- illetve ET általi meghatározottságát, melyekben jelentős szerepet játszhat a ROS/NO produkció és szignalizáció.

7. Összefoglalás

Munkánk során megvizsgáltuk, hogy a gomba eredetű kitozán (CHT) elicitor a különböző napszakokban alkalmazott kezelések időpontjától függően hogyan befolyásolja az intakt paradicsom növények lokális, illetve szisztémikus védekezési válaszait. A különböző fiziológiai és molekuláris változások cirkadián regulációjának tanulmányozása mellett célul tűztük ki azok direkt, fény általi szabályozásának, illetve etilén (ET)-függésének pontosabb megismerését ET inszenzitív, *Never ripe (Nr)* mutáns paradicsom növények vizsgálatával. A CHT mellett munkánk második felében egy bakteriális MAMP, a flagellin22 (flg22) lokális és szisztémikus hatásait előzetes megfigyeléseink alapján választott két különböző napszakban detektáltuk, melynek során kitüntetett figyelmet fordítottunk azok ET-függésének feltárására. A gyors, napszak- és fényfüggő flg22 által indukált védelmi válaszreakciók vizsgálata mellett a későbbiekben kitértünk azok hosszútávú rezisztenciát biztosító hatásainak tanulmányozására is.

Munkánk során az alábbi, főbb következtetéseket állapíthatjuk meg:

1. A CHT kezelések intakt paradicsom növényekre gyakorolt hatásai napszak-, valamint fényfüggők, mivel hajnalban (5:00) kizárólag a fényszakasz végén (17:00) alkalmazott CHT kezelések gátolják a sztómák nyitódását, míg reggel (9:00) a hajnalban (4:00), illetve a fényszakasz kezdetén (8:00) kezelt növények sztómái záródnak szignifikánsan. Míg a zárósejtek ROS produkciója szoros korrelációt mutat az ekkor indukálódó sztómazáródással, a NO akkumulációja elsősorban délután (15:00) fokozódik.
2. A CHT a zárósejtekben reggel (9:00) csökkenti a PSII effektív kvantumhatásfokát (Φ_{PSII}), viszont az a mezofillum sejtekben hajnalban (5:00) esik vissza a kezeléseket követően.
3. Az *SIPRI* és *SIERF1* kifejeződése már hajnalban (5:00) is fokozódik, az *SIPRI* expressziójának maximumát azonban reggel (9:00) éri el a sötétszakasz kezdetén (21:00) történő CHT kezeléseket követően, mely a védekezési válaszok késleltetett, napszakfüggő indukcióját feltételezi. A mesterséges sötét környezetben tartott növényekben azonban gátlódik az *SIPRI* kifejeződése, mely a cirkadián reguláció mellett a fény alapvető szabályozó szerepét bizonyítja a CHT-indukálta rezisztencia kialakításában. A fényszakasz kezdetén (8:00) történő CHT kezeléseket követően

- az intakt paradicsom növények disztális leveleiben reggel (9:00) fokozott ROS és NO produkcióval, valamint *SIPRI* és *SIERF1* expresszióval kísért sztómazáródás figyelhető meg, mely alapján kijelenthető, hogy a CHT akár már 1 órán belül is képes a szisztémikus válasz indukciójára a korai fényperiódusban.
4. A fényciklus kezdetén (8:00) alkalmazva a CHT 1 órán belül lokálisan és szisztémikusan egyaránt fokozza az ET, valamint a O_2^- akkumulációját, azonban kizárólag a fényen tartott VT paradicsom növények levelében. A O_2^- produkciója viszont gátolt a sötétben, illetve az ET inszenzitív *Nr* mutánsokban, mely a CHT-indukálta lokális és szisztémikus védekezési válaszok fény-, illetve ET-függését feltételezi. A NO termelődése azonban független a fény jelenlététől, illetve az ET szignalizációtól a CHT kezeléseket követően, mivel mind a VT és a *Nr* növények lokális és szisztémikus leveleiben akkumulálódik a fényben, illetve a sötétben.
 5. A kitináz kódoló *SIPR3* expressziója szignifikánsan fokozódik lokálisan a fényszakasz kezdetén (8:00) alkalmazott CHT kezelése hatására a fény jelenlétében, mely a VT növényekben a disztális levelekre is kiterjed, valamint az a sötétben is megfigyelhető. Ezzel nagy hasonlóságot mutat a PR3 fehérje akkumulációja, azonban 1 órán belül a kitináz enzimek aktivitása még nem fokozódik.
 6. A CHT kezelés UPR kialakulását eredményezi paradicsom növényekben. A CHT mindössze 1 óra alatt szignifikánsan fokozza az ER chaperon *SIBiP* lokális expresszióját, valamint a BiP fehérje akkumulációját az ET szignalizációtól, valamint a fény jelenlététől függetlenül, kivéve a szisztémikus UPR-t, ami ET általi szabályozást mutatott.
 7. A flg22 elicitor által indukált gyors védekezési válaszok az intakt paradicsom növényekben eltérően indukálódnak a különböző napszakokban történő kezeléseket követően. A flg22 a fényperiódus végén (17:00) alkalmazva 1 óra elteltével szignifikánsan fokozza a H_2O_2 , valamint a NO lokális, míg a O_2^- szisztémikus akkumulációját a VT növényekben, azonban sem a sötétszakasz kezdetén alkalmazva (21:00), sem a *Nr* mutánsokban nem befolyásolja a szintjüket.
 8. A fényszakasz végén (17:00) történő flg22 kezelés 1 órán belül lokális ET, JA, valamint SA akkumulációt indukál, viszont a sötétszakaszban (21:00) alkalmazva nem fokozza a termelődésüket. A jelátvitelükben szerepet játszó *SIPRI*, *SIERF1* és *SIDEF* expressziója szintén napszak-, valamint ET-függő módon indukálódik a flg22 kezeléseket követően.

9. A VT növények disztális leveleiben a flg22 a fényszakasz végén (17:00) alkalmazva 1 óra alatt fokozza az *SlERF1*, valamint az *SlDEF* kifejeződését, továbbá sztómazáródást indukál, mely az ET esszenciális szerepét bizonyítja a flg22-indukálta gyors szisztemikus válaszok kialakulásában a fényperiódus végén.
10. A flg22 sem a fényszakasz végén (17:00), sem a sötétszakasz kezdetén (21:00) alkalmazva nem befolyásolja másnap reggel (9:00) a klorofill fluoreszcencia indukciós paramétereket az intakt paradicsom növények mezofillum sejtjeiben, viszont a délutáni (17:00) kezeléseket követően a következő fényperiódus kezdetén (9:00) jelentősen csökken a Φ_{PSII} , valamint a fotokémiai kioltás (qP) a lokális és szisztemikus levelek zárósejtjeiben.
11. A fényperiódus végén (17:00) történő flg22 kezelés másnap reggel (9:00) fokozza a ROS, valamint NO produkcióját a sztómákban, mely hozzájárul a lokális és szisztemikus sztómazáródáshoz, valamint a CO₂ asszimiláció csökkenéséhez a növényekben.
12. A flg22 által indukált hosszútávú szignalizációs folyamatok napszakfüggésük mellett az ET szabályozása alatt állnak, mivel a *Nr* mutánsokban nem indukálódik ROS és NO akkumuláció, melynek következtében a sztómák sem záródnak.

8. Summary

The aim of our work was to investigate the daytime-dependent effects of the fungal elicitor chitosan (CHT) on the local and systemic defence responses of intact tomato plants. Besides examining the circadian regulation of various physiological and molecular changes, we aimed to better understand their direct, light-derived as well as ethylene (ET)-dependent regulation, by studying ET insensitive *Never ripe* (*Nr*) mutant tomato plants. Further, in the second half of our work, we detected the local and systemic effects of the bacterial microbe-associated molecular pattern (MAMP) flagellin22 (flg22) at two different time points of the day based on our preliminary observations, especially their ET dependence. In addition to investigate the rapid, time-of-day- and light-dependent flg22-induced defence progression, their effects on providing long-term resistance were also analysed.

In the course of our work, the following main conclusions were established:

1. The effects of CHT treatments were daytime- and light-dependent, as at dawn (5:00 a.m.) only CHT treatments applied at the end of the light period (5:00 p.m.) inhibited the opening of stomata, while in the morning (9:00 a.m.) the stomata of the plants were significantly closed following treatments at dawn (4:00 a.m.) and at the beginning of the light period (8:00 a.m.). Whereas the production of reactive oxygen species (ROS) in guard cells showed a strong correlation with stomatal closure induced by CHT at this time, nitric oxide (NO) accumulation was increased primarily in the afternoon (3:00 p.m.).
2. CHT decreased the effective quantum efficacy of PSII (Φ_{PSII}) of the guard cells in the morning (9:00 a.m.), however, it declined in the mesophyll cells at dawn (5:00 a.m.) following the treatments.
3. The relative transcript accumulation of *SIPRI* and *SIERFI* started to increase at dawn (5:00 a.m.), but the maximal expression of *SIPRI* was reached in the morning (9:00 a.m.) after CHT treatments at the beginning of the dark period (9:00 p.m.), which denotes the delayed, circadian-regulated induction of defence responses. At the same time, *SIPRI* expression was inhibited in plants kept in artificial dark conditions, demonstrating the fundamental regulatory role of light in the development of CHT-induced resistance in addition to their circadian control.

Interestingly, within 1 hour following CHT treatments at the beginning of the light period (8:00 a.m.) rapid stomatal closure was observed in the distal leaves of intact tomato plants accompanied by elevated ROS and NO production as well as increased *SIPRI* and *SIERF1* expressions indicating that CHT was able to induce systemic defence responses within 1 hour at the first part of the light period.

4. When applied at the beginning of the light cycle (8:00 a.m.), CHT increased the accumulation of ET and superoxide radical (O_2^-) both locally and systemically within 1 hour, but only in the leaves of wild type (WT) tomato plants kept under light, whereas their production was inhibited in the dark as well as in the ET insensitive *Nr* mutants, suggesting the light- and ET-dependence of CHT-induced local and systemic defence responses. However, the production of NO was independent of the presence of light and ET signalling after CHT treatments, as it accumulated in the local and systemic leaves of both WT and *Nr* plants in the light and dark, respectively.
5. The expression of *SIPR3* encoding chitinase was significantly increased locally by CHT applied at the beginning of the light period (8:00 a.m.) in the presence of light, which also extended to the distal, untreated leaves of WT plants, moreover it was observable in the leaves of WT plants kept in dark. The accumulation of PR3 protein strongly correlated with the increased *SIPR3* expression, however, the activity of chitinase enzymes did not increase within 1 hour.
6. The application of CHT resulted in the development of ER stress and unfolded protein response (UPR) in tomato plants. CHT significantly increased locally the expression of the ER chaperone *SiBiP*, as well as the accumulation of BiP protein just in 1 hour, independently of the ET signalling or the presence of light, however, the establishment of systemic UPR was regulated by ET.
7. Rapid defence responses triggered by the bacterial elicitor flg22 were induced differently in intact tomato plants after treatments at distinct daytimes. When applied at the end of the light period (5:00 p.m.), flg22 in 1 hour significantly increased the local H_2O_2 and NO, moreover the systemic O_2^- accumulation in the leaves of intact WT tomato plants, but neither at the beginning of the dark period (9:00 p.m.) nor in the *Nr* mutants affected their levels.
8. Treatment with flg22 at the end of the light period (5:00 p.m.) induced local ET, jasmonic acid (JA) and salicylic acid (SA) accumulation within 1 hour, but did not increase their production when applied in the dark period (9:00 p.m.).

The expression of *SIPRI*, *SIERF1* and *SIDEF*, which were involved in these hormonal signalling networks were also induced in a daytime- and ET-dependent manner upon flg22 treatment.

9. In the distal leaves of WT plants, flg22 applied at the end of the light period (5:00 p.m.) enhanced *SIERF1* and *SIDEF* expressions within 1 h as well as induced stomatal closure, demonstrating the pivotal role of ET in the development of flg22-induced rapid systemic responses at the end of the light period.
10. Flg22 treatments neither at the end of the light cycle (5:00 p.m.), nor at the beginning of the dark period (9:00 p.m.) affected the chlorophyll fluorescence induction parameters of the mesophyll cells of intact tomato plants in the next morning (9:00 a.m.), but applied in the afternoon (5:00 p.m.), or in the next morning (9:00 a.m.) significantly reduced the Φ_{PSII} and photochemical quenching (qP) of the guard cells of both local and systemic leaves of intact tomato plants.
11. Treatment with flg22 at the end of the light period (5:00 p.m.) increased ROS and NO production of stomata in the next morning (9:00 a.m.), which contributed to the local and systemic stomatal closure thus leading to the decrease of CO₂ assimilation.
12. In addition to their daytime dependence, flg22-induced long-term signalling processes were regulated by ET, as ROS and NO accumulation were not induced in *Nr* mutants, preventing stomatal closure.

9. Irodalomjegyzék

- Abat, J. K., Deswal, R. (2009). Differential modulation of *S*-nitrosoproteome of *Brassica juncea* by low temperature: change in *S*-nitrosylation of Rubisco is responsible for the inactivation of its carboxylase activity. *Proteomics*, 9(18), 4368-4380.
- Abeles, F. B., Morgan, P. W., Saltveit Jr, M. E. (2012). *Ethylene in Plant Biology*. Academic press.
- Afrin, T., Diwan, D., Sahawneh, K., Pajeroska-Mukhtar, K. (2020). Multilevel regulation of endoplasmic reticulum stress responses in plants: Where old roads and new paths meet. *Journal of Experimental Botany*, 71(5), 1659-1667.
- Aldon, D., Mbengue, M., Mazars, C., Galaud, J. P. (2018). Calcium signalling in plant biotic interactions. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(3), 665.
- Alexander, D., Goodman, R. M., Gut-Rella, M., Glascock, C., Weymann, K., Friedrich, L., Maddox, D., Ahl-Goy, P., Luntz, T., Ward, E. (1993). Increased tolerance to two oomycete pathogens in transgenic tobacco expressing pathogenesis-related protein 1a. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90(15), 7327-7331.
- Ali, S., Ganai, B. A., Kamili, A. N., Bhat, A. A., Mir, Z. A., Bhat, J. A., Tyagi, A., Islam, S. T., Mushtaq, M., Yadav, P., Rawat, S., Grover, A. (2018). Pathogenesis-related proteins and peptides as promising tools for engineering plants with multiple stress tolerance. *Microbiological Research*, 212, 29-37.
- Ali, S., Mir, Z. A., Tyagi, A., Bhat, J. A., Chandrashekar, N., Papolu, P. K., Rawat, S., Grover, A. (2017). Identification and comparative analysis of *Brassica juncea* pathogenesis-related genes in response to hormonal, biotic and abiotic stresses. *Acta Physiologiae Plantarum*, 39(12), 1-15.
- Amborabé, B. E., Bonmort, J., Fleurat-Lessard, P., Roblin, G. (2008). Early events induced by chitosan on plant cells. *Journal of Experimental Botany*, 59(9), 2317-2324.
- Anderson, J. P., Gleason, C. A., Foley, R. C., Thrall, P. H., Burdon, J. B., Singh, K. B. (2010). Plants versus pathogens: an evolutionary arms race. *Functional Plant Biology*, 37(6), 499-512.
- Anfang, M., Shani, E. (2021). Transport mechanisms of plant hormones. *Current Opinion in Plant Biology*, 63, 102055.
- Atia, M. M. M., Buchenauer, H., Aly, A. Z., Abou-Zaid, M. I. (2005). Antifungal activity of chitosan against *Phytophthora infestans* and activation of defence mechanisms in tomato to late blight. *Biological Agriculture & Horticulture*, 23(2), 175-197.
- Ausubel, F. M. (2005). Are innate immune signaling pathways in plants and animals conserved? *Nature Immunology*, 6(10), 973-979.
- Aziz, A., Trostel-Aziz, P., Dhuicq, L., Jeandet, P., Couderchet, M., Vernet, G. (2006). Chitosan oligomers and copper sulfate induce grapevine defense reactions and resistance to gray mold and downy mildew. *Phytopathology*, 96(11), 1188-1194.
- Bae, G., Choi, G. (2008). Decoding of light signals by plant phytochromes and their interacting proteins. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 281-311.
- Bai, Y., Rottwinkel, G., Feng, J., Liu, Y., Lamparter, T. (2016). Bacteriophytochromes control conjugation in *Agrobacterium fabrum*. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 161, 192-199.
- Ballaré, C. L. (2014). Light regulation of plant defense. *Annual Review of Plant Biology*, 65, 335-363.
- Baxter, A., Mittler, R., Suzuki, N. (2014). ROS as key players in plant stress signalling. *Journal of Experimental Botany*, 65(5), 1229-1240.
- Bao, Y., Howell, S. H. (2017). The unfolded protein response supports plant development and defense as well as responses to abiotic stress. *Frontiers in Plant Science*, 8, 344.
- Beck, M., Wyrsh, I., Strutt, J., Wimalasekera, R., Webb, A., Boller, T., Robatzek, S. (2014). Expression patterns of *FLAGELLIN SENSING 2* map to bacterial entry sites in plant shoots and roots. *Journal of Experimental Botany*, 65(22), 6487-6498.
- Bednarek, P., Osbourn, A. (2009). Plant-microbe interactions: chemical diversity in plant defense. *Science*, 324(5928), 746-748.
- Ben-Shalom, N., Ardi, R., Pinto, R., Aki, C., Fallik, E. (2003). Controlling gray mould caused by *Botrytis cinerea* in cucumber plants by means of chitosan. *Crop Protection*, 22(2), 285-290.
- Berger, S., Sinha, A. K., Roitsch, T. (2007). Plant physiology meets phytopathology: plant primary metabolism and plant-pathogen interactions. *Journal of Experimental Botany*, 58(15-16), 4019-4026.
- Bernsdorff, F., Döring, A. C., Gruner, K., Schuck, S., Bräutigam, A., Zeier, J. (2016). Pipecolic acid orchestrates plant systemic acquired resistance and defense priming via salicylic acid-dependent and-independent pathways. *The Plant Cell*, 28(1), 102-129.
- Berrocal-Lobo, M., Molina, A. (2004). Ethylene response factor 1 mediates *Arabidopsis* resistance to the soilborne fungus *Fusarium oxysporum*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 17(7), 763-770.

- Bethke, G., Unthan, T., Uhrig, J. F., Pöschl, Y., Gust, A. A., Scheel, D., Lee, J. (2009). Flg22 regulates the release of an ethylene response factor substrate from MAP kinase 6 in *Arabidopsis thaliana* via ethylene signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(19), 8067-8072.
- Bhattarai, K., Louws, F. J., Williamson, J. D., Panthee, D. R. (2016). Differential response of tomato genotypes to *Xanthomonas*-specific pathogen-associated molecular patterns and correlation with bacterial spot (*Xanthomonas perforans*) resistance. *Horticulture research*, 3.
- Bigeard, J., Colcombet, J., Hirt, H. (2015). Signaling mechanisms in pattern-triggered immunity (PTI). *Molecular Plant*, 8(4), 521-539.
- Bilgin, D. D., Zavala, J. A., Zhu, J. I. N., Clough, S. J., Ort, D. R., DeLucia, E. H. (2010). Biotic stress globally downregulates photosynthesis genes. *Plant, Cell & Environment*, 33(10), 1597-1613.
- Binder, B. M. (2020). Ethylene signaling in plants. *Journal of Biological Chemistry*, 295(22), 7710-7725.
- Birkenbihl, R. P., Kracher, B., Roccaro, M., Somssich, I. E. (2017). Induced genome-wide binding of three *Arabidopsis* WRKY transcription factors during early MAMP-triggered immunity. *The Plant Cell*, 29(1), 20-38.
- Bittel, P., Robatzek, S. (2007). Microbe-associated molecular patterns (MAMPs) probe plant immunity. *Current Opinion in Plant Biology*, 10(4), 335-341.
- Blacutt, A. A., Gold, S. E., Voss, K. A., Gao, M., Glenn, A. E. (2018). *Fusarium verticillioides*: Advancements in understanding the toxicity, virulence, and niche adaptations of a model mycotoxigenic pathogen of maize. *Phytopathology*, 108(3), 312-326.
- Block, A., Schmelz, E., O'Donnell, P. J., Jones, J. B., Klee, H. J. (2005). Systemic acquired tolerance to virulent bacterial pathogens in tomato. *Plant Physiology*, 138(3), 1481-1490.
- Boller, T. (2018). Ethylene in pathogenesis and disease resistance. In *The Plant Hormone Ethylene* (pp. 293-314). CRC press.
- Boller, T., Felix, G. (2009). A renaissance of elicitors: perception of microbe-associated molecular patterns and danger signals by pattern-recognition receptors. *Annual Review of Plant Biology*, 60, 379-406.
- Bolton, M. D. (2009). Primary metabolism and plant defense—fuel for the fire. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 22(5), 487-497.
- Bonfig, K. B., Schreiber, U., Gabler, A., Roitsch, T., Berger, S. (2006). Infection with virulent and avirulent *P. syringae* strains differentially affects photosynthesis and sink metabolism in *Arabidopsis* leaves. *Planta*, 225(1), 1-12.
- Bonomi, H. R., Toum, L., Sycz, G., Sieira, R., Toscani, A. M., Gudesblat, G. E., Leskow, F. C., Goldbaum, F. A., Vojnov, A. A., Malamud, F. (2016). *Xanthomonas campestris* attenuates virulence by sensing light through a bacteriophytochrome photoreceptor. *EMBO Reports*, 17(11), 1565-1577.
- Booker, M. A., DeLong, A. (2015). Producing the ethylene signal: regulation and diversification of ethylene biosynthetic enzymes. *Plant Physiology*, 169(1), 42-50.
- Borbély, P., Bajkán, S., Poór, P., Tari, I. (2019). Exogenous 1-aminocyclopropane-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*, 38(3), 1110-1126.
- Borbély, P., Poór, P., Tari, I. (2020). Changes in physiological and photosynthetic parameters in tomato of different ethylene status under salt stress: Effects of kigenous 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid treatment and the inhibition of ethylene signalling. *Plant Physiology and Biochemistry*, 156, 345-356.
- Boutrot, F., Segonzac, C., Chang, K. N., Qiao, H., Ecker, J. R., Zipfel, C., Rathjen, J. P. (2010). Direct transcriptional control of the *Arabidopsis* immune receptor FLS2 by the ethylene-dependent transcription factors EIN3 and EIL1. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(32), 14502-14507.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
- Breen, S., Williams, S. J., Outram, M., Kobe, B., Solomon, P. S. (2017). Emerging insights into the functions of pathogenesis-related protein 1. *Trends in Plant Science*, 22(10), 871-879.
- Bright, J., Desikan, R., Hancock, J. T., Weir, I. S., Neill, S. J. (2006). ABA-induced NO generation and stomatal closure in *Arabidopsis* are dependent on H₂O₂ synthesis. *The Plant Journal*, 45(1), 113-122.
- Brody, S. (2019). Circadian rhythms in fungi: structure/function/evolution of some clock components. *Journal of Biological Rhythms*, 34(4), 364-379.
- Broekgaarden, C., Caarls, L., Vos, I. A., Pieterse, C. M., Van Wees, S. C. (2015). Ethylene: traffic controller on hormonal crossroads to defense. *Plant Physiology*, 169(4), 2371-2379.
- Brulé, D., Villano, C., Davies, L. J., Trdá, L., Claverie, J., Héloir, M. C., Chiltz, A., Adrian, M., Darblade, B., Tornero, P., Stransfeld, L., Boutrot, F., Zipfel, C., Dry, I. B., Poinssot, B. (2019). The grapevine (*Vitis vinifera*) LysM receptor kinases Vv LYK 1-1 and Vv LYK 1-2 mediate chitoooligosaccharide-triggered immunity. *Plant Biotechnology Journal*, 17(4), 812-825.

- Butt, G. R., Qayyum, Z. A., Jones, M. A. (2020). Plant defence mechanisms are modulated by the circadian system. *Biology*, 9(12), 454.
- Byczkowska, A., Kunikowska, A., Kaźmierczak, A. (2013). Determination of ACC-induced cell-programmed death in roots of *Vicia faba* ssp. *minor* seedlings by acridine orange and ethidium bromide staining. *Protoplasma*, 250(1), 121-128.
- Caires, N. P., Rodrigues, F. A., Furtado, G. Q. (2015). Infection process of *Botrytis cinerea* on eucalypt leaves. *Journal of Phytopathology*, 163(7-8), 604-611.
- Camejo, D., Guzmán-Cedeño, Á., Moreno, A. (2016). Reactive oxygen species, essential molecules, during plant-pathogen interactions. *Plant Physiology and Biochemistry*, 103, 10-23.
- Caplan, J., Padmanabhan, M., Dinesh-Kumar, S. P. (2008). Plant NB-LRR immune receptors: from recognition to transcriptional reprogramming. *Cell Host & Microbe*, 3(3), 126-135.
- Caplan, J. L., Kumar, A. S., Park, E., Padmanabhan, M. S., Hoban, K., Modla, S., Czymmek, K., Dinesh-Kumar, S. P. (2015). Chloroplast stromules function during innate immunity. *Developmental Cell*, 34(1), 45-57.
- Carmona, S. L., del Pilar Villarreal-Navarrete, A., Burbano-David, D., Gómez-Marroquín, M., Torres-Rojas, E., Soto-Suárez, M. (2020). Boosting photosynthetic machinery and defense priming with chitosan application on tomato plants infected with *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *bioRxiv*.
- Carvalho, H. H., Silva, P. A., Mendes, G. C., Brustolini, O. J., Pimenta, M. R., Gouveia, B. C., Valente, M. A. S., Ramos, H. J. O., Soares-Ramos, J. R. L., Fontes, E. P. B. (2014). The endoplasmic reticulum binding protein BiP displays dual function in modulating cell death events. *Plant Physiology*, 164(2), 654-670.
- Carvalho, S. D., Castillo, J. A. (2018). Influence of light on plant-phylosphere interaction. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1482.
- Castagna, A., Ederli, L., Pasqualini, S., Mensuali-Sodi, A., Baldan, B., Donnini, S., Ranieri, A. (2007). The tomato ethylene receptor LE-ETR3 (NR) is not involved in mediating ozone sensitivity: causal relationships among ethylene emission, oxidative burst and tissue damage. *New Phytologist*, 174(2), 342-356.
- Cataldo, E., Fucile, M., Mattii, G. B. (2022). Biostimulants in Viticulture: A Sustainable Approach against Biotic and Abiotic Stresses. *Plants*, 11(2), 162.
- Cecchini, N. M., Steffes, K., Schläppi, M. R., Gifford, A. N., Greenberg, J. T. (2015). *Arabidopsis* AZI1 family proteins mediate signal mobilization for systemic defence priming. *Nature Communications*, 6(1), 1-12.
- Cecchini, N. M., Speed, D. J., Roychoudhry, S., Greenberg, J. T. (2021). Kinases and protein motifs required for AZI1 plastid localization and trafficking during plant defense induction. *The Plant Journal*, 105(6), 1615-1629.
- Cejudo, F. J., Ojeda, V., Delgado-Requerey, V., González, M., Pérez-Ruiz, J. M. (2019). Chloroplast redox regulatory mechanisms in plant adaptation to light and darkness. *Frontiers in Plant Science*, 10, 380.
- Cerrudo, I., Keller, M. M., Cargnel, M. D., Demkura, P. V., de Wit, M., Patitucci, M. S., Pierik, R., Pieterse, C. M. J., Ballaré, C. L. (2012). Low red/far-red ratios reduce *Arabidopsis* resistance to *Botrytis cinerea* and jasmonate responses via a COI1-JAZ10-dependent, salicylic acid-independent mechanism. *Plant Physiology*, 158(4), 2042-2052.
- Chaitanya, K. K., Naithani, S. C. (1994). Role of superoxide, lipid peroxidation and superoxide dismutase in membrane perturbation during loss of viability in seeds of *Shorea robusta* Gaertn. f. *New Phytologist*, 126(4), 623-627.
- Chan, C., Zimmerli, L. (2019). The histone demethylase IBM1 positively regulates *Arabidopsis* immunity by control of defense gene expression. *Frontiers in Plant Science*, 1587.
- Chanda, B., Xia, Y. E., Mandal, M. K., Yu, K., Sekine, K. T., Gao, Q. M., Selote, D., Hu, Y., Stromberg, A., Navarre, D., Kachroo, A., Kachroo, P. (2011). Glycerol-3-phosphate is a critical mobile inducer of systemic immunity in plants. *Nature Genetics*, 43(5), 421-427.
- Chandra, S., Chakraborty, N., Panda, K., Acharya, K. (2017). Chitosan-induced immunity in *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze against blister blight disease is mediated by nitric-oxide. *Plant Physiology and Biochemistry*, 115, 298-307.
- Chandra-Shekara, A. C., Gupte, M., Navarre, D., Raina, S., Raina, R., Klessig, D., Kachroo, P. (2006). Light-dependent hypersensitive response and resistance signaling against Turnip Crinkle Virus in *Arabidopsis*. *The Plant Journal*, 45(3), 320-334.
- Chang, X., Seo, M., Takebayashi, Y., Kamiya, Y., Riemann, M., Nick, P. (2017). Jasmonates are induced by the PAMP flg22 but not the cell death-inducing elicitor Harpin in *Vitis rupestris*. *Protoplasma*, 254(1), 271-283.
- Chen, H. P., Xu, L. L. (2005). Isolation and characterization of a novel chitosan-binding protein from non-heading Chinese cabbage leaves. *Journal of Integrative Plant Biology*, 47(4), 452-456.

- Chen, L., Zhang, Z., Liang, H., Liu, H., Du, L., Xu, H., Xin, Z. (2008). Overexpression of *TiERF1* enhances resistance to sharp eyespot in transgenic wheat. *Journal of Experimental Botany*, 59(15), 4195-4204.
- Chen, H., Xue, L., Chintamanani, S., Germain, H., Lin, H., Cui, H., Cai, R., Zuo, J., Tang, X., Li, X., Guo, H., Zhou, J. M. (2009). ETHYLENE INSENSITIVE3 and ETHYLENE INSENSITIVE3-LIKE1 repress *SALICYLIC ACID INDUCTION DEFICIENT2* expression to negatively regulate plant innate immunity in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 21(8), 2527-2540.
- Chen, Y. C., Holmes, E. C., Rajniak, J., Kim, J. G., Tang, S., Fischer, C. R., Mudgett, M. B., Sattely, E. S. (2018a). N-hydroxy-pipecolic acid is a mobile metabolite that induces systemic disease resistance in *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(21), E4920-E4929.
- Chen, X. L., Xie, X., Wu, L., Liu, C., Zeng, L., Zhou, X., Luo, F., Wang, G. L., Liu, W. (2018b). Proteomic analysis of ubiquitinated proteins in rice (*Oryza sativa*) after treatment with pathogen-associated molecular pattern (PAMP) elicitors. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1064.
- Cheng, Q., Zhou, Y., Liu, Z., Zhang, L., Song, G., Guo, Z., Wang, W., Qu, X., Zhu, Y., Yang, D. (2015). An alternatively spliced heat shock transcription factor, *OsHSA2d1*, functions in the heat stress-induced unfolded protein response in rice. *Plant Biology*, 17(2), 419-429.
- Cheng, D. D., Zhang, Z. S., Sun, X. B., Zhao, M., Sun, G. Y., Chow, W. S. (2016). Photoinhibition and photoinhibition-like damage to the photosynthetic apparatus in tobacco leaves induced by *Pseudomonas syringae* pv. *Tabaci* under light and dark conditions. *BMC Plant Biology*, 16(1), 1-11.
- Cheong, K. K., Strub, C., Montet, D., Durand, N., Alter, P., Meile, J. C., Galindo, S. S., Fontana, A. (2016). Effect of different light wavelengths on the growth and ochratoxin A production in *Aspergillus carbonarius* and *Aspergillus westerdijkiae*. *Fungal Biology*, 120(5), 745-751.
- Chinchilla, D., Bauer, Z., Regenass, M., Boller, T., Felix, G. (2006). The *Arabidopsis* receptor kinase FLS2 binds flg22 and determines the specificity of flagellin perception. *The Plant Cell*, 18(2), 465-476.
- Chomczynski, P., Sacchi, N. (2006). The single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction: twenty-something years on. *Nature Protocols*, 1(2), 581-585.
- Ciardì, J. A., Tieman, D. M., Lund, S. T., Jones, J. B., Stall, R. E., Klee, H. J. (2000). Response to *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in tomato involves regulation of ethylene receptor gene expression. *Plant Physiology*, 123(1), 81-92.
- Ciarroni, S., Clarke, C. R., Liu, H., Eckshtain-Levi, N., Mazzaglia, A., Balestra, G. M., Vinatzer, B. A. (2018). A recombinant flagellin fragment, which includes the epitopes flg22 and flgII-28, provides a useful tool to study flagellin-triggered immunity. *Journal of General Plant Pathology*, 84(3), 169-175.
- Clay, N. K., Adio, A. M., Denoux, C., Jander, G., Ausubel, F. M. (2009). Glucosinolate metabolites required for an *Arabidopsis* innate immune response. *Science*, 323(5910), 95-101.
- Cordelier, S., De Ruffray, P., Fritig, B., Kauffmann, S. (2003). Biological and molecular comparison between localized and systemic acquired resistance induced in tobacco by a *Phytophthora megasperma* glycoprotein elicitor. *Plant Molecular Biology*, 51(1), 109-118.
- Corpas, F. J., Carreras, A., Valderrama, R., Chaki, M., Palma, J. M., del Río, L. A., Barroso, J. B. (2007). Reactive nitrogen species and nitrosative stress in plants. *Plant Stress*, 1, 37-41.
- Corpas, F. J., Alché, J. D. D., Barroso, J. B. (2013). Current overview of S-nitrosoglutathione (GSNO) in higher plants. *Frontiers in Plant Science*, 4, 126.
- Corsi, B., Riccioni, L., Forni, C. (2015). In vitro cultures of *Actinidia deliciosa* (A. Chev) CF Liang & AR Ferguson: A tool to study the SAR induction of chitosan treatment. *Organic Agriculture*, 5(3), 189-198.
- Courbier, S., Grevink, S., Sluijs, E., Bonhomme, P. O., Kajala, K., Van Wees, S. C., Pierik, R. (2020). Far-red light promotes *Botrytis cinerea* disease development in tomato leaves via jasmonate-dependent modulation of soluble sugars. *Plant, Cell & Environment*, 43(11), 2769-2781.
- Couto, D., Zipfel, C. (2016). Regulation of pattern recognition receptor signalling in plants. *Nature Reviews Immunology*, 16(9), 537-552.
- Cruz, A. B., Bianchetti, R. E., Alves, F. R. R., Purgatto, E., Peres, L. E. P., Rossi, M., Freschi, L. (2018). Light, ethylene and auxin signaling interaction regulates carotenoid biosynthesis during tomato fruit ripening. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1370.
- Czarnocka, W., & Karpiński, S. (2018). Friend or foe? Reactive oxygen species production, scavenging and signaling in plant response to environmental stresses. *Free Radical Biology and Medicine*, 122, 4-20.
- De Bona, G. S., Vincenzi, S., De Marchi, F., Angelini, E., Bertazzon, N. (2021). Chitosan induces delayed grapevine defense mechanisms and protects grapevine against *Botrytis cinerea*. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 128(3), 715-724.
- de Torres Zabala, M., Littlejohn, G., Jayaraman, S., Studholme, D., Bailey, T., Lawson, T., Tillich, M., Licht, D., Bölter, B., Delfino, L., Truman, W., Mansfield, J., Smirnov, N., Grant, M. (2015). Chloroplasts play a central role in plant defence and are targeted by pathogen effectors. *Nature Plants*, 1(6), 1-10.

- Delormel, T., Boudsocq, M. (2019). Properties and functions of calcium-dependent protein kinases and their relatives in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytologist*, 224(2), 585-604.
- Delprato, M. L., Krapp, A. R., Carrillo, N. (2015). Green light to plant responses to pathogens: the role of chloroplast light-dependent signaling in biotic stress. *Photochemistry and Photobiology*, 91(5), 1004-1011.
- Demarsy, E., Goldschmidt-Clermont, M., Ulm, R. (2018). Coping with 'dark sides of the sun' through photoreceptor signaling. *Trends in Plant Science*, 23(3), 260-271.
- Demkura, P. V., Ballaré, C. L. (2012). UVR8 mediates UV-B-induced *Arabidopsis* defense responses against *Botrytis cinerea* by controlling sinapate accumulation. *Molecular Plant*, 5(3), 642-652.
- Deng, Y., Srivastava, R., Howell, S. H. (2013). Endoplasmic reticulum (ER) stress response and its physiological roles in plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(4), 8188-8212.
- Denoux, C., Galletti, R., Mammarella, N., Gopalan, S., Werck, D., De Lorenzo, G., Ferrari, S., Ausubel, F. M., Dewdney, J. (2008). Activation of defense response pathways by OGs and Flg22 elicitors in *Arabidopsis* seedlings. *Molecular Plant*, 1(3), 423-445.
- Depaepe, T., Hendrix, S., van Rensburg, H. C. J., Van den Ende, W., Cuypers, A., Van Der Straeten, D. (2021). At the crossroads of survival and death: The reactive oxygen species–ethylene–sugar triad and the unfolded protein response. *Trends in Plant Science*, 26(4), 338-351.
- Desaki, Y., Kohari, M., Shibuya, N., Kaku, H. (2019). MAMP-triggered plant immunity mediated by the LysM-receptor kinase CERK1. *Journal of General Plant Pathology*, 85(1), 1-11.
- Desikan, R., Griffiths, R., Hancock, J., Neill, S. (2002). A new role for an old enzyme: nitrate reductase-mediated nitric oxide generation is required for abscisic acid-induced stomatal closure in *Arabidopsis thaliana*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(25), 16314-16318.
- Desikan, R., Last, K., Harrett-Williams, R., Tagliavia, C., Harter, K., Hooley, R., Hancock, J. T., Neill, S. J. (2006). Ethylene-induced stomatal closure in *Arabidopsis* occurs via AtrbohF-mediated hydrogen peroxide synthesis. *The Plant Journal*, 47(6), 907-916.
- Devireddy, A. R., Liscum, E., Mittler, R. (2020a). Phytochrome B is required for systemic stomatal responses and reactive oxygen species signaling during light stress. *Plant Physiology*, 184(3), 1563-1572.
- Devireddy, A. R., Arbogast, J., Mittler, R. (2020b). Coordinated and rapid whole-plant systemic stomatal responses. *New Phytologist*, 225(1).
- Dey, S., Wenig, M., Langen, G., Sharma, S., Kugler, K. G., Knappe, C., Hause, B., Bichlmeier, M., Babaeizad, V., Imani, J., Janzik, I., Stempf, T., Hückelhoven, R., Kogel, K. H., Mayer, K. F. X., Vlot, A. C. (2014). Bacteria-triggered systemic immunity in barley is associated with WRKY and ETHYLENE RESPONSIVE FACTORS but not with salicylic acid. *Plant Physiology*, 166(4), 2133-2151.
- Díaz-Martínez, J. M., Aispuro-Hernández, E., Vargas-Arispuro, I., Falcón-Rodríguez, A. B., Martínez-Téllez, M. Á. (2018). Chitosan derivatives induce local and distal expression of defence-related genes in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. *Agrociencia*, 52(4), 497-509.
- Ding, Y., Sun, T., Ao, K., Peng, Y., Zhang, Y., Li, X., Zhang, Y. (2018). Opposite roles of salicylic acid receptors NPR1 and NPR3/NPR4 in transcriptional regulation of plant immunity. *Cell*, 173(6), 1454-1467.
- Dodd, A. N., Salathia, N., Hall, A., Kévei, E., Tóth, R., Nagy, F., Hibberd, J. M., Millar, A. J., Webb, A. A. (2005). Plant circadian clocks increase photosynthesis, growth, survival, and competitive advantage. *Science*, 309(5734), 630-633.
- Dodds, P. N., Rathjen, J. P. (2010). Plant immunity: towards an integrated view of plant–pathogen interactions. *Nature Reviews Genetics*, 11(8), 539-548.
- Dong, W., Buck, J. W. (2011). Effect of light on in vivo urediniospore germination, lesion development and sporulation of *Puccinia hemerocallidis* on daylily and *Puccinia pelargonizonalis* on geranium. *Mycologia*, 103(6), 1277-1283.
- Dong, L., Cheng, Y., Wu, J., Cheng, Q., Li, W., Fan, S., Jiang, L., Xu, Z., Kong, F., Zhang, D., Xu, P., Zhang, S. (2015). Overexpression of *GmERF5*, a new member of the soybean EAR motif-containing ERF transcription factor, enhances resistance to *Phytophthora sojae* in soybean. *Journal of Experimental Botany*, 66(9), 2635-2647.
- Dreischhoff, S., Das, I. S., Jakobi, M., Kasper, K., Polle, A. (2020). Local responses and systemic induced resistance mediated by ectomycorrhizal fungi. *Frontiers in Plant Science*, 1908.
- Dubiella, U., Seybold, H., Durian, G., Komander, E., Lassig, R., Witte, C. P., Schulze, W. X., Romeis, T. (2013). Calcium-dependent protein kinase/NADPH oxidase activation circuit is required for rapid defense signal propagation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(21), 8744-8749.

- Dubin, A., Likhanov, A., Klyachenko, O., Subin, A., Kluvadenko, A. (2020). Effect of chitosan formulations of different biological origin on tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) PR-genes expression. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 9(6), 1141-1144.
- Dubois, M., Van den Broeck, L., Inzé, D. (2018). The pivotal role of ethylene in plant growth. *Trends in Plant Science*, 23(4), 311-323.
- Edreva, A. (2005). Pathogenesis-related proteins: research progress in the last 15 years. *General and Applied Plant Physiology*, 31(1-2), 105-24.
- Eichstädt, B., Lederer, S., Trempel, F., Jiang, X., Guerra, T., Waadt, R., Lee, J., Liese, A., Romeis, T. (2021). Plant Immune Memory in Systemic Tissue Does Not Involve Changes in Rapid Calcium Signaling. *Frontiers in Plant Science*, 12, 798230-798230.
- El Gueddari, N. E., Rauchhaus, U., Moerschbacher, B. M., Deising, H. B. (2002). Developmentally regulated conversion of surface-exposed chitin to chitosan in cell walls of plant pathogenic fungi. *New Phytologist*, 156(1), 103-112.
- El Hadrami, A., Adam, L. R., El Hadrami, I., Daayf, F. (2010). Chitosan in plant protection. *Marine Drugs*, 8(4), 968-987.
- El-Esawi, M., Arthaut, L. D., Jourdan, N., d'Harlingue, A., Link, J., Martino, C. F., Ahmad, M. (2017). Blue-light induced biosynthesis of ROS contributes to the signaling mechanism of *Arabidopsis* cryptochrome. *Scientific Reports*, 7(1), 1-9.
- El-Garhy, H. A., Abdel-Rahman, F. A., Shams, A. S., Osman, G. H., Moustafa, M. (2020). Comparative analyses of four chemicals used to control black mold disease in tomato and its effects on defense signaling pathways, productivity and quality traits. *Plants*, 9(7), 808.
- Escobar Bravo, R., Chen, G., Grosser, K., Van Dam, N. M., Leiss, K. A., Klinkhamer, P. G. (2019). Ultraviolet radiation enhances salicylic acid-mediated defense signaling and resistance to *Pseudomonas syringae* DC3000 in a jasmonic acid-deficient tomato mutant. *Plant Signaling & Behavior*, 14(4), e1581560.
- Falcioni, T., Ferrio, J. P., Del Cueto, A. I., Giné, J., Achón, M. Á., Medina, V. (2014). Effect of salicylic acid treatment on tomato plant physiology and tolerance to potato virus X infection. *European Journal of Plant Pathology*, 138(2), 331-345.
- Faoro, F., Maffi, D., Cantu, D., Iriti, M. (2008). Chemical-induced resistance against powdery mildew in barley: the effects of chitosan and benzothiadiazole. *Biocontrol*, 53(2), 387-401.
- Felix, G., Duran, J. D., Volko, S., Boller, T. (1999). Plants have a sensitive perception system for the most conserved domain of bacterial flagellin. *The Plant Journal*, 18(3), 265-276.
- Ferrari, S., Galletti, R., Denoux, C., De Lorenzo, G., Ausubel, F. M., Dewdney, J. (2007). Resistance to *Botrytis cinerea* induced in *Arabidopsis* by elicitors is independent of salicylic acid, ethylene, or jasmonate signaling but requires *PHYTOALEXIN DEFICIENT3*. *Plant Physiology*, 144(1), 367-379.
- Fichman, Y., Mittler, R. (2020). Rapid systemic signaling during abiotic and biotic stresses: is the ROS wave master of all trades? *The Plant Journal*, 102(5), 887-896.
- Fliegmann, J., Felix, G. (2016). Immunity: flagellin seen from all sides. *Nature Plants*, 2(9), 1-2.
- Folta, K. M., Carvalho, S. D. (2015). Photoreceptors and control of horticultural plant traits. *HortScience*, 50(9), 1274-1280.
- Foo, E., Ross, J. J., Davies, N. W., Reid, J. B., Weller, J. L. (2006). A role for ethylene in the phytochrome-mediated control of vegetative development. *The Plant Journal*, 46(6), 911-921.
- Foyer, C. H., Noctor, G. (2016). Stress-triggered redox signalling: what's in pROSpect? *Plant, Cell & Environment*, 39(5), 951-964.
- Franklin, K. A., Quail, P. H. (2010). Phytochrome functions in *Arabidopsis* development. *Journal of Experimental Botany*, 61(1), 11-24.
- Freschi, L. (2013). Nitric oxide and phytohormone interactions: current status and perspectives. *Frontiers in Plant Science*, 4, 398.
- Fu, Z. Q., Dong, X. (2013). Systemic acquired resistance: turning local infection into global defense. *Annual Review of Plant Biology*, 64, 839-863.
- Gallé, Á., Czékus, Z., Tóth, L., Galgóczy, L., Poór, P. (2021). Pest and disease management by red light. *Plant, Cell & Environment*, 44(10), 3197-3210.
- Galvão, V. C., Fankhauser, C. (2015). Sensing the light environment in plants: photoreceptors and early signaling steps. *Current Opinion in Neurobiology*, 34, 46-53.
- Gao, H., Guo, M., Song, J., Ma, Y., Xu, Z. (2021). Signals in systemic acquired resistance of plants against microbial pathogens. *Molecular Biology Reports*, 48(4), 3747-3759.
- García-Mata, C., Lamattina, L. (2003). Absciscic acid, nitric oxide and stomatal closure—is nitrate reductase one of the missing links? *Trends in Plant Science*, 8(1), 20-26.
- Gaupels, F., Durner, J., Kogel, K. H. (2017). Production, amplification and systemic propagation of redox messengers in plants? The phloem can do it all!. *New Phytologist*, 214(2), 554-560.

- Gayatri, G., Agurla, S., Raghavendra, A. S. (2013). Nitric oxide in guard cells as an important secondary messenger during stomatal closure. *Frontiers in Plant Science*, 4, 425.
- Ge, X. M., Cai, H. L., Lei, X., Zhou, X., Yue, M., He, J. M. (2015). Heterotrimeric G protein mediates ethylene-induced stomatal closure via hydrogen peroxide synthesis in *Arabidopsis*. *The Plant Journal*, 82(1), 138-150.
- Ge, X. M., Hu, X., Zhang, J., Huang, Q. M., Gao, Y., Li, Z. Q., Li, S., He, J. M. (2020). UV RESISTANCE LOCUS8 mediates ultraviolet-B-induced stomatal closure in an ethylene-dependent manner. *Plant Science*, 301, 110679.
- Genoud, T., Buchala, A. J., Chua, N. H., Métraux, J. P. (2002). Phytochrome signalling modulates the SA-perceptive pathway in *Arabidopsis*. *The Plant Journal*, 31(1), 87-95.
- Genty, B., Briantais, J. M., Baker, N. R. (1989). The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta*, 990, 87-92.
- Ghareeb, H., El-Sayed, M., Pound, M., Tetyuk, O., Hanika, K., Herrfurth, C., Feussner, I., Lipka, V. (2020). Quantitative Hormone Signaling Output Analyses of *Arabidopsis thaliana* Interactions With Virulent and Avirulent *Hyaloperonospora arabidopsidis* Isolates at Single-Cell Resolution. *Frontiers in Plant Science*, 11, 1737.
- Giday, H., Fanourakis, D., Kjaer, K. H., Fomsgaard, I. S., Ottosen, C. O. (2013). Foliar abscisic acid content underlies genotypic variation in stomatal responsiveness after growth at high relative air humidity. *Annals of Botany*, 112(9), 1857-1867.
- Gilroy, S., Suzuki, N., Miller, G., Choi, W. G., Toyota, M., Devireddy, A. R., Mittler, R. (2014). A tidal wave of signals: calcium and ROS at the forefront of rapid systemic signaling. *Trends in Plant Science*, 19(10), 623-630.
- Glazebrook, J. (2005). Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 43, 205-227.
- Gómez-Gómez, L., Felix, G., Boller, T. (1999). A single locus determines sensitivity to bacterial flagellin in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal*, 18(3), 277-284.
- Goodspeed, D., Chehab, E. W., Min-Venditti, A., Braam, J., Covington, M. F. (2012). *Arabidopsis* synchronizes jasmonate-mediated defense with insect circadian behavior. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(12), 4674-4677.
- Göhre, V., Spallek, T., Häweker, H., Mersmann, S., Mentzel, T., Boller, T., de Torres, M., Mansfield, J. W., Robatzek, S. (2008). Plant pattern-recognition receptor FLS2 is directed for degradation by the bacterial ubiquitin ligase AvrPtoB. *Current Biology*, 18(23), 1824-1832.
- Göhre, V., Jones, A. M., Sklenář, J., Robatzek, S., Weber, A. P. (2012). Molecular crosstalk between PAMP-triggered immunity and photosynthesis. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 25(8), 1083-1092.
- Graf, A., Schlereth, A., Stitt, M., Smith, A. M. (2010). Circadian control of carbohydrate availability for growth in *Arabidopsis* plants at night. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(20), 9458-9463.
- Graf, A., Smith, A. M. (2011). Starch and the clock: the dark side of plant productivity. *Trends in Plant Science*, 16(3), 169-175.
- Gravino, M., Savatin, D. V., Macone, A., De Lorenzo, G. (2015). Ethylene production in *Botrytis cinerea*- and oligogalacturonide-induced immunity requires calcium-dependent protein kinases. *The Plant Journal*, 84(6), 1073-1086.
- Greenham, K., McClung, C. R. (2015). Integrating circadian dynamics with physiological processes in plants. *Nature Reviews Genetics*, 16(10), 598-610.
- Griebel, T., Zeier, J. (2008). Light regulation and daytime dependency of inducible plant defenses in *Arabidopsis*: phytochrome signaling controls systemic acquired resistance rather than local defense. *Plant Physiology*, 147(2), 790-801.
- Grosskopf, D. G., Felix, G., Boller, T. (1991). A yeast-derived glycopeptide elicitor and chitosan or digitonin differentially induce ethylene biosynthesis, phenylalanine ammonia-lyase and callose formation in suspension-cultured tomato cells. *Journal of Plant Physiology*, 138(6), 741-746.
- Grover, A. (2012). Plant chitinases: genetic diversity and physiological roles. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 31(1), 57-73.
- Grundy, J., Stoker, C., Carré, I. A. (2015). Circadian regulation of abiotic stress tolerance in plants. *Frontiers in Plant Science*, 6, 648.
- Guan, R., Su, J., Meng, X., Li, S., Liu, Y., Xu, J., Zhang, S. (2015). Multilayered regulation of ethylene induction plays a positive role in *Arabidopsis* resistance against *Pseudomonas syringae*. *Plant Physiology*, 169(1), 299-312.

- Gubaeva, E., Gubaev, A., Melcher, R. L., Cord-Landwehr, S., Singh, R., El Gueddari, N. E., Moerschbacher, B. M. (2018). 'Slipped sandwich' model for chitin and chitosan perception in *Arabidopsis*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 31(11), 1145-1153.
- Guerra, T., Schilling, S., Hake, K., Gorzolka, K., Sylvester, F. P., Conrads, B., Westermann, B., Romeis, T. (2020). Calcium-dependent protein kinase 5 links calcium signaling with *N*-hydroxy-L-pipecolic acid- and *SARDI*-dependent immune memory in systemic acquired resistance. *New Phytologist*, 225(1), 310-325.
- Guzel Deger, A., Scherzer, S., Nuhkat, M., Kedzierska, J., Kollist, H., Brosché, M., Unyayar, S., Boudsocq, M., Hedrich, R., Roelfsema, M. R. G. (2015). Guard cell SLAC 1-type anion channels mediate flagellin-induced stomatal closure. *New Phytologist*, 208(1), 162-173.
- Hadwiger, L. A. (2013). Multiple effects of chitosan on plant systems: Solid science or hype. *Plant Science*, 208, 42-49.
- Hadwiger, L. A. (2015). Anatomy of a nonhost disease resistance response of pea to *Fusarium solani*: PR gene elicitation via DNase, chitosan and chromatin alterations. *Frontiers in Plant Science*, 6, 373.
- Hamel, L. P., Beaudoin, N. (2010). Chitoooligosaccharide sensing and downstream signaling: contrasted outcomes in pathogenic and beneficial plant-microbe interactions. *Planta*, 232(4), 787-806.
- Hamer, J. E., Howard, R. J., Chumley, F. G., Valent, B. (1988). A mechanism for surface attachment in spores of a plant pathogenic fungus. *Science*, 239(4837), 288-290.
- Han, L., Li, G. J., Yang, K. Y., Mao, G., Wang, R., Liu, Y., Zhang, S. (2010). Mitogen-activated protein kinase 3 and 6 regulate *Botrytis cinerea*-induced ethylene production in *Arabidopsis*. *The Plant Journal*, 64(1), 114-127.
- Han, S., Jia, M. Z., Yang, J. F., Jiang, J. (2019). The integration of ACS2-generated ACC with GH3-mediated IAA homeostasis in NaCl-stressed primary root elongation of *Arabidopsis* seedlings. *Plant Growth Regulation*, 88(2), 151-158.
- Hardy, M., Zielonka, J., Karoui, H., Sikora, A., Michalski, R., Podsiadły, R., Lopez, M., Vasquez-Vivar, J., Kalyanaraman, B., Ouari, O. (2018). Detection and characterization of reactive oxygen and nitrogen species in biological systems by monitoring species-specific products. *Antioxidants & Redox Signaling*, 28(15), 1416-1432.
- Harkey, A. F., Yoon, G. M., Seo, D. H., DeLong, A., Muday, G. K. (2019). Light modulates ethylene synthesis, signaling, and downstream transcriptional networks to control plant development. *Frontiers in Plant Science*, 1094.
- Hartmann, M., Kim, D., Bernsdorff, F., Ajami-Rashidi, Z., Scholten, N., Schreiber, S., Zeier, T., Schuck, S., Reichel-Deland, V., Zeier, J. (2017). Biochemical principles and functional aspects of pipecolic acid biosynthesis in plant immunity. *Plant Physiology*, 174(1), 124-153.
- Hartmann, M., Zeier, T., Bernsdorff, F., Reichel-Deland, V., Kim, D., Hohmann, M., Scholten, N., Schuck, S., Bräutigam, A., Hölzel, T., Ganter, C., Zeier, J. (2018). Flavin monooxygenase-generated *N*-hydroxypipecolic acid is a critical element of plant systemic immunity. *Cell*, 173(2), 456-469.
- Hartmann, M., Zeier, J. (2019). *N*-hydroxypipecolic acid and salicylic acid: a metabolic duo for systemic acquired resistance. *Current Opinion in Plant Biology*, 50, 44-57.
- Hase, S., Van Pelt, J. A., Van Loon, L. C., Pieterse, C. M. (2003). Colonization of *Arabidopsis* roots by *Pseudomonas fluorescens* primes the plant to produce higher levels of ethylene upon pathogen infection. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 62(4), 219-226.
- Helliwell, E. E., Wang, Q., Yang, Y. (2016). Ethylene biosynthesis and signaling is required for rice immune response and basal resistance against *Magnaporthe oryzae* infection. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 29(11), 831-843.
- Henty-Ridilla, J. L., Shimono, M., Li, J., Chang, J. H., Day, B., Staiger, C. J. (2013). The plant actin cytoskeleton responds to signals from microbe-associated molecular patterns. *PLoS Pathogens*, 9(4), e1003290.
- Hilker, M., Schmülling, T. (2019). Stress priming, memory, and signalling in plants. *Plant, Cell & Environment*, 42(3), 753-761.
- Hong, C. Y., Zheng, J. L., Chen, T. Y., Chao, H. R., Lin, Y. H. (2018). PFLP-intensified disease resistance against bacterial soft rot through the MAPK pathway in PAMP-Triggered Immunity. *Phytopathology*, 108(12), 1467-1474.
- Houben, M., Van de Poel, B. (2019). 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid oxidase (ACO): the enzyme that makes the plant hormone ethylene. *Frontiers in Plant Science*, 695.
- Howell, S. H. (2021). Evolution of the unfolded protein response in plants. *Plant, Cell & Environment*, 44(8), 2625-2635.
- Hua, J. (2013). Modulation of plant immunity by light, circadian rhythm, and temperature. *Current Opinion in Plant Biology*, 16(4), 406-413.

- Hua, C., Li, Y., Wang, X., Kai, K., Su, M., Zhang, D., Liu, Y. (2019). The effect of low and high molecular weight chitosan on the control of gray mold (*Botrytis cinerea*) on kiwifruit and host response. *Scientia Horticulturae*, 246, 700-709.
- Hua-Li, X., Yang, B., Yuan-Yuan, Z., Calderón-Urrea, A., Hu-Jun, W., Lu-Mei, P., Yi, W., Yong-Cai, L. (2017). Effects of elicitors on trichothecene accumulation and *Tri* genes expression in potato tubers inoculated with *Fusarium sulphureum*. *European Journal of Plant Pathology*, 148(3), 673-685.
- Huang, W., Pérez-García, P., Pokhilko, A., Millar, A. J., Antoshechkin, I., Riechmann, J. L., Mas, P. (2012). Mapping the core of the *Arabidopsis* circadian clock defines the network structure of the oscillator. *Science*, 336(6077), 75-79.
- Huang, X., You, Z., Luo, Y., Yang, C., Ren, J., Liu, Y., Wei, G., Dong, P., Ren, M. (2021). Antifungal activity of chitosan against *Phytophthora infestans*, the pathogen of potato late blight. *International Journal of Biological Macromolecules*, 166, 1365-1376.
- Hurný, A., Cuesta, C., Cavallari, N., Ötvös, K., Duclercq, J., Dokládál, L., Montesinos, J. C., Gallemí, M., Semerádová, H., Rauter, T., Stenzel, I., Persiau, G., Benade, F., Bhalearo, R., Sýkorová, E., Gorzsás, A., Sechet, J., Mouille, G., Heilmann, I., Jaeger, G. D., Ludwig-Müller, J., Benková, E. (2020). *SYNERGISTIC ON AUXIN AND CYTOKININ* positively regulates growth and attenuates soil pathogen resistance. *Nature Communications*, 11(1), 1-17.
- Hussain, A., Imran, Q. M., Shahid, M., Yun, B.-W. (2022). Nitric oxide synthase in the plant kingdom, in *Nitric Oxide in Plant Biology*. eds. V. Pratap Singh, S. Singh, D. K. Tripathi, M. C. Romero-Puertas, L. M. Sandalio (Academic Press), 43-52.
- Igarashi, D., Bethke, G., Xu, Y., Tsuda, K., Glazebrook, J., Katagiri, F. (2013). Pattern-triggered immunity suppresses programmed cell death triggered by fumonisin b1. *PloS One*, 8(4), e60769.
- Iqbal, Z., Iqbal, M. S., Hashem, A., Abd_Allah, E. F., Ansari, M. I. (2021). Plant defense responses to biotic stress and its interplay with fluctuating dark/light conditions. *Frontiers in Plant Science*, 12, 297.
- Iriti, M., Sironi, M., Gomasasca, S., Casazza, A. P., Soave, C., Faoro, F. (2006). Cell death-mediated antiviral effect of chitosan in tobacco. *Plant Physiology and Biochemistry*, 44(11-12), 893-900.
- Iriti, M., Faoro, F. (2009). Chitosan as a MAMP, searching for a PRR. *Plant Signaling & Behavior*, 4(1), 66-68.
- Iriti, M., Picchi, V., Rossoni, M., Gomasasca, S., Ludwig, N., Gargano, M., Faoro, F. (2009). Chitosan antitranspirant activity is due to abscisic acid-dependent stomatal closure. *Environmental and Experimental Botany*, 66(3), 493-500.
- Iriti, M., Castorina, G., Vitalini, S., Mignani, I., Soave, C., Fico, G., Faoro, F. (2010). Chitosan-induced ethylene-independent resistance does not reduce crop yield in bean. *Biological Control*, 54(3), 241-247.
- Issak, M., Okuma, E., Munemasa, S., Nakamura, Y., Mori, I. C., Murata, Y. (2013). Neither endogenous abscisic acid nor endogenous jasmonate is involved in salicylic acid-, yeast elicitor-, or chitosan-induced stomatal closure in *Arabidopsis thaliana*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 77(5), 1111-1113.
- Iwai, S., Ogata, S., Yamada, N., Onjo, M., Sonoike, K., Shimazaki, K. I. (2019). Guard cell photosynthesis is crucial in abscisic acid-induced stomatal closure. *Plant Direct*, 3(5), e00137.
- Iwata, Y., Koizumi, N. (2012). Plant transducers of the endoplasmic reticulum unfolded protein response. *Trends in Plant Science*, 17(12), 720-727.
- Jain, D., Khurana, J. P. (2018). Role of pathogenesis-related (PR) proteins in plant defense mechanism. In *Molecular Aspects of Plant-Pathogen Interaction* (pp. 265-281). Springer, Singapore.
- Jayaraj, J., Rahman, M., Wan, A., Punja, Z. K. (2009). Enhanced resistance to foliar fungal pathogens in carrot by application of elicitors. *Annals of Applied Biology*, 155(1), 71-80.
- Jelitto-Van Dooren, E. P., Vidal, S., Denecke, J. (1999). Anticipating endoplasmic reticulum stress: a novel early response before pathogenesis-related gene induction. *The Plant Cell*, 11(10), 1935-1943.
- Jenkins, G. I. (2017). Photomorphogenic responses to ultraviolet-B light. *Plant, Cell & Environment*, 40(11), 2544-2557.
- Jeong, J., Kim, K., Kim, M. E., Kim, H. G., Heo, G. S., Park, O. K., Park, Y. I., Choi, G., Oh, E. (2016). Phytochrome and ethylene signaling integration in *Arabidopsis* occurs via the transcriptional regulation of genes co-targeted by PIFs and EIN3. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1055.
- Jiang, L., Wu, J., Fan, S., Li, W., Dong, L., Cheng, Q., Xu, P., Zhang, S. (2015). Isolation and characterization of a novel pathogenesis-related protein gene (*GmPRP*) with induced expression in soybean (*Glycine max*) during infection with *Phytophthora sojae*. *PLoS One*, 10(6), e0129932.
- Jiménez, A., Sevilla, F., Martí, M. C. (2021). Reactive oxygen species homeostasis and circadian rhythms in plants. *Journal of Experimental Botany*, 72(16), 5825-5840.
- Jones, J. D., Dangl, J. L. (2006). The plant immune system. *Nature*, 444(7117), 323-329.
- Ju, C., Yoon, G. M., Shemansky, J. M., Lin, D. Y., Ying, Z. I., Chang, J., Garrett, W. M., Kessenbrock, M., Groth, G., Tucker, M. L., Cooper, G., Kieber, J. J., Chang, C. (2012). CTR1 phosphorylates the central

- regulator EIN2 to control ethylene hormone signaling from the ER membrane to the nucleus in *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(47), 19486-19491.
- Kadota, Y., Sklenar, J., Derbyshire, P., Stransfeld, L., Asai, S., Ntoukakis, V., Jones, J. D. G., Shirasu, K., Menke, F., Jones, A., Zipfel, C. (2014). Direct regulation of the NADPH oxidase RBOHD by the PRR-associated kinase BIK1 during plant immunity. *Molecular Cell*, 54(1), 43-55.
- Kaku, H., Nishizawa, Y., Ishii-Minami, N., Akimoto-Tomiyama, C., Dohmae, N., Takio, K., Minami, E., Shibuya, N. (2006). Plant cells recognize chitin fragments for defense signaling through a plasma membrane receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(29), 11086-11091.
- Kami, C., Lorrain, S., Hornitschek, P., Fankhauser, C. (2010). Light-regulated plant growth and development. *Current Topics in Developmental Biology*, 91, 29-66.
- Kangasjärvi, S., Neukermans, J., Li, S., Aro, E. M., Noctor, G. (2012). Photosynthesis, photorespiration, and light signalling in defence responses. *Journal of Experimental Botany*, 63(4), 1619-1636.
- Kao, C. H., Yang, S. F. (1982). Light inhibition of the conversion of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid to ethylene in leaves is mediated through carbon dioxide. *Planta*, 155(3), 261-266.
- Karapetyan, S., Dong, X. (2018). Redox and the circadian clock in plant immunity: A balancing act. *Free Radical Biology and Medicine*, 119, 56-61.
- Karpiński, S., Szechyńska-Hebda, M., Wituszyńska, W., Burdiak, P. (2013). Light acclimation, retrograde signalling, cell death and immune defences in plants. *Plant, Cell & Environment*, 36(4), 736-744.
- Kazan, K., Manners, J. M. (2013). MYC2: the master in action. *Molecular Plant*, 6(3), 686-703.
- Khanna, R., Shen, Y., Marion, C. M., Tsuchisaka, A., Theologis, A., Schäfer, E., Quail, P. H. (2007). The basic helix-loop-helix transcription factor PIF5 acts on ethylene biosynthesis and phytochrome signaling by distinct mechanisms. *The Plant Cell*, 19(12), 3915-3929.
- Khokon, M. A. R., Uraji, M., Munemasa, S., Okuma, E., Nakamura, Y., Mori, I. C., Murata, Y. (2010). Chitosan-induced stomatal closure accompanied by peroxidase-mediated reactive oxygen species production in *Arabidopsis*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 1010052215-1010052215.
- Khokon, M. A. R., Okuma, E. I. J. I., Hossain, M. A., Munemasa, S., Uraji, M., Nakamura, Y., Mori, I. C., Murata, Y. (2011). Involvement of extracellular oxidative burst in salicylic acid-induced stomatal closure in *Arabidopsis*. *Plant, Cell & Environment*, 34(3), 434-443.
- Kim, Y., Gilmour, S. J., Chao, L., Park, S., Thomashow, M. F. (2020). *Arabidopsis* CAMTA transcription factors regulate pipecolic acid biosynthesis and priming of immunity genes. *Molecular Plant*, 13(1), 157-168.
- Klauser, D., Flury, P., Boller, T., Bartels, S. (2013). Several MAMPs, including chitin fragments, enhance at Pep-triggered oxidative burst independently of wounding. *Plant Signaling & Behavior*, 8(9), e25346.
- Klee, H. J., Giovannoni, J. J. (2011). Genetics and control of tomato fruit ripening and quality attributes. *Annual Review of Genetics*, 45, 41-59.
- Klessig, D. F., Choi, H. W., & Dempsey, D. M. A. (2018). Systemic acquired resistance and salicylic acid: past, present, and future. *Molecular plant-microbe interactions*, 31(9), 871-888.
- Klose, C., Viczián, A., Kircher, S., Schäfer, E., Nagy, F. (2015). Molecular mechanisms for mediating light-dependent nucleocytoplasmic partitioning of phytochrome photoreceptors. *New Phytologist*, 206(3), 965-971.
- Kocsy, G., Tari, I., Vanková, R., Zechmann, B., Gulyás, Z., Poór, P., Galiba, G. (2013). Redox control of plant growth and development. *Plant Science*, 211, 77-91.
- Koers, S., Guzel-Deger, A., Marten, I., Roelfsema, M. R. G. (2011). Barley mildew and its elicitor chitosan promote closed stomata by stimulating guard-cell S-type anion channels. *The Plant Journal*, 68(4), 670-680.
- Kolbert, Z., Feigl, G., Freschi, L., Poór, P. (2019). Gasotransmitters in action: nitric oxide-ethylene crosstalk during plant growth and abiotic stress responses. *Antioxidants*, 8(6), 167.
- Kollist, H., Zandalinas, S. I., Sengupta, S., Nuhkat, M., Kangasjärvi, J., Mittler, R. (2019). Rapid responses to abiotic stress: priming the landscape for the signal transduction network. *Trends in Plant Science*, 24(1), 25-37.
- Korneli, C., Danisman, S., Staiger, D. (2014). Differential control of pre-invasive and post-invasive antibacterial defense by the *Arabidopsis* circadian clock. *Plant and Cell Physiology*, 55(9), 1613-1622.
- Kramer, D. M., Johnson, G., Kiirats, O., Edwards, G. E. (2004). New fluorescence parameters for the determination of QA redox state and excitation energy fluxes. *Photosynthesis Research*, 79(2), 209-218.
- Kudla, J., Batistič, O., Hashimoto, K. (2010). Calcium signals: the lead currency of plant information processing. *The Plant Cell*, 22(3), 541-563.
- Kushalappa, A. C., Yogendra, K. N., Karre, S. (2016). Plant innate immune response: qualitative and quantitative resistance. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 35(1), 38-55.
- Kuźniak, E., Kopczewski, T. (2020). The chloroplast reactive oxygen species-redox system in plant immunity and disease. *Frontiers in Plant Science*, 11, 1798.

- Lai, A. G., Doherty, C. J., Mueller-Roeber, B., Kay, S. A., Schippers, J. H., Dijkwel, P. P. (2012). *CIRCADIAN CLOCK-ASSOCIATED 1* regulates ROS homeostasis and oxidative stress responses. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(42), 17129-17134.
- Lai, T., Chen, Y., Li, B., Qin, G., Tian, S. (2014). Mechanism of *Penicillium expansum* in response to exogenous nitric oxide based on proteomics analysis. *Journal of Proteomics*, 103, 47-56.
- Laluk, K., Luo, H., Chai, M., Dhawan, R., Lai, Z., Mengiste, T. (2011). Biochemical and genetic requirements for function of the immune response regulator BOTRYTIS-INDUCED KINASE1 in plant growth, ethylene signaling, and PAMP-triggered immunity in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 23(8), 2831-2849.
- Lamattina, L., García-Mata, C., Graziano, M., Pagnussat, G. (2003). Nitric oxide: the versatility of an extensive signal molecule. *Annual Review of Plant Biology*, 54(1), 109-136.
- Lanahan, M. B., Yen, H. C., Giovannoni, J. J., Klee, H. J. (1994). The never ripe mutation blocks ethylene perception in tomato. *The Plant Cell*, 6(4), 521-530.
- Lawson, T. (2009). Guard cell photosynthesis and stomatal function. *New Phytologist*, 181(1), 13-34.
- Lee, S., Choi, H., Suh, S., Doo, I. S., Oh, K. Y., Choi, E. Y., Taylor, A. T. S., Low, P. S., Lee, Y. (1999). Oligogalacturonic acid and chitosan reduce stomatal aperture by inducing the evolution of reactive oxygen species from guard cells of tomato and *Commelina communis*. *Plant Physiology*, 121(1), 147-152.
- Lei, C., Ma, D., Pu, G., Qiu, X., Du, Z., Wang, H., Li, G., Ye, H., Liu, B. (2011). Foliar application of chitosan activates artemisinin biosynthesis in *Artemisia annua* L. *Industrial Crops and Products*, 33(1), 176-182.
- Lewis, L. A., Polanski, K., de Torres-Zabala, M., Jayaraman, S., Bowden, L., Moore, J., Penfold, C. A., Jenkins, D. J., Hill, C., Baxter, L., Kulasekaran, S., Truman, W., Littlejohn, G., Prusinska, J., Mead, A., Steinbrenner, J., Hickman, R., Rand, D., Wild, D. L., Ott, S., Buchanan-Wollaston, V., Smirnov, N., Beynon, J., Denby, K., Grant, M. (2015). Transcriptional dynamics driving MAMP-triggered immunity and pathogen effector-mediated immunosuppression in *Arabidopsis* leaves following infection with *Pseudomonas syringae* pv *tomato* DC3000. *The Plant Cell*, 27(11), 3038-3064.
- Li, Y., Yin, H., Wang, Q., Zhao, X., Du, Y., Li, F. (2009). Oligochitosan induced *Brassica napus* L. production of NO and H₂O₂ and their physiological function. *Carbohydrate Polymers*, 75(4), 612-617.
- Li, Y. X., Zhang, W., Dong, H. X., Liu, Z. Y., Ma, J., Zhang, X. Y. (2018). Salicylic acid in *Populus tomentosa* is a remote signalling molecule induced by *Botryosphaeria dothidea* infection. *Scientific Reports*, 8(1), 1-9.
- Li, N., Han, X., Feng, D., Yuan, D., Huang, L. J. (2019). Signaling crosstalk between salicylic acid and ethylene/jasmonate in plant defense: do we understand what they are whispering? *International Journal of Molecular Sciences*, 20(3), 671.
- Lim, G. H., Shine, M. B., de Lorenzo, L., Yu, K., Cui, W., Navarre, D., Hunt, A. G., Lee, J. Y., Kachroo, A., Kachroo, P. (2016). Plasmodesmata localizing proteins regulate transport and signaling during systemic acquired immunity in plants. *Cell Host & Microbe*, 19(4), 541-549.
- Lin, W., Hu, X., Zhang, W., Rogers, W. J., Cai, W. (2005). Hydrogen peroxide mediates defence responses induced by chitosans of different molecular weights in rice. *Journal of Plant Physiology*, 162(8), 937-944.
- Lincoln, J. E., Sanchez, J. P., Zumstein, K., Gilchrist, D. G. (2018). Plant and animal PR1 family members inhibit programmed cell death and suppress bacterial pathogens in plant tissues. *Molecular Plant Pathology*, 19(9), 2111-2123.
- Linde, A. M., Eklund, D. M., Kubota, A., Pederson, E. R., Holm, K., Gyllenstrand, N., Nishihama, R., Cronberg, N., Muranaka, T., Oyama, T., Kohchi, T., Lagercrantz, U. (2017). Early evolution of the land plant circadian clock. *New Phytologist*, 216(2), 576-590.
- Lindermayr, C., Saalbach, G., Durner, J. (2005). Proteomic identification of S-nitrosylated proteins in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 137(3), 921-930.
- Lindermayr, C., Saalbach, G., Bahnweg, G., Durner, J. (2006). Differential inhibition of *Arabidopsis* methionine adenosyltransferases by protein S-nitrosylation. *Journal of Biological Chemistry*, 281(7), 4285-4291.
- Lindermayr, C. (2018). Crosstalk between reactive oxygen species and nitric oxide in plants: key role of S-nitrosogluthathione reductase. *Free Radical Biology and Medicine*, 122, 110-115.
- Littlejohn, G. R., Breen, S., Smirnov, N., Grant, M. (2021). Chloroplast immunity illuminated. *New Phytologist*, 229(6), 3088-3107.
- Liu, Y., Zhang, S. (2004). Phosphorylation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase by MPK6, a stress-responsive mitogen-activated protein kinase, induces ethylene biosynthesis in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 16(12), 3386-3399.

- Liu, X., Shi, W., Zhang, S., Lou, C. (2005). Nitric oxide involved in signal transduction of Jasmonic acid-induced stomatal closure of *Vicia faba* L. *Chinese Science Bulletin*, 50(6), 520-525.
- Liu, Y., Ren, D., Pike, S., Pallardy, S., Gassmann, W., Zhang, S. (2007). Chloroplast-generated reactive oxygen species are involved in hypersensitive response-like cell death mediated by a mitogen-activated protein kinase cascade. *The Plant Journal*, 51(6), 941-954.
- Liu, P. P., von Dahl, C. C., Klessig, D. F. (2011). The extent to which methyl salicylate is required for signaling systemic acquired resistance is dependent on exposure to light after infection. *Plant Physiology*, 157(4), 2216-2226.
- Liu, Z., Zhang, Y., Wang, J., Li, P., Zhao, C., Chen, Y., Bi, Y. (2015a). Phytochrome-interacting factors PIF4 and PIF5 negatively regulate anthocyanin biosynthesis under red light in *Arabidopsis* seedlings. *Plant Science*, 238, 64-72.
- Liu, M., Pirrello, J., Chervin, C., Roustan, J. P., Bouzayen, M. (2015b). Ethylene control of fruit ripening: revisiting the complex network of transcriptional regulation. *Plant Physiology*, 169(4), 2380-2390.
- Liu, B., Yang, Z., Gomez, A., Liu, B., Lin, C., Oka, Y. (2016a). Signaling mechanisms of plant cryptochromes in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Plant Research*, 129(2), 137-148.
- Liu, S., Wang, J., Han, Z., Gong, X., Zhang, H., Chai, J. (2016b). Molecular mechanism for fungal cell wall recognition by rice chitin receptor OsCEBiP. *Structure*, 24(7), 1192-1200.
- Liu, A. C., Cheng, C. P. (2017). Pathogen-induced ERF68 regulates hypersensitive cell death in tomato. *Molecular Plant Pathology*, 18(8), 1062-1074.
- Liu, Q., Wang, Q., Deng, W., Wang, X., Piao, M., Cai, D., Li, Y., Barshop, W. D., Yu, X., Zhou, T., Liu, B., Oka, Y., Wohlschlegel, J., Zuo, Z., Lin, C. (2017a). Molecular basis for blue light-dependent phosphorylation of *Arabidopsis* cryptochrome 2. *Nature Communications*, 8(1), 1-12.
- Liu, X., Liu, R., Li, Y., Shen, X., Zhong, S., Shi, H. (2017b). EIN3 and PIF3 form an interdependent module that represses chloroplast development in buried seedlings. *The Plant Cell*, 29(12), 3051-3067.
- Liu, J., Zhang, X., Kennedy, J. F., Jiang, M., Cai, Q., Wu, X. (2019). Chitosan induces resistance to tuber rot in stored potato caused by *Alternaria tenuissima*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 140, 851-857.
- Livak, K. J., Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_T}$ method. *Methods*, 25(4), 402-408.
- Lorenzo, O., Piqueras, R., Sánchez-Serrano, J. J., Solano, R. (2003). ETHYLENE RESPONSE FACTOR1 integrates signals from ethylene and jasmonate pathways in plant defense. *The Plant Cell*, 15(1), 165-178.
- Lu, H., McClung, C. R., Zhang, C. (2017). Tick tock: circadian regulation of plant innate immunity. *Annual Review of Phytopathology*, 55, 287-311.
- Lu, Y., Yao, J. (2018). Chloroplasts at the crossroad of photosynthesis, pathogen infection and plant defense. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(12), 3900.
- Lu, W., Deng, F., Jia, J., Chen, X., Li, J., Wen, Q., Li, T., Meng, Y., Shan, W. (2020). The *Arabidopsis thaliana* gene *AtERF019* negatively regulates plant resistance to *Phytophthora parasitica* by suppressing PAMP-triggered immunity. *Molecular Plant Pathology*, 21(9), 1179-1193.
- Luna, E., Pastor, V., Robert, J., Flors, V., Mauch-Mani, B., Ton, J. (2011). Callose deposition: a multifaceted plant defense response. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 24(2), 183-193.
- Lyons, R., Iwase, A., Gänsewig, T., Sherstnev, A., Duc, C., Barton, G. J., Hanada, K., Higuchi-Takeuchi, M., Matsui, M., Sugimoto, K., Kazan, K., Simpson, G. G., Shirasu, K. (2013). The RNA-binding protein FPA regulates flg22-triggered defense responses and transcription factor activity by alternative polyadenylation. *Scientific Reports*, 3(1), 1-10.
- Malerba, M., Crosti, P., Cerana, R. (2010). Ethylene is involved in stress responses induced by fusaric acid in sycamore cultured cells. *Journal of Plant Physiology*, 167(17), 1442-1447.
- Malerba, M., Crosti, P., Cerana, R. (2012). Defense/stress responses activated by chitosan in sycamore cultured cells. *Protoplasma*, 249(1), 89-98.
- Malerba, M., Cerana, R. (2016). Chitosan effects on plant systems. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(7), 996.
- Manfre, A., Glenn, M., Nuñez, A., Moreau, R. A., Dardick, C. (2011). Light quantity and photosystem function mediate host susceptibility to Turnip mosaic virus via a salicylic acid-independent mechanism. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 24(3), 315-327.
- Manjunatha, G., Niranjana-Raj, S., Prashanth, G. N., Deepak, S., Amruthesh, K. N., Shetty, H. S. (2009). Nitric oxide is involved in chitosan-induced systemic resistance in pearl millet against downy mildew disease. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 65(7), 737-743.
- Marcec, M. J., Tanaka, K. (2021). Crosstalk between calcium and ROS signaling during flg22-triggered immune response in *Arabidopsis* leaves. *Plants*, 11(1), 14.

- Martínez-Medina, A., Pescador, L., Terrón-Camero, L. C., Pozo, M. J., Romero-Puertas, M. C. (2019). Nitric oxide in plant–fungal interactions. *Journal of Experimental Botany*, 70(17), 4489–4503.
- Mata, C. I., Van de Poel, B., Hertog, M. L., Tran, D., Nicolai, B. M. (2018). Transcription analysis of the ethylene receptor and CTR genes in tomato: the effects of on and off-vine ripening and 1-MCP. *Postharvest Biology and Technology*, 140, 67–75.
- Matthews, J. S., Violet-Chabrand, S., Lawson, T. (2020). Role of blue and red light in stomatal dynamic behaviour. *Journal of Experimental Botany*, 71(7), 2253–2269.
- Mazarei, M., Elling, A. A., Maier, T. R., Puthoff, D. P., Baum, T. J. (2007). GmEREBP1 is a transcription factor activating defense genes in soybean and *Arabidopsis*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 20(2), 107–119.
- Medzihradsky, M., Bindics, J., Ádám, É., Viczián, A., Klement, É., Lorrain, S., Gyula, P., Mérai, Zs., Fankhauser, C., Medzihradsky, K. F., Kunkel, T., SchÄfer, E., Nagy, F. (2013). Phosphorylation of phytochrome B inhibits light-induced signaling via accelerated dark reversion in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 25(2), 535–544.
- Mejdoub-Trabelsi, B., Touihri, S., Ammar, N., Riahi, A., Daami-Remadi, M. (2020). Effect of chitosan for the control of potato diseases caused by *Fusarium* species. *Journal of Phytopathology*, 168(1), 18–27.
- Melo, N. K., Bianchetti, R. E., Lira, B. S., Oliveira, P. M., Zuccarelli, R., Dias, D. L. O., Demarco, D., Peres, L. E. P., Rossi, M., Freschi, L. (2016). Nitric oxide, ethylene, and auxin cross talk mediates greening and plastid development in deetioliating tomato seedlings. *Plant Physiology*, 170(4), 2278–2294.
- Melotto, M., Underwood, W., Koczan, J., Nomura, K., He, S. Y. (2006). Plant stomata function in innate immunity against bacterial invasion. *Cell*, 126(5), 969–980.
- Melotto, M., Zhang, L., Oblessuc, P. R., He, S. Y. (2017). Stomatal defense a decade later. *Plant Physiology*, 174(2), 561–571.
- Meng, X., Xu, J., He, Y., Yang, K. Y., Mordorski, B., Liu, Y., Zhang, S. (2013). Phosphorylation of an ERF transcription factor by *Arabidopsis* MPK3/MPK6 regulates plant defense gene induction and fungal resistance. *The Plant Cell*, 25(3), 1126–1142.
- Meng, F., Luo, Q., Wang, Q., Zhang, X., Qi, Z., Xu, F., Lei, X., Cao, Y., Chow, W. S., Sun, G. (2016). Physiological and proteomic responses to salt stress in chloroplasts of diploid and tetraploid black locust (*Robinia pseudoacacia* L.). *Scientific Reports*, 6(1), 1–15.
- Meng, D., Garba, B., Ren, Y., Yao, M., Xia, X., Li, M., Wang, Y. (2020). Antifungal activity of chitosan against *Aspergillus ochraceus* and its possible mechanisms of action. *International Journal of Biological Macromolecules*, 158, 1063–1070.
- Merchante, C., Brumos, J., Yun, J., Hu, Q., Spencer, K. R., Enríquez, P., Binder, B. M., Heber, S., Stepanova, A. N., Alonso, J. M. (2015). Gene-specific translation regulation mediated by the hormone-signaling molecule EIN2. *Cell*, 163(3), 684–697.
- Mersmann, S., Bourdais, G., Rietz, S., Robatzek, S. (2010). Ethylene signaling regulates accumulation of the FLS2 receptor and is required for the oxidative burst contributing to plant immunity. *Plant Physiology*, 154(1), 391–400.
- Mignolet-Spruyt, L., Xu, E., Idänheimo, N., Hoeberichts, F. A., Mühlenbock, P., Brosché, M., Van Breusegem, F., Kangasjärvi, J. (2016). Spreading the news: subcellular and organellar reactive oxygen species production and signalling. *Journal of Experimental Botany*, 67(13), 3831–3844.
- Miller, R. N. G., Costa Alves, G. S., Van Sluys, M. A. (2017). Plant immunity: unravelling the complexity of plant responses to biotic stresses. *Annals of Botany*, 119(5), 681–687.
- Mishina, T. E., Zeier, J. (2007). Pathogen-associated molecular pattern recognition rather than development of tissue necrosis contributes to bacterial induction of systemic acquired resistance in *Arabidopsis*. *The Plant Journal*, 50(3), 500–513.
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Suzuki, N., Miller, G. A. D., Tognetti, V. B., Vandepoele, K., Gollery, M., Shulaev, V., Van Breusegem, F. (2011). ROS signaling: the new wave? *Trends in Plant Science*, 16(6), 300–309.
- Mittler, R. (2017). ROS are good. *Trends in Plant Science*, 22(1), 11–19.
- Molassiotis, A., Fotopoulos, V. (2011). Oxidative and nitrosative signaling in plants: two branches in the same tree? *Plant Signaling & Behavior*, 6(2), 210–214.
- Montillet, J. L., Leonhardt, N., Mondy, S., Tranchimand, S., Rumeau, D., Boudsocq, M., Garcia, A. V., Douki, T., Bigeard, J., Laurière, C., Chevalier, A., Castresana, C., Hirt, H. (2013). An abscisic acid-independent oxylipin pathway controls stomatal closure and immune defense in *Arabidopsis*. *PLoS Biology*, 11(3), e1001513.
- Moroz, N., Tanaka, K. (2020). FlgII-28 is a major flagellin-derived defense elicitor in potato. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 33(2), 247–255.
- Moyano, L., Carrau, A., Petrocelli, S., Kraiselburd, I., Gärtner, W., Orellano, E. G. (2020). Bacteriophytochromes from *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 modulate the early stages of

- plant colonization during bacterial speck disease. *European Journal of Plant Pathology*, 156(3), 695-712.
- Muhlenbock, P., Plaszczyca, M., Plaszczyca, M., Mellerowicz, E., Karpinski, S. (2007). Lysigenous aerenchyma formation in *Arabidopsis* is controlled by *LESION SIMULATING DISEASE1*. *The Plant Cell*, 19(11), 3819-3830.
- Muley, A. B., Shingote, P. R., Patil, A. P., Dalvi, S. G., Suprasanna, P. (2019). Gamma radiation degradation of chitosan for application in growth promotion and induction of stress tolerance in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Carbohydrate Polymers*, 210, 289-301.
- Munger, A., Coenen, K., Cantin, L., Goulet, C., Vaillancourt, L. P., Goulet, M. C., Tweddell, R., Sainsbury, F., Michaud, D. (2012). Beneficial 'unintended effects' of a cereal cystatin in transgenic lines of potato, *Solanum tuberosum*. *BMC Plant Biology*, 12(1), 1-12.
- Mur, L. A., Kenton, P., Lloyd, A. J., Ougham, H., Prats, E. (2008a). The hypersensitive response; the centenary is upon us but how much do we know? *Journal of Experimental Botany*, 59(3), 501-520.
- Mur, L. A., Laarhoven, L. J., Harren, F. J., Hall, M. A., Smith, A. R. (2008b). Nitric oxide interacts with salicylate to regulate biphasic ethylene production during the hypersensitive response. *Plant Physiology*, 148(3), 1537-1546.
- Mur, L. A., Lloyd, A. J., Cristescu, S. M., Harren, F. J., Hall, M., Smith, A. (2009). Biphasic ethylene production during the hypersensitive response in *Arabidopsis*: A window into defence priming mechanisms? *Plant Signaling & Behavior*, 4(7), 610-613.
- Mur, L. A., Prats, E., Pierre, S., Hall, M. A., Hebelstrup, K. H. (2013). Integrating nitric oxide into salicylic acid and jasmonic acid/ethylene plant defense pathways. *Frontiers in Plant Science*, 4, 215.
- Mur, L. A., Simpson, C., Kumari, A., Gupta, A. K., Gupta, K. J. (2017). Moving nitrogen to the centre of plant defence against pathogens. *Annals of Botany*, 119(5), 703-709.
- Murata, Y., Mori, I. C., Munemasa, S. (2015). Diverse stomatal signaling and the signal integration mechanism. *Annual Review of Plant Biology*, 66, 369-392.
- Müller, M., Munné-Bosch, S. (2015). Ethylene response factors: a key regulatory hub in hormone and stress signaling. *Plant Physiology*, 169(1), 32-41.
- Nagashima, Y., Ma, Z., Zhang, X., von Schaewen, A., Koiwa, H. (2020). Lack of endoplasmic reticulum quality control (ERQC) promotes tonoplast (TP) targeting of KORRIGAN 1 (KOR1). *Plant Signaling & Behavior*, 15(4), 1744348.
- Nakamichi, N., Kiba, T., Kamioka, M., Suzuki, T., Yamashino, T., Higashiyama, T., Sakakibara, H., Mizuno, T. (2012). Transcriptional repressor PRR5 directly regulates clock-output pathways. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(42), 17123-17128.
- Nandeeshkumar, P., Sudisha, J., Ramachandra, K. K., Prakash, H. S., Niranjana, S. R., Shekar, S. H. (2008). Chitosan induced resistance to downy mildew in sunflower caused by *Plasmopara halstedii*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 72(4-6), 188-194.
- Narula, K., Elagamey, E., Abdellatif, M. A., Sinha, A., Ghosh, S., Chakraborty, N., Chakraborty, S. (2020). Chitosan-triggered immunity to *Fusarium* in chickpea is associated with changes in the plant extracellular matrix architecture, stomatal closure and remodeling of the plant metabolome and proteome. *The Plant Journal*, 103(2), 561-583.
- Nascimento, V. L., Pereira, A. M., Pereira, A. S., Silva, V. F., Costa, L. C., Bastos, C. E. A., Ribeiro, D. M., Caldana, C., Sulpice, R., Nunes-Nesi, A., Zsögön, A., Araújo, W. L. (2021). Physiological and metabolic bases of increased growth in the tomato ethylene-insensitive mutant *Never ripe*: Extending ethylene signaling functions. *Plant Cell Reports*, 40(8), 1377-1393.
- Návarová, H., Bernsdorff, F., Döring, A. C., Zeier, J. (2012). Pipecolic acid, an endogenous mediator of defense amplification and priming, is a critical regulator of inducible plant immunity. *The Plant Cell*, 24(12), 5123-5141.
- Nicaise, V., Roux, M., Zipfel, C. (2009). Recent advances in PAMP-triggered immunity against bacteria: pattern recognition receptors watch over and raise the alarm. *Plant Physiology*, 150(4), 1638-1647.
- Nie, P., Li, X., Wang, S., Guo, J., Zhao, H., Niu, D. (2017). Induced systemic resistance against *Botrytis cinerea* by *Bacillus cereus* AR156 through a JA/ET-and NPR1-dependent signaling pathway and activates PAMP-triggered immunity in *Arabidopsis*. *Frontiers in Plant Science*, 8, 238.
- Noshi, M., Mori, D., Tanabe, N., Maruta, T., Shigeoka, S. (2016). *Arabidopsis* clade IV TGA transcription factors, TGA10 and TGA9, are involved in ROS-mediated responses to bacterial PAMP flg22. *Plant Science*, 252, 12-21.
- Oakenfull, R. J., Davis, S. J. (2017). Shining a light on the *Arabidopsis* circadian clock. *Plant, Cell & Environment*, 40(11), 2571-2585.
- Ohme-Takagi, M., Shinshi, H. (1995). Ethylene-inducible DNA binding proteins that interact with an ethylene-responsive element. *The Plant Cell*, 7(2), 173-182.

- Okajima, K. (2016). Molecular mechanism of phototropin light signaling. *Journal of Plant Research*, 129(2), 149-157.
- Osés-Ruiz, M., Cruz-Mireles, N., Martin-Urdiroz, M., Soanes, D. M., Eseola, A. B., Tang, B., Derbyshire, P., Nielsen, M., Cheema, J., Were, V., Eisermann, I., Kershaw, M. J., Yan, X., Valdovinos-Ponce, G., Molinari, C., Littlejohn, G. R., Valent, B., Menke, F. L. H., Talbot, N. J. (2021). Appressorium-mediated plant infection by *Magnaporthe oryzae* is regulated by a Pmk1-dependent hierarchical transcriptional network. *Nature Microbiology*, 6(11), 1383-1397.
- Ördög, A., Wodala, B., Hideg, É., Ayaydin, F., Deák, Z., Horváth, F. (2011). Chitosan elicited immune response reduces photosynthetic electron transport and ion channel activity in the guard cells of *Vicia*. *Acta Biologica Szegediensis*, 55, 135-138.
- Paik, I., Huq, E. (2019). Plant photoreceptors: Multi-functional sensory proteins and their signaling networks. In *Seminars in Cell & Developmental Biology* (Vol. 92, pp. 114-121). Academic Press.
- Pál, M., Horváth, E., Janda, T., Páldi, E., Szalai, G. (2005). Cadmium stimulates the accumulation of salicylic acid and its putative precursors in maize (*Zea mays*) plants. *Physiologia Plantarum*, 125(3), 356-364.
- Pál, M., Ivanovska, B., Oláh, T., Tajti, J., Hamow, K. Á., Szalai, G., Khalil, R., Vanková, R., Dobrev, P., Misheva, S. P., Janda, T. (2019). Role of polyamines in plant growth regulation of Rht wheat mutants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 137, 189-202.
- Panchal, S., Melotto, M. (2017). Stomate-based defense and environmental cues. *Plant Signaling & Behavior*, 12(9), e1362517.
- 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(5847), 113-116.
- Park, H. C., Lee, S., Park, B., Choi, W., Kim, C., Lee, S., Chung, W. S., Lee, S. Y., Sabir, J., Bressan, R. A., Bohnert, H. J., Mengiste, T., Yun, D. J. (2015). Pathogen associated molecular pattern (PAMP)-triggered immunity is compromised under C-limited growth. *Molecules and Cells*, 38(1), 40.
- Pattyn, J., Vaughan-Hirsch, J., Van de Poel, B. (2021). The regulation of ethylene biosynthesis: a complex multilevel control circuitry. *New Phytologist*, 229(2), 770-782.
- Paulert, R., Ebbinghaus, D., Urlass, C., Moerschbacher, B. M. (2010). Priming of the oxidative burst in rice and wheat cell cultures by ulvan, a polysaccharide from green macroalgae, and enhanced resistance against powdery mildew in wheat and barley plants. *Plant Pathology*, 59(4), 634-642.
- Peian, Z., Haifeng, J., Peijie, G., Sadeghnezhad, E., Qianqian, P., Tianyu, D., Teng, Li., Huanchun, J., Jinggui, F. (2021). Chitosan induces jasmonic acid production leading to resistance of ripened fruit against *Botrytis cinerea* infection. *Food Chemistry*, 337, 127772.
- Pennerman, K. K., Al-Maliki, H. S., Lee, S., Bennett, J. W. (2016). Fungal volatile organic compounds (VOCs) and the genus *Aspergillus*. In *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering* (pp. 95-115). Elsevier.
- Perato, S. M., Furio, R. N., Tomas-Grau, R. H., Caro, M. D. P., Hael-Conrad, V., Díaz-Ricci, J. C., Martinez-Zamora, M. G. (2020). The fungal elicitor AsES requires a functional ethylene pathway to activate the innate immunity in strawberry. *Plant Biology*, 22(6), 1030-1040.
- Petutschnig, E. K., Jones, A. M., Serazetdinova, L., Lipka, U., Lipka, V. (2010). The Lysin Motif Receptor-like Kinase (LysM-RLK) CERK1 Is a Major Chitin-binding Protein in *Arabidopsis thaliana* and Subject to Chitin-induced Phosphorylation. *Journal of Biological Chemistry*, 285(37), 28902-28911.
- Pham, V. N., Kathare, P. K., Huq, E. (2018). Phytochromes and phytochrome interacting factors. *Plant Physiology*, 176(2), 1025-1038.
- Pierik, R., Cuppens, M. L., Voesenek, L. A., Visser, E. J. (2004). Interactions between ethylene and gibberellins in phytochrome-mediated shade avoidance responses in tobacco. *Plant Physiology*, 136(2), 2928-2936.
- Pierik, R., Tholen, D., Poorter, H., Visser, E. J., Voesenek, L. A. (2006). The Janus face of ethylene: growth inhibition and stimulation. *Trends in Plant Science*, 11(4), 176-183.
- Pierik, R., Ballaré, C. L. (2021). Control of plant growth and defense by photoreceptors: from mechanisms to opportunities in agriculture. *Molecular Plant*, 14(1), 61-76.
- Pieterse, C. M., Van Pelt, J. A., Ton, J., Parchmann, S., Mueller, M. J., Buchala, A. J., Métraux, J. P., Van Loon, L. C. (2000). Rhizobacteria-mediated induced systemic resistance (ISR) in *Arabidopsis* requires sensitivity to jasmonate and ethylene but is not accompanied by an increase in their production. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 57(3), 123-134.
- Pieterse, C. M., Van der Does, D., Zamioudis, C., Leon-Reyes, A., Van Wees, S. C. (2012). Hormonal modulation of plant immunity. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 28, 489-521.
- Podolec, R., Demarsy, E., Ulm, R. (2021). Perception and signaling of ultraviolet-B radiation in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 72, 793-822.

- Poór, P., Gémes, K., Horváth, F., Szepesi, A., Simon, M. L., 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(1), 105-114.
- Poór, P., Tari, I. (2012). Regulation of stomatal movement and photosynthetic activity in guard cells of tomato abaxial epidermal peels by salicylic acid. *Functional Plant Biology*, 39(12), 1028-1037.
- Poór, P., Kovács, J., Borbély, P., Takács, Z., Szepesi, Á., Tari, I. (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, 313-322.
- Poór, P., Takács, Z., Bela, K., Czékus, Z., Szalai, G., Tari, I. (2017). Prolonged dark period modulates the oxidative burst and enzymatic antioxidant systems in the leaves of salicylic acid-treated tomato. *Journal of Plant Physiology*, 213, 216-226.
- 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(2), 201-210.
- Poór, P., Czékus, Z., Tari, I., Ördög, A. (2019a). The multifaceted roles of plant hormone salicylic acid in endoplasmic reticulum stress and unfolded protein response. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(23), 5842.
- Poór, P., Czékus, Z., Ördög, A. (2019b). Role of nitric oxide in physiological and stress responses of plants under darkness. in *Reactive Oxygen, Nitrogen and Sulfur Species in Plants: Production, Metabolism, Signaling and Defense Mechanisms*. eds. Hasanuzzaman, M., Fotopoulos, V., Nahar, K., Fujita, M. (Wiley Online Library: Hoboken, NJ, USA) 515-531.
- Popp, M. P., Lesney, M. S., Davis, J. M. (1997). Defense responses elicited in pine cell suspension cultures. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 47(3), 199-205.
- Povero, G., Loreti, E., Pucciariello, C., Santaniello, A., Di Tommaso, D., Di Tommaso, G., Kapetis, D., Zolezzi, F., Piaggese, A., Perata, P. (2011). Transcript profiling of chitosan-treated *Arabidopsis* seedlings. *Journal of Plant Research*, 124(5), 619-629.
- Prasad, R., Gupta, N., Kumar, M., Kumar, V., Wang, S., Abd-Elsalam, K. A. (2017). Nanomaterials act as plant defense mechanism. In *Nanotechnology* (pp. 253-269). Springer, Singapore.
- Prodhan, M. Y., Issak, M., Nakamura, T., Munemasa, S., Nakamura, Y., Murata, Y. (2017). Chitosan signaling in guard cells requires endogenous salicylic acid. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 81(8), 1536-1541.
- Pusztahelyi, T. (2018). Chitin and chitin-related compounds in plant–fungal interactions. *Mycology*, 9(3), 189-201.
- Qi, J., Song, C. P., Wang, B., Zhou, J., Kangasjärvi, J., Zhu, J. K., Gong, Z. (2018a). Reactive oxygen species signaling and stomatal movement in plant responses to drought stress and pathogen attack. *Journal of Integrative Plant Biology*, 60(9), 805-826.
- Qi, C. H., Zhao, X. Y., Jiang, H., Liu, H. T., Wang, Y. X., Hu, D. G., Hao, Y. J. (2018b). Molecular cloning and functional identification of an apple flagellin receptor *MdFLS2* gene. *Journal of Integrative Agriculture*, 17(12), 2694-2703.
- Qiao, H., Shen, Z., Huang, S. S. C., Schmitz, R. J., Urich, M. A., Briggs, S. P., Ecker, J. R. (2012). Processing and subcellular trafficking of ER-tethered EIN2 control response to ethylene gas. *Science*, 338(6105), 390-393.
- Qu, D. Y., Gu, W. R., Zhang, L. G., Li, C. F., Chen, X. C., Li, J., Li, L. J., Xie, T. L., Wei, S. (2019). Role of chitosan in the regulation of the growth, antioxidant system and photosynthetic characteristics of maize seedlings under cadmium stress. *Russian Journal of Plant Physiology*, 66(1), 140-151.
- Rajalingam, N., Lee, Y. H. (2018). Effects of green light on the gene expression and virulence of the plant pathogen *Pseudomonas cichorii* JBC1. *European Journal of Plant Pathology*, 150(1), 223-236.
- Rajamanickam, S., Nakkeeran, S. (2020). Flagellin of *Bacillus amyloliquefaciens* works as a resistance inducer against groundnut bud necrosis virus in chilli (*Capsicum annuum* L.). *Archives of Virology*, 165(7), 1585-1597.
- Ranf, S., Eschen-Lippold, L., Pecher, P., Lee, J., Scheel, D. (2011). Interplay between calcium signalling and early signalling elements during defence responses to microbe-or damage-associated molecular patterns. *The Plant Journal*, 68(1), 100-113.
- Rasool, B., Karpinska, B., Konert, G., Durian, G., Denessiouk, K., Kangasjärvi, S., Foyer, C. H. (2014). Effects of light and the regulatory B-subunit composition of protein phosphatase 2A on the susceptibility of *Arabidopsis thaliana* to aphid (*Myzus persicae*) infestation. *Frontiers in Plant Science*, 5, 405.
- Rendina, N., Nuzzaci, M., Scopa, A., Cuyper, A., Sofo, A. (2019). Chitosan-elicited defense responses in Cucumber mosaic virus (CMV)-infected tomato plants. *Journal of Plant Physiology*, 234, 9-17.

- Riedlmeier, M., Ghirardo, A., Wenig, M., Knappe, C., Koch, K., Georgii, E., Dey, S., Parker, J. E., Schnitzler, J. P., Vlot, A. C. (2017). Monoterpenes support systemic acquired resistance within and between plants. *The Plant Cell*, 29(6), 1440-1459.
- Robatzek, S., Bittel, P., Chinchilla, D., Köchner, P., Felix, G., Shiu, S. H., Boller, T. (2007). Molecular identification and characterization of the tomato flagellin receptor LeFLS2, an orthologue of *Arabidopsis* FLS2 exhibiting characteristically different perception specificities. *Plant Molecular Biology*, 64(5), 539-547.
- Roberts, M. R., Paul, N. D. (2006). Seduced by the dark side: integrating molecular and ecological perspectives on the influence of light on plant defence against pests and pathogens. *New Phytologist*, 170(4), 677-699.
- Roden, L. C., Ingle, R. A. (2009). Lights, rhythms, infection: the role of light and the circadian clock in determining the outcome of plant-pathogen interactions. *The Plant Cell*, 21(9), 2546-2552.
- Rodrigues, M. A., Bianchetti, R. E., Freschi, L. (2014). Shedding light on ethylene metabolism in higher plants. *Frontiers in Plant Science*, 5, 665.
- Rodrigues, O., Reshetnyak, G., Grondin, A., Saijo, Y., Leonhardt, N., Maurel, C., Verdoucq, L. (2017). Aquaporins facilitate hydrogen peroxide entry into guard cells to mediate ABA- and pathogen-triggered stomatal closure. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(34), 9200-9205.
- Rodrigues, O., Shan, L. (2021). Stomata in a state of emergency: H₂O₂ is the target locked. *Trends in Plant Science*, 27(3), 274-286.
- Roeber, V. M., Bajaj, I., Rohde, M., Schmölling, T., Cortleven, A. (2021). Light acts as a stressor and influences abiotic and biotic stress responses in plants. *Plant, Cell & Environment*, 44(3), 645-664.
- Ross, A., Yamada, K., Hiruma, K., Yamashita-Yamada, M., Lu, X., Takano, Y., Tsuda, K., Saijo, Y. (2014). The *Arabidopsis* PEPR pathway couples local and systemic plant immunity. *The EMBO Journal*, 33(1), 62-75.
- Rossard, S., Roblin, G., Atanassova, R. (2010). Ergosterol triggers characteristic elicitation steps in *Beta vulgaris* leaf tissues. *Journal of Experimental Botany*, 61(6), 1807-1816.
- Rossi, F. R., Krapp, A. R., Bisaro, F., Maiale, S. J., Pieckenstein, F. L., Carrillo, N. (2017). Reactive oxygen species generated in chloroplasts contribute to tobacco leaf infection by the necrotrophic fungus *Botrytis cinerea*. *The Plant Journal*, 92(5), 761-773.
- Sagar, S., Singh, A. (2020). Dark-induced hormonal regulation of plant growth and development. *Frontiers in Plant Science*, 11, 1527.
- Saijo, Y., Loo, E. P. I. (2020). Plant immunity in signal integration between biotic and abiotic stress responses. *New Phytologist*, 225(1), 87-104.
- Sano, S., Aoyama, M., Nakai, K., Shimotani, K., Yamasaki, K., Sato, M. H., Tojo, D., Suwastika, I. M., Nomura, H., Shiina, T. (2014). Light-dependent expression of flg22-induced defense genes in *Arabidopsis*. *Frontiers in Plant Science*, 5, 531.
- Santamaría-Hernando, S., Rodríguez-Herva, J. J., Martínez-García, P. M., Río-Álvarez, I., González-Melendi, P., Zamorano, J., Tapia, C., Rodríguez-Palenzuela, P., López-Solanilla, E. (2018). *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* exploits light signals to optimize virulence and colonization of leaves. *Environmental Microbiology*, 20(12), 4261-4280.
- Sartor, F., Eelderink-Chen, Z., Aronson, B., Bosman, J., Hibbert, L. E., Dodd, A. N., Kovács, Á. T., Mero, M. (2019). Are there circadian clocks in non-photosynthetic bacteria? *Biology*, 8(2), 41.
- Sauerbrunn, N., Schlaich, N. L. (2004). PCC1: a merging point for pathogen defence and circadian signalling in *Arabidopsis*. *Planta*, 218(4), 552-561.
- Scala, A., Allmann, S., Mirabella, R., Haring, M. A., Schuurink, R. C. (2013). Green leaf volatiles: a plant's multifunctional weapon against herbivores and pathogens. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(9), 17781-17811.
- Schmidt, A., Mächtel, R., Ammon, A., Engelsdorf, T., Schmitz, J., Maurino, V. G., Voll, L. M. (2020). Reactive oxygen species dosage in *Arabidopsis* chloroplasts can improve resistance towards *Colletotrichum higginsianum* by the induction of WRKY33. *New Phytologist*, 226(1), 189-204.
- Sels, J., Mathys, J., De Coninck, B. M., Cammue, B. P., De Bolle, M. F. (2008). Plant pathogenesis-related (PR) proteins: a focus on PR peptides. *Plant Physiology and Biochemistry*, 46(11), 941-950.
- Seo, D. H., Yoon, G. M. (2019). Light-induced stabilization of ACS contributes to hypocotyl elongation during the dark-to-light transition in *Arabidopsis* seedlings. *The Plant Journal*, 98(5), 898-911.
- Sessa, G., Yang, X. Q., Raz, V., Eyal, Y., Fluhr, R. (1995). Dark induction and subcellular localization of the pathogenesis-related PRB-1b protein. *Plant Molecular Biology*, 28(3), 537-547.
- Shabani, L., Razavizadeh, R. (2019). Chitosan enhances rosmarinic acid production in shoot cultures of *Melissa officinalis* L. through the induction of methyl jasmonate. *Botanical Studies*, 60(1), 1-10.
- Shah, J., Zeier, J. (2013). Long-distance communication and signal amplification in systemic acquired resistance. *Frontiers in Plant Science*, 4, 30.

- Shakeel, S. N., Wang, X., Binder, B. M., Schaller, G. E. (2013). Mechanisms of signal transduction by ethylene: overlapping and non-overlapping signalling roles in a receptor family. *AoB Plants*, 5.
- Shakeel, S. N., Gao, Z., Amir, M., Chen, Y. F., Rai, M. I., Haq, N. U., Schaller, G. E. (2015). Ethylene regulates levels of ethylene receptor/CTR1 signaling complexes in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Biological Chemistry*, 290(19), 12415-12424.
- Sharma, P., Chatterjee, M., Burman, N., Khurana, J. P. (2014). Cryptochrome 1 regulates growth and development in *Brassica* through alteration in the expression of genes involved in light, phytohormone and stress signalling. *Plant, Cell & Environment*, 37(4), 961-977.
- Sheerin, D. J., Menon, C., zur Oven-Krockhaus, S., Enderle, B., Zhu, L., Johnen, P., Schleifenbaum, F., Stierhof, Y. D., Huq, E., Hiltbrunner, A. (2015). Light-activated phytochrome A and B interact with members of the SPA family to promote photomorphogenesis in *Arabidopsis* by reorganizing the COP1/SPA complex. *The Plant Cell*, 27(1), 189-201.
- Shepherd, R., Reader, S., Falshaw, A. (1997). Chitosan functional properties. *Glycoconjugate Journal*, 14(4), 535-542.
- Shi, H., Shen, Q., Qi, Y., Yan, H., Nie, H., Chen, Y., Zhao, T., Katagiri, F., Tang, D. (2013). BR-SIGNALING KINASE1 physically associates with FLAGELLIN SENSING2 and regulates plant innate immunity in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 25(3), 1143-1157.
- Shimazaki, K. I., Doi, M., Assmann, S. M., Kinoshita, T. (2007). Light regulation of stomatal movement. *Annual Review of Plant Biology*, 58, 219-247.
- Shine, M. B., Xiao, X., Kachroo, P., Kachroo, A. (2019). Signaling mechanisms underlying systemic acquired resistance to microbial pathogens. *Plant Science*, 279, 81-86.
- Shinya, T., Nakagawa, T., Kaku, H., Shibuya, N. (2015). Chitin-mediated plant–fungal interactions: catching, hiding and handshaking. *Current Opinion in Plant Biology*, 26, 64-71.
- Shoaib, A., Al-Shehadah, E., Jawhar, M., Arabi, M. I. E. (2020). Pathogenesis-related genes responses in barley plants challenged with pathogenic fungi with different lifestyles. *Cereal Research Communications*, 48(3), 341-346.
- Singh, R., Parihar, P., Singh, S., Mishra, R. K., Singh, V. P., Prasad, S. M. (2017). Reactive oxygen species signaling and stomatal movement: Current updates and future perspectives. *Redox Biology*, 11, 213-218.
- Singh, M. B., Lohani, N., Bhalla, P. L. (2021). The role of endoplasmic reticulum stress response in pollen development and heat stress tolerance. *Frontiers in Plant Science*, 12, 661062.
- Song, Q., Ando, A., Xu, D., Fang, L., Zhang, T., Huq, E., Qiao, H., Deng, X. W., Chen, Z. J. (2018). Diurnal down-regulation of ethylene biosynthesis mediates biomass heterosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(21), 5606-5611.
- Srivastava, N., Gonugunta, V. K., Puli, M. R., Raghavendra, A. S. (2009). Nitric oxide production occurs downstream of reactive oxygen species in guard cells during stomatal closure induced by chitosan in abaxial epidermis of *Pisum sativum*. *Planta*, 229(4), 757-765.
- Srivastava, D., Shamim, M., Kumar, M., Mishra, A., Maurya, R., Sharma, D., Pandey, P., Singh, K. N. (2019). Role of circadian rhythm in plant system: An update from development to stress response. *Environmental and Experimental Botany*, 162, 256-271.
- Stael, S., Kmicik, P., Willems, P., Van Der Kelen, K., Coll, N. S., Teige, M., Van Breusegem, F. (2015). Plant innate immunity—sunny side up? *Trends in Plant Science*, 20(1), 3-11.
- Sticher, L., Hofsteenge, J., Neuhaus, J. M., Boller, T., Meins Jr, F. (1993). Posttranslational Processing of a New Class of Hydroxyproline-Containing Proteins (Prolyl Hydroxylation and C-Terminal Cleavage of Tobacco (*Nicotiana tabacum*) Vacuolar Chitinase). *Plant Physiology*, 101(4), 1239-1247.
- Strasser, R. (2018). Protein quality control in the endoplasmic reticulum of plants. *Annual Review of Plant Biology*, 69, 147.
- Su, J., Liu, B., Liao, J., Yang, Z., Lin, C., Oka, Y. (2017). Coordination of cryptochrome and phytochrome signals in the regulation of plant light responses. *Agronomy*, 7(1), 25.
- Su, J., Yang, L., Zhu, Q., Wu, H., He, Y., Liu, Y., Xu, Y., Jiang, D., Zhang, S. (2018). Active photosynthetic inhibition mediated by MPK3/MPK6 is critical to effector-triggered immunity. *PLoS Biology*, 16(5), e2004122.
- Suarez-Fernandez, M., Marhuenda-Egea, F. C., Lopez-Moya, F., Arnao, M. B., Cabrera-Escribano, F., Nueda, M. J., Gonsé, B., Lopez-Llorca, L. V. (2020). Chitosan induces plant hormones and defenses in tomato root exudates. *Frontiers in Plant Science*, 1677.
- Suetsugu, N., Takami, T., Ebisu, Y., Watanabe, H., Iiboshi, C., Doi, M., Shimazaki, K. I. (2014). Guard cell chloroplasts are essential for blue light-dependent stomatal opening in *Arabidopsis*. *PLoS One*, 9(9), e108374.

- Suhita, D., Raghavendra, A. S., Kwak, J. M., Vavasseur, A. (2004). Cytoplasmic alkalization precedes reactive oxygen species production during methyl jasmonate-and abscisic acid-induced stomatal closure. *Plant Physiology*, 134(4), 1536-1545.
- Sun, T., Zhou, D., Xie, J., Mao, F. (2007). Preparation of chitosan oligomers and their antioxidant activity. *European Food Research and Technology*, 225(3), 451-456.
- Sun, X., Yu, G., Li, J., Liu, J., Wang, X., Zhu, G., Zhang, X., Pan, H. (2018). AcERF2, an ethylene-responsive factor of *Atriplex canescens*, positively modulates osmotic and disease resistance in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Science*, 274, 32-43.
- Sun, T., Huang, J., Xu, Y., Verma, V., Jing, B., Sun, Y., Orduna, A. R., Tian, H., Huang, X., Xia, S., Schafer, L., Jetter, R., Zhang, Y., Li, X. (2020). Redundant CAMTA transcription factors negatively regulate the biosynthesis of salicylic acid and *N*-hydroxypipecolic acid by modulating the expression of *SARD1* and *CBP60g*. *Molecular Plant*, 13(1), 144-156.
- Suzuki, N., Miller, G., Salazar, C., Mondal, H. A., Shulaev, E., Cortes, D. F., Shuman, J. L., Luo, X., Shah, J., Schlauch, K., Shulaev, V., Mittler, R. (2013). Temporal-spatial interaction between reactive oxygen species and abscisic acid regulates rapid systemic acclimation in plants. *The Plant Cell*, 25(9), 3553-3569.
- Taiz, L., Zeiger, E. (2006). Secondary metabolites and plant defense. *Plant Physiology*, 4, 315-344.
- Takács, Z., Poór, P., Tari, I. (2016). Comparison of polyamine metabolism in tomato plants exposed to different concentrations of salicylic acid under light or dark conditions. *Plant Physiology and Biochemistry*, 108, 266-278.
- Takács, Z., Poór, P., Borbély, P., Czékus, Z., Szalai, G., Tari, I. (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, 74-85.
- Thain, S. C., Vandenbussche, F., Laarhoven, L. J., Dowson-Day, M. J., Wang, Z. Y., Tobin, E. M., Harren, F. J. M., Millar, A. J., Van Der Straeten, D. (2004). Circadian rhythms of ethylene emission in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 136(3), 3751-3761.
- Thomma, B. P., Nürnberger, T., Joosten, M. H. (2011). Of PAMPs and effectors: the blurred PTI-ETI dichotomy. *The Plant Cell*, 23(1), 4-15.
- Thor, K., Peiter, E. (2014). Cytosolic calcium signals elicited by the pathogen-associated molecular pattern flg22 in stomatal guard cells are of an oscillatory nature. *New Phytologist*, 204(4), 873-881.
- Thor, K., Jiang, S., Michard, E., George, J., Scherzer, S., Huang, S., Dindas, J., Derbyshire, P., Leitão, N., DeFlaco, T. A., Köster, P., Hunter, K., Kimura, S., Gronnier, J., Stransfeld, L., Kadota, Y., Bücherl, C. A., Charpentier, M., Wrzaczek, M., MacLean, D., Oldroyd, G. E. D., Menke, F. L. H., Roelfsema, M. R. G., Hedrich, R., Feijó, J., Zipfel, C. (2020). The calcium-permeable channel OSCA1.3 regulates plant stomatal immunity. *Nature*, 585(7826), 569-573.
- Tian, S. N., Liu, D. D., Zhong, C. L., Xu, H. Y., Yang, S., Fang, Y., Ran, J., Liu, J. Z. (2020). Silencing *GmFLS2* enhances the susceptibility of soybean to bacterial pathogen through attenuating the activation of *GmMAPK* signaling pathway. *Plant Science*, 292, 110386.
- Tomas-Grau, R. H., Hael-Conrad, V., Requena-Serra, F. J., Perato, S. M., Caro, M. D. P., Salazar, S. M., Díaz-Ricci, J. C. (2020). Biological control of strawberry grey mold disease caused by *Botrytis cinerea* mediated by *Colletotrichum acutatum* extracts. *Biocontrol*, 65(4), 461-473.
- Toruño, T. Y., Stergiopoulos, I., Coaker, G. (2016). Plant-pathogen effectors: cellular probes interfering with plant defenses in spatial and temporal manners. *Annual Review of Phytopathology*, 54, 419-441.
- Toum, L., Torres, P. S., Gallego, S. M., Benavides, M. P., Vojnov, A. A., Gudesblat, G. E. (2016). Coronatine inhibits stomatal closure through guard cell-specific inhibition of NADPH oxidase-dependent ROS production. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1851.
- Trotel-Aziz, P., Couderchet, M., Vernet, G., Aziz, A. (2006). Chitosan stimulates defense reactions in grapevine leaves and inhibits development of *Botrytis cinerea*. *European Journal of Plant Pathology*, 114(4), 405-413.
- Tsuda, K., Sato, M., Stoddard, T., Glazebrook, J., Katagiri, F. (2009). Network properties of robust immunity in plants. *PLoS Genetics*, 5(12), e1000772.
- Tuleski, T. R., Kimball, J., Do Amaral, F. P., Pereira, T. P., Tadra-Sfeir, M. Z., de Oliveira Pedrosa, F., de Souza, E. M., Balint-Kurti, P., Monteiro, R. A., Stacey, G. (2020). *Herbaspirillum rubrisubalbicans* as a phytopathogenic model to study the immune system of *Sorghum bicolor*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 33(2), 235-246.
- Turk, H. (2019). Chitosan-induced enhanced expression and activation of alternative oxidase confer tolerance to salt stress in maize seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, 141, 415-422.
- Turkan, I. (2018). ROS and RNS: key signalling molecules in plants. *Journal of Experimental Botany*, 69(14), 3313.

- Uma, B., Podile, A. R. (2015). Apoplastic oxidative defenses during non-host interactions of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) with *Magnaporthe grisea*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 37(2), 1-10.
- Van Aken, O., Van Breusegem, F. (2015). Licensed to kill: mitochondria, chloroplasts, and cell death. *Trends in Plant Science*, 20(11), 754-766.
- van Aubel, G., Cambier, P., Dieu, M., Van Cutsem, P. (2016). Plant immunity induced by COS-OGA elicitor is a cumulative process that involves salicylic acid. *Plant Science*, 247, 60-70.
- Van Bockhaven, J., Spíchal, L., Novák, O., Strnad, M., Asano, T., Kikuchi, S., Höfte, M., De Vleeschauwer, D. (2015). Silicon induces resistance to the brown spot fungus *Cochliobolus miyabeanus* by preventing the pathogen from hijacking the rice ethylene pathway. *New Phytologist*, 206(2), 761-773.
- Van de Poel, B., Smet, D., Van Der Straeten, D. (2015). Ethylene and hormonal cross talk in vegetative growth and development. *Plant Physiology*, 169(1), 61-72.
- van Loon, L. C., Geraats, B. P., Linthorst, H. J. (2006a). Ethylene as a modulator of disease resistance in plants. *Trends in Plant Science*, 11(4), 184-191.
- van Loon, L. C., Rep, M., Pieterse, C. M. (2006b). Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. *Annual Review of Phytopathology*, 44, 135-162.
- Vanderstraeten, L., Van Der Straeten, D. (2017). Accumulation and transport of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) in plants: current status, considerations for future research and agronomic applications. *Frontiers in Plant Science*, 8, 38.
- Velikova, V., Yordanov, I., Edreva, A. (2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*, 151(1), 59-66.
- Verberne, M. C., Hoekstra, J., Bol, J. F., Linthorst, H. J. (2003). Signaling of systemic acquired resistance in tobacco depends on ethylene perception. *The Plant Journal*, 35(1), 27-32.
- Vernooij, B., Friedrich, L., Morse, A., Reist, R., Kolditz-Jawhar, R., Ward, E., Uknes, S., Kessmann, H., Ryals, J. (1994). Salicylic acid is not the translocated signal responsible for inducing systemic acquired resistance but is required in signal transduction. *The Plant Cell*, 6(7), 959-965.
- Vlot, A. C., Dempsey, D. M. A., Klessig, D. F. (2009). Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease. *Annual Review of Phytopathology*, 47, 177-206.
- Vlot, A. C., Sales, J. H., Lenk, M., Bauer, K., Brambilla, A., Sommer, A., Chen, Y., Wenig, M., Nayem, S. (2021). Systemic propagation of immunity in plants. *New Phytologist*, 229(3), 1234-1250.
- Vos, I. A., Pieterse, C. M., Van Wees, S. C. (2013). Costs and benefits of hormone-regulated plant defences. *Plant Pathology*, 62, 43-55.
- Wan, S., Jiang, L. (2016). Endoplasmic reticulum (ER) stress and the unfolded protein response (UPR) in plants. *Protoplasma*, 253(3), 753-764.
- Wang, Y., Chen, C., Loake, G. J., Chu, C. (2010). Nitric oxide: promoter or suppressor of programmed cell death? *Protein & Cell*, 1(2), 133-142.
- Wang, H., Liu, G., Li, C., Powell, A. L., Reid, M. S., Zhang, Z., Jiang, C. Z. (2013). Defence responses regulated by jasmonate and delayed senescence caused by ethylene receptor mutation contribute to the tolerance of petunia to *Botrytis cinerea*. *Molecular Plant Pathology*, 14(5), 453-469.
- Wang, C., El-Shetehy, M., Shine, M. B., Yu, K., Navarre, D., Wendehenne, D., Kachroo, A., Kachroo, P. (2014). Free radicals mediate systemic acquired resistance. *Cell Reports*, 7(2), 348-355.
- Wang, H., Niu, H., Zhai, Y., Lu, M. (2017a). Characterization of *BiP* genes from pepper (*Capsicum annuum* L.) and the role of *CaBiP1* in response to endoplasmic reticulum and multiple abiotic stresses. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1122.
- Wang, H., Lin, J., Chang, Y., Jiang, C. Z. (2017b). Comparative transcriptomic analysis reveals that ethylene/H₂O₂-mediated hypersensitive response and programmed cell death determine the compatible interaction of sand pear and *Alternaria alternata*. *Frontiers in Plant Science*, 8, 195.
- Wang, Y., Schuck, S., Wu, J., Yang, P., Döring, A. C., Zeier, J., Tsuda, K. (2018a). A MPK3/6-WRKY33-ALD1-pipecolic acid regulatory loop contributes to systemic acquired resistance. *The Plant Cell*, 30(10), 2480-2494.
- Wang, C., Liu, R., Lim, G. H., de Lorenzo, L., Yu, K., Zhang, K., Hunt, A. G., Kachroo, A., Kachroo, P. (2018b). Pipecolic acid confers systemic immunity by regulating free radicals. *Science Advances*, 4(5), eaar4509.
- Wang, S., Zheng, Y., Gu, C., He, C., Yang, M., Zhang, X., Guo, J., Zhao, H., Niu, D. (2018c). *Bacillus cereus* AR156 activates defense responses to *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* in *Arabidopsis thaliana* similarly to flg22. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 31(3), 311-322.
- Wang, C., Huang, X., Li, Q., Zhang, Y., Li, J. L., Mou, Z. (2019). Extracellular pyridine nucleotides trigger plant systemic immunity through a lectin receptor kinase/BAK1 complex. *Nature Communications*, 10(1), 1-16.
- Wang, J., Chai, J. (2020). Structural insights into the plant immune receptors PRRs and NLRs. *Plant Physiology*, 182(4), 1566-1581.

- Wang, X., Gao, X., Liu, Y., Fan, S., Ma, Q. (2020). Progress of research on the regulatory pathway of the plant shade-avoidance syndrome. *Frontiers in Plant Science*, 11, 439.
- Wang, Q., Lin, C. (2020). Mechanisms of cryptochrome-mediated photoreponses in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 71, 103-129.
- Wang, S., Fan, H., Zhao, D., Zhu, X., Wang, Y., Liu, X., Liu, D., Duan, Y., Chen, L. (2021). Multifunctional efficacy of the nodule endophyte *Pseudomonas fragi* in stimulating tomato immune response against *Meloidogyne incognita*. *Biological Control*, 164, 104773.
- Wang, Z., Gou, X. (2021). The First Line of Defense: Receptor-like Protein Kinase-Mediated Stomatal Immunity. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(1), 343.
- Weckx, J., Poucke, M. V. (1989). The effect of white light on the ethylene biosynthesis of intact green seedlings. In *Biochemical and Physiological Aspects of Ethylene Production in Lower and Higher Plants* (pp. 279-290). Springer, Dordrecht.
- Wen, C. K. (Ed.). (2014). *Ethylene in Plants*. Springer.
- Wenig, M., Ghirardo, A., Sales, J. H., Pabst, E. S., Breitenbach, H. H., Antritter, F., Weber, B., Lange, B., Lenk, M., Cameron, L. K., Schnitzler, J. P., Vlot, A. C. (2019). Systemic acquired resistance networks amplify airborne defense cues. *Nature Communications*, 10(1), 1-14.
- Wi, S. J., Ji, N. R., Park, K. Y. (2012). Synergistic biosynthesis of biphasic ethylene and reactive oxygen species in response to hemibiotrophic *Phytophthora parasitica* in tobacco plants. *Plant Physiology*, 159(1), 251-265.
- Wu, L., Yang, H. Q. (2010). CRYPTOCHROME 1 is implicated in promoting R protein-mediated plant resistance to *Pseudomonas syringae* in *Arabidopsis*. *Molecular Plant*, 3(3), 539-548.
- Wu, D., Hu, Q., Yan, Z., Chen, W., Yan, C., Huang, X., Zhang, J., Yang, P., Deng, H., Wang, J., Deng, X. W., Shi, Y. (2012). Structural basis of ultraviolet-B perception by UVR8. *Nature*, 484(7393), 214-219.
- Wu, L., McGrane, R. S., Beattie, G. A. (2013). Light regulation of swarming motility in *Pseudomonas syringae* integrates signaling pathways mediated by a bacteriophytochrome and a LOV protein. *MBio*, 4(3), e00334-13.
- Wu, L., Chen, H., Curtis, C., Fu, Z. Q. (2014). Go in for the kill: How plants deploy effector-triggered immunity to combat pathogens. *Virulence*, 5(7), 710-721.
- Wu, L., Wu, H., Chen, L., Zhang, H., Gao, X. (2017). Induction of systemic disease resistance in *Nicotiana benthamiana* by the cyclodipeptides cyclo (l-Pro-l-Pro) and cyclo (d-Pro-d-Pro). *Molecular Plant Pathology*, 18(1), 67-74.
- Xia, X. J., Zhou, Y. H., Shi, K., Zhou, J., Foyer, C. H., Yu, J. Q. (2015). Interplay between reactive oxygen species and hormones in the control of plant development and stress tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 66(10), 2839-2856.
- Xiang, S., Wu, S., Zhang, H., Mou, M., Chen, Y., Li, D., Wang, H., Chen, L., Yu, D. (2020). The PIFs redundantly control plant defense response against *Botrytis cinerea* in *Arabidopsis*. *Plants*, 9(9), 1246.
- Xing, K., Zhu, X., Peng, X., Qin, S. (2015). Chitosan antimicrobial and eliciting properties for pest control in agriculture: a review. *Agronomy for Sustainable Development*, 35(2), 569-588.
- Xing, L., Di, Z., Yang, W., Liu, J., Li, M., Wang, X., Cui, C., Wang, X., Wang, X., Zhang, R., Xiao, J., Cao, A. (2017). Overexpression of *ERF1-V* from *Haynaldia villosa* can enhance the resistance of wheat to powdery mildew and increase the tolerance to salt and drought stresses. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1948.
- Xiong, L., Xiao, D., Xu, X., Guo, Z., Wang, N. N. (2014). The non-catalytic N-terminal domain of ACS7 is involved in the post-translational regulation of this gene in *Arabidopsis*. *Journal of Experimental Botany*, 65(15), 4397-4408.
- Xu, X., Paik, I., Zhu, L., Huq, E. (2015). Illuminating progress in phytochrome-mediated light signaling pathways. *Trends in Plant Science*, 20(10), 641-650.
- Xu, D., Li, H., Lin, L., Liao, M. A., Deng, Q., Wang, J., Lv, X., Deng, H., Liang, D., Xia, H. (2020). Effects of carboxymethyl chitosan on the growth and nutrient uptake in *Prunus davidiana* seedlings. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 26(4), 661-668.
- Yan, Q., Fong, S. S. (2018). Cloning and characterization of a chitinase from *Thermobifida fusca* reveals Tfu_0580 as a thermostable and acidic endochitinase. *Biotechnology Reports*, 19, e00274.
- Yang, Y. X., Wang, M. M., Yin, Y. L., Onac, E., Zhou, G. F., Peng, S., Xia, X. J., Shi, K., Yu, J. Q., Zhou, Y. H. (2015). RNA-seq analysis reveals the role of red light in resistance against *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 in tomato plants. *BMC Genomics*, 16(1), 1-16.
- Yang, C., Li, L. (2017). Hormonal regulation in shade avoidance. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1527.
- Yang, C., Li, W., Cao, J., Meng, F., Yu, Y., Huang, J., Jiang, L., Liu, M., Zhang, Z., Chen, X., Miyamoto, K., Yamane, H., Zhang, J., Chen, S., Liu, J. (2017). Activation of ethylene signaling pathways enhances disease resistance by regulating ROS and phytoalexin production in rice. *The Plant Journal*, 89(2), 338-353.

- Yang, J., Duan, G., Li, C., Liu, L., Han, G., Zhang, Y., Wang, C. (2019). The crosstalks between jasmonic acid and other plant hormone signaling highlight the involvement of jasmonic acid as a core component in plant response to biotic and abiotic stresses. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1349.
- Yang, H., Sun, Y., Wang, H., Zhao, T., Xu, X., Jiang, J., Li, J. (2021). Genome-wide identification and functional analysis of the *ERF2* gene family in response to disease resistance against *Stemphylium lycopersici* in tomato. *BMC Plant Biology*, 21(1), 1-13.
- Ye, W., Munemasa, S., Shinya, T., Wu, W., Ma, T., Lu, J., Kinoshita, T., Kaku, H., Shibuya, N., Murata, Y. (2020). Stomatal immunity against fungal invasion comprises not only chitin-induced stomatal closure but also chitosan-induced guard cell death. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(34), 20932-20942.
- Yen, H. C., Lee, S., Tanksley, S. D., Lanahan, M. B., Klee, H. J., Giovannoni, J. J. (1995). The tomato *Never-ripe* locus regulates ethylene-inducible gene expression and is linked to a homolog of the *Arabidopsis ETR1* gene. *Plant Physiology*, 107(4), 1343-1353.
- Yin, H., Li, S., Zhao, X., Du, Y., Ma, X. (2006). cDNA microarray analysis of gene expression in *Brassica napus* treated with oligochitosan elicitor. *Plant Physiology and Biochemistry*, 44(11-12), 910-916.
- Yin, H., Du, Y., Zhang, J. (2009). Low molecular weight and oligomeric chitosans and their bioactivities. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 9(16), 1546-1559.
- Yin, H., Li, Y., Zhang, H. Y., Wang, W. X., Lu, H., Grevsen, K., Zhao, X., Du, Y. (2013). Chitosan oligosaccharides-triggered innate immunity contributes to oilseed rape resistance against *Sclerotinia Sclerotiorum*. *International Journal of Plant Sciences*, 174(4), 722-732.
- Yin, R., Ulm, R. (2017). How plants cope with UV-B: from perception to response. *Current Opinion in Plant Biology*, 37, 42-48.
- Yoon, G. M., Kieber, J. J. (2013). ACC synthase and its cognate E3 ligase are inversely regulated by light. *Plant Signaling & Behavior*, 8(12), e26478.
- Yoon, G. M. (2015). New insights into the protein turnover regulation in ethylene biosynthesis. *Molecules and Cells*, 38(7), 597.
- Yu, K., Soares, J. M., Mandal, M. K., Wang, C., Chanda, B., Gifford, A. N., Fowler, J. S., Navarre, D., Kachroo, A., Kachroo, P. (2013). A feedback regulatory loop between G3P and lipid transfer proteins DIR1 and AZI1 mediates azelaic-acid-induced systemic immunity. *Cell Reports*, 3(4), 1266-1278.
- Yu, C., Chen, H., Tian, F., Leach, J. E., He, C. (2014). Differentially-expressed genes in rice infected by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* relative to a flagellin-deficient mutant reveal potential functions of flagellin in host-pathogen interactions. *Rice*, 7(1), 1-11.
- Yu, X., Feng, B., He, P., Shan, L. (2017). From chaos to harmony: responses and signaling upon microbial pattern recognition. *Annual Review of Phytopathology*, 55, 109-137.
- Yu, Y., Huang, R. (2017). Integration of ethylene and light signaling affects hypocotyl growth in *Arabidopsis*. *Frontiers in Plant Science*, 8, 57.
- Yu, Z., Cao, J., Zhu, S., Zhang, L., Peng, Y., Shi, J. (2020). Exogenous nitric oxide enhances disease resistance by nitrosylation and inhibition of S-nitrosoglutathione reductase in peach fruit. *Frontiers in Plant Science*, 543.
- Yu, T. Y., Sun, M. K., Liang, L. K. (2021a). Receptors in the induction of the plant innate immunity. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 34(6), 587-601.
- Yu, Y., Xu, M., Ding, X., Chu, Z., Liu, H. (2021b). Activating the MYB51 and MYB122 to upregulate the transcription of glucosinolates biosynthesis genes by copper ions in *Arabidopsis*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 162, 496-505.
- Zandalinas, S. I., Sengupta, S., Burks, D., Azad, R. K., Mittler, R. (2019). Identification and characterization of a core set of ROS wave-associated transcripts involved in the systemic acquired acclimation response of *Arabidopsis* to excess light. *The Plant Journal*, 98(1), 126-141.
- Zeier, J., Pink, B., Mueller, M. J., Berger, S. (2004). Light conditions influence specific defence responses in incompatible plant-pathogen interactions: uncoupling systemic resistance from salicylic acid and PR-I accumulation. *Planta*, 219(4), 673-683.
- Zeng, W., Melotto, M., He, S. Y. (2010). Plant stomata: a checkpoint of host immunity and pathogen virulence. *Current Opinion in Biotechnology*, 21(5), 599-603.
- Zhang, X., Zhang, L., Dong, F., Gao, J., Galbraith, D. W., Song, C. P. (2001). Hydrogen peroxide is involved in abscisic acid-induced stomatal closure in *Vicia faba*. *Plant Physiology*, 126(4), 1438-1448.
- Zhang, W., He, S. Y., Assmann, S. M. (2008). The plant innate immunity response in stomatal guard cells invokes G-protein-dependent ion channel regulation. *The Plant Journal*, 56(6), 984-996.
- Zhang, C., Xie, Q., Anderson, R. G., Ng, G., Seitz, N. C., Peterson, T., McClung, C. R., McDowell, J. M., Kong, D., Kwak, J. M., Lu, H. (2013). Crosstalk between the circadian clock and innate immunity in *Arabidopsis*. *PLoS Pathogens*, 9(6), e1003370.

- Zhang, H., Huang, L., Dai, Y., Liu, S., Hong, Y., Tian, L., Huang, L., Cao, Z., Li, D., Song, F. (2015). *Arabidopsis* AtERF15 positively regulates immunity against *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 and *Botrytis cinerea*. *Frontiers in Plant Science*, 6, 686.
- Zhang, H., Hong, Y., Huang, L., Li, D., Song, F. (2016). *Arabidopsis* AtERF014 acts as a dual regulator that differentially modulates immunity against *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* and *Botrytis cinerea*. *Scientific Reports*, 6(1), 1-15.
- Zhang, X., Valdés-López, O., Arellano, C., Stacey, G., Balint-Kurti, P. (2017). Genetic dissection of the maize (*Zea mays* L.) MAMP response. *Theoretical and Applied Genetics*, 130(6), 1155-1168.
- Zhang, M., Chiang, Y. H., Toruño, T. Y., Lee, D., Ma, M., Liang, X., Lal, N. K., Lemos, M., Lu, Y. J., Ma, S., Liu, J., Day, B., Dinesh-Kumar, S. P., Dehesh, K., Dou, D., Zhou, J. M., Coaker, G. (2018). The MAP4 kinase SIK1 ensures robust extracellular ROS burst and antibacterial immunity in plants. *Cell Host & Microbe*, 24(3), 379-391.
- Zhang, Y., Li, X. (2019). Salicylic acid: biosynthesis, perception, and contributions to plant immunity. *Current Opinion in Plant Biology*, 50, 29-36.
- Zhang, J., Ren, Z., Zhou, Y., Ma, Z., Ma, Y., Hou, D., Xu, Z., Huang, X. (2019). NPR1 and Redox rhythm: connections, between circadian clock and plant immunity. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(5), 1211.
- Zhang, Y., Zhang, A., Li, X., Lu, C. (2020a). The role of chloroplast gene expression in plant responses to environmental stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(17), 6082.
- Zhang, J., Zhang, Y., Song, S., Su, W., Hao, Y., Liu, H. (2020b). Supplementary red light results in the earlier ripening of tomato fruit depending on ethylene production. *Environmental and Experimental Botany*, 175, 104044.
- Zhang, T. Y., Li, Z. Q., Zhao, Y. D., Shen, W. J., Chen, M. S., Gao, H. Q., Ge, X. M., Wang, H. Q., Li, X., He, J. M. (2021). Ethylene-induced stomatal closure is mediated via MKK1/3–MPK3/6 cascade to EIN2 and EIN3. *Journal of Integrative Plant Biology*, 63(7), 1324-1340.
- Zhao, X., Chen, T., Feng, B., Zhang, C., Peng, S., Zhang, X., Fu, G., Tao, L. (2017). Non-photochemical quenching plays a key role in light acclimation of rice plants differing in leaf color. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1968.
- Zhao, H., Duan, K. X., Ma, B., Yin, C. C., Hu, Y., Tao, J. J., Huang, Y. H., Cao, W. Q., Chen, H., Yang, C., Zhang, Z. G., He, S. J., Zhang, W. K., Wan, X. Y., Lu, T. G., Chen, S. Y., Zhang, J. S. (2020). Histidine kinase MHZ1/OsHK1 interacts with ethylene receptors to regulate root growth in rice. *Nature Communications*, 11(1), 1-13.
- Zheng, Z., Qamar, S. A., Chen, Z., Mengiste, T. (2006). *Arabidopsis* WRKY33 transcription factor is required for resistance to necrotrophic fungal pathogens. *The Plant Journal*, 48(4), 592-605.
- Zheng, X. Y., Zhou, M., Yoo, H., Pruneda-Paz, J. L., Spivey, N. W., Kay, S. A., Dong, X. (2015). Spatial and temporal regulation of biosynthesis of the plant immune signal salicylic acid. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(30), 9166-9173.
- Zheng, H., Dong, L., Han, X., Jin, H., Yin, C., Han, Y., Li, B., Qin, H., Zhang, J., Shen, Q., Zhang, K., Wang, D. (2020). The *TuMYB46L-TuACO3* module regulates ethylene biosynthesis in einkorn wheat defense to powdery mildew. *New Phytologist*, 225(6), 2526-2541.
- Zhong, S., Shi, H., Xue, C., Wang, L., Xi, Y., Li, J., Quail, P. H., Deng, X. W., Guo, H. (2012). A molecular framework of light-controlled phytohormone action in *Arabidopsis*. *Current Biology*, 22(16), 1530-1535.
- Zhou, M., Wang, W., Karapetyan, S., Mwimba, M., Marqués, J., Buchler, N. E., Dong, X. (2015). Redox rhythm reinforces the circadian clock to gate immune response. *Nature*, 523(7561), 472-476.
- Zhu, X., Qi, L., Liu, X., Cai, S., Xu, H., Huang, R., Li, J., Wei, X., Zhang, Z. (2014). The wheat ethylene response factor transcription factor pathogen-induced ERF1 mediates host responses to both the necrotrophic pathogen *Rhizoctonia cerealis* and freezing stresses. *Plant Physiology*, 164(3), 1499-1514.
- Zipfel, C., Robatzek, S., Navarro, L., Oakeley, E. J., Jones, J. D., Felix, G., Boller, T. (2004). Bacterial disease resistance in *Arabidopsis* through flagellin perception. *Nature*, 428(6984), 764-767.
- Zipfel, C., Oldroyd, G. E. (2017). Plant signalling in symbiosis and immunity. *Nature*, 543(7645), 328-336.
- Zoltowski, B. D., Imaizumi, T. (2014). Structure and function of the ZTL/FKF1/LKP2 group proteins in *Arabidopsis*. *The Enzymes*, 35, 213-239.
- Zou, H., Gowda, S., Zhou, L., Hajeri, S., Chen, G., Duan, Y. (2012). The destructive citrus pathogen, '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' encodes a functional flagellin characteristic of a pathogen-associated molecular pattern. *PLoS One*, 7:e46447.

10. Mellékletek

1. melléklet: A qRT-PCR analízishez használt oligonukleotid primer párok

Név	Rövidítés	Azonosító	Írány	Szekvencia (5'-3')
ACC oxidáz 1	<i>SIACO1</i>	Solyc07g049530	Forward	ATGTCCTAAGCCCGATTGA
			Reverz	CCTCCTGCGTCTGTATGAGC
ACC szintáz 6	<i>SIACS6</i>	Solyc08g008100	Forward	AGGGTTTCCTGGATTAGGG
			Reverz	GACAACGGCATCATTGTACG
Binding Protein	<i>SIBiP</i>	Solyc08g082820	Forward	TCAGAAAGACAATGGGACCTG
			Reverz	GCTTCCACCAACAAGAACAAT
Elongációs faktor 1 α	<i>SIEF1α</i>	Solyc06g005060	Forward	GACAGGCGTTCAGGTAAGGA
			Reverz	TGGAGGGTATTCAGCAAAGG
Ethylene Response Factor 1	<i>SIERF1</i>	Solyc05g051200	Forward	GGAACATTGATACTGCTGAAGA
			Reverz	AGAGACCAAGGACCCCTCAT
Defenzin	<i>SIDEF</i>	Solyc07g007760	Forward	TTGGTCCCATTTCAGTAGCC
			Reverz	GGCACAATCCATTTCGTTTCT
Pathogene Related 1	<i>SIPR1</i>	Solyc01g106620	Forward	CATCCCGAGCACAAACTATG
			Reverz	CCCCAGCACCAGAATGAAT
Pathogene Related 3	<i>SIPR3</i>	Solyc02g061770	Forward	CCATCCACCCGTAGTTTCAT
			Reverz	AAAACATTTGCTGCCTTTGG

Az NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) és Sol Genomics (<http://solgenomics.net/>) adatbázisokból azonosított szekvenciákra a Primer 3 szoftver segítségével terveztünk primereket (1. melléklet), melyek génspecifitását az NCBI BLAST segítségével ellenőriztük (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) (Takács és mtsai. 2016).

11. Publikációs lista

MTMT azonosító: 10058420

11.1. Referált folyóiratokban megjelent közlemények

(A *-gal jelölt közlemények közvetlenül kapcsolódnak a Ph.D. értekezéshez)

***Czékus, Z.**, Koprivanacz, P., Kukri, A., Iqbal, N., Ördög, A., Poór, P. (2022). The role of photosynthetic activity in the regulation of flg22-induced local and systemic defence reaction in tomato. *Photosynthetica*, 60(2), 105-114. **IF: 2,482 (2021)**

Takács, Z., **Czékus, Z.**, Tari, I., Poór, P. (2022). The role of ethylene signalling in the regulation of salt stress response in mature tomato fruits: Metabolism of antioxidants and polyamines. *Journal of Plant Physiology*, 153793. **IF: 3,686 (2021)**

Czékus, Z., Szalai, G., Tari, I., Khan, M. I. R., Poór, P. (2022). Role of ethylene in ER stress and the unfolded protein response in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 181, 1-11. **IF: 5,437 (2021)**

Dudits, D., Cseri, A., Török, K., Sass, L., Zombori, Z., Ferenc, Gy., Poór, P., Borbély, P., **Czékus, Z.**, Vankova, R., Dobrev, P., Szántó, J., Bagi, Z., Kovács, K. L. (2022). Triploid Hybrid Vigor in Above-Ground Growth and Methane Fermentation Efficiency of Energy Willow. *Frontiers in Plant Science*, 13, 1-14. **IF: 6,627 (2021)**

Iqbal, N., **Czékus, Z.**, Angeli, C., Bartók, T., Poór, P., Ördög, A. (2022). Fumonisin B1-Induced Oxidative Burst Perturbed Photosynthetic Activity and Affected Antioxidant Enzymatic Response in Tomato Plants in Ethylene-Dependent Manner. *Journal of Plant Growth Regulation*, 42. <http://doi.org/10.1007/s00344-022-10665-7> **IF: 4,64 (2021)**

***Czékus, Z.**, Kukri, A., Hamow, K. Á., Szalai, G., Tari, I., Ördög, A., Poór, P. (2021). Activation of Local and Systemic Defence Responses by Flg22 Is Dependent on Daytime and Ethylene in Intact Tomato Plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(15). **IF: 6,208**

***Czékus, Z.**, Iqbal, N., Pollák, B., Martics, A., Ördög, A., Poór, P. (2021). Role of ethylene and light in chitosan-induced local and systemic defence responses of tomato plants. *Journal of Plant Physiology*, 263. **IF: 3,686**

Gallé, A., **Czékus, Z.**, Tóth, L., Galgóczy, L., Poór, P. (2021). Pest and disease management by red light. *Plant Cell and Environment*, 44(10), 3197-3210. **IF: 7,947**

Iqbal, N., **Czékus, Z.**, Ördög, A., Poór, P. (2021). Ethylene-dependent effects of fusaric acid on the photosynthetic activity of tomato plants. *Photosynthetica*, 59(2), 337-348. **IF: 2,482**

Iqbal, N., **Czékus, Z.**, Poór, P., Ördög, A. (2021). Plant defence mechanisms against mycotoxin fumonisin B1. *Chemico-Biological Interactions*, 342. **IF: 5,168**

Czékus, Z., Csikos, O., Ördög, A., Tari, I., Poór, P. (2020). Effects of Jasmonic Acid in ER Stress and Unfolded Protein Response in Tomato Plants. *Biomolecules*, 10(7). **IF: 4,879**

Czékus, Z., Farkas, M., Bakacsy, L., Ördög, A., Gallé, Á., Poór, P. (2020). Time-Dependent Effects of Bentazon Application on the Key Antioxidant Enzymes of Soybean and Common Ragweed. *Sustainability*, 12(9). **IF: 3,251**

***Czékus, Z., Poór, P., Tari, I., Ördög, A. (2020).** Effects of Light and Daytime on the Regulation of Chitosan-Induced Stomatal Responses and Defence in Tomato Plants. *Plants-Basel*, 9(1).
IF: 3,935

Gallé, Á., **Czékus, Z.**, Bela, K., Horváth, E., Ördög, A., Csiszár, J., Poór, P. (2019). Plant Glutathione Transferases and Light. *Frontiers in Plant Science*, 9. **IF: 4,402**

Poór, P., **Czékus, Z.**, Tari, I., Ördög, A. (2019). The Multifaceted Roles of Plant Hormone Salicylic Acid in Endoplasmic Reticulum Stress and Unfolded Protein Response. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(23), 5842. **IF: 4,556**

Poór, P., Borbély, P., **Czékus, Z.**, Takács, Z., Ördög, A., Popović, B., Tari, I. (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, 130-140. **IF: 3,013**

Gallé, Á., **Czékus, Z.**, Bela, K., Horváth, E., Csiszár, J., Poór, P. (2018). Diurnal changes in tomato glutathione transferase activity and expression. *Acta Biologica Hungarica (1983-2018)*, 69(4), 505-509. **IF: 0,679**

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(2), 201-210. **IF: 1,384**

Takács, Z., Poór, P., Borbély, P., **Czékus, Z.**, Szalai, G., Tari, I. (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, 74-85. **IF: 3,404**

Poór, P., Takács, Z., Bela, K., **Czékus, Z.**, Szalai, G., Tari, I. (2017). Prolonged dark period modulates the oxidative burst and enzymatic antioxidant systems in the leaves of salicylic acid-treated tomato. *Journal of Plant Physiology*, 213, 216-226. **IF: 2,833**

Összesített IF: 80,699

11.2. Referált folyóiratokban megjelent absztraktok

Zalán, C. (2021). Role of jasmonic acid in chitosan-induced plant defence responses. *Acta Biologica Szegediensis*, 65(1), 125-125.

Zalán, C. (2019). Chitosan-induced changes of immune responses in tomato plants. *Acta Biologica Szegediensis*, 63(1), 69-69.

Zalán, C. (2018). Effects of tunicamycin on photosynthetic activity. *Acta Biologica Szegediensis*, 62(1), 107-107.

11.3. Könyvfejezetek

Poór, P., **Czékus, Z.**, Ördög, A. (2020). A főbb növényi nem-enzimikus antioxidánsok szerepe sötétben. *Oxidatív Stressz és Antioxidáns Védekezés a Növényvilágtól a Klinikumig* (pp. 20-28).

Poór, P., **Czékus, Z.**, Ördög, A. (2020). Role of Jasmonates in Plant Abiotic Stress Tolerance. *Improving Abiotic Stress Tolerance in Plants* (pp. 155-176).

Poór, P., **Czékus, Z.**, Ördög, A. (2019). Role and Regulation of Glucose as a Signal Molecule to Salt Stress. *Plant Signaling Molecules: Role and Regulation under Stressful Environments* (p. 193).

Poór, P., **Czékus, Z.**, Ördög, a. (2019). Role of Nitric Oxide in Physiological and Stress Responses of Plants Under Darkness. *Reactive Oxygen, Nitrogen and Sulfur Species in Plants: Production, Metabolism, Signaling and Defense Mechanisms* (pp. 515-531).

11.4. Konferencia előadások

Czékus, Z., Koprivanacz, P., Kukri, A., Nadeem, I., Ördög, A., Poór, P. (2021). A sztómareguláció és a fotoszintézis szerepének vizsgálata az flg22 által indukált napszak-függő védekezésben. *A Magyar Szabadgyök-Kutató Társaság XI. Kongresszusa*, Zoom meeting, Magyarország, 2021.08.27. (p. 21).

Czékus, Z., Iqbal, N., Kukri, A., Koprivanacz, P., Ördög, A., Poór, P. (2021). Hexokinázok szerepének vizsgálata a flagellin-indukálta védekezési folyamatokban. *XXIV. Tavaszi Szél Konferencia*, Zoom meeting, Magyarország, 2021.05.28-30. (p. 169).

Iqbal, N., **Czékus, Z.**, Ördög, A., Poór, P. (2021). Ethylene-dependent effects of fumonisin B1 on the metabolism of reactive oxygen species in tomato plants. *XXIV. Tavaszi Szél Konferencia*, Zoom meeting, Magyarország, 2021.05.28-30. (p. 168).

Nadeem, I., **Zalán, C.**, Attila, Ö., Péter, P. (2021). Ethylene-dependent effects of fumonisin B1 on the ROS metabolism in tomato plants. *A Magyar Szabadgyök-Kutató Társaság XI. Kongresszusa*, Zoom meeting, Magyarország, 2021.08.27. (p. 10).

Poór, P., **Czékus, Z.**, Iqbal, N., Ördög, A., Borbély, P., Takács, Z., Tari, I. (2021). A növények védekezése a sötétben. *XIII. Magyar Növénybiológiai Kongresszus*, Szeged, Magyarország, 2021.08.24-27. (p. 42).

Poór, P., **Czékus, Z.**, Koprivanacz, P., Kukri, A., Nadeem, I., Ördög, A. (2021). A bakteriális elicitor flg22 napszakfüggő hatása a mezofillum és a zárósejtek fotoszintetikus aktivitására. *XVI. Magyar Növényanatómiai Szimpózium*, Zoom meeting, Magyarország, 2021.11.12. (p. 12).

Czékus, Z., Iqbal, N., Csóré, D., Martics, A., Pollák, B., Ördög, A., Poór, P. (2020). Az etilén és a fény szerepének vizsgálata a kitozán által indukált védekezési folyamatokban. *XXIII. Tavaszi Szél Konferencia*, Zoom meeting, Magyarország, 2020.10.16. (pp. 125-125).

Iqbal, N., **Czékus, Z.**, Poór, P., Ördög, A. (2020). Ethylene-dependent effects of fumonisin B1 on the photosynthetic activity of tomato plants. *XXIII. Tavaszi Szél Konferencia*, Zoom meeting, Magyarország, 2020.10.16. (pp. 133-133).

Nadeem, I., **Zalán, C.**, Péter, P., Attila, Ö. (2020). Ethylene-dependent effects of Fusaric acid on the photosynthetic activity of tomato plants. *IX. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia*, Zoom meeting, Magyarország, 2020.11.27-28. (p. 170).

Zalán, C., Nadeem, I., Atina, M., Boglárka, P., Attila, Ö., Péter, P. (2020). Investigation of chitosan-induced plant defence responses regulated by jasmonic acid. *IX. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia*, Zoom meeting, Magyarország, 2020.11.27-28. (p. 169).

Czékus, Z., Kukri, A., Ördög, A., Poór, P. (2019). Kitozán-indukálta védelmi folyamatok fény- és napszak-függő szabályozása paradicsomban. *XXII. Tavaszi Szél Konferencia*, Debrecen, Magyarország, 2019.05.03-05. (pp. 174-174).

Czékus, Z., Poór, P., Kukri, A., Tari, I., Ördög, A. (2019). Kitozán indukálta védekezés napszak- és fény-függő hatásának vizsgálata. *Magyar Szabadgyök-Kutató Társaság X. Kongresszusa*, Szeged, Magyarország, 2019.08.29-30. (pp. 20-20).

Poór, P., **Czékus, Z.**, Farkas, M., Bakacsy, L., Ördög, A., Gallé, Á. (2019). Herbicid alkalmazásának napszak függő hatásai az antioxidáns védelmi rendszerre. *Magyar Szabadgyök-Kutató Társaság X. Kongresszusa*, Szeged, Magyarország, 2019.08.29-30. (pp. 38-38).

Borbély, P., Bajkán, S., Poór, P., **Czékus, Z.**, Tari, I. (2018). Az etilén prekursor, 1-aminociklopropán-1-karbonsav hatása paradicsom növények fotoszintetikus aktivitására. *Hazai Fotoszintézis-Kutatók Találkozója*, Mátrafüred, Magyarország, 2018.11.07-09. (p. 17).

Czékus, Z., Kukri, A., Ördög, A., Poór, P. (2018). A kitozán által kiváltott immunválasz fényregulációja és napszak függése paradicsomban: a zárósejtek fotoszintézisének szerepe. *Hazai Fotoszintézis-Kutatók Találkozója*, Mátrafüred, Magyarország, 2018.11.07-09. (p. 11).

Borbély, P., **Czékus, Z.**, Hegedűs, D., Gamze, K., Poór, P., Tari, I. (2017). Az etilén szerepe a reaktív oxigén- és nitrogénformák akkumulációjának szabályozásában sóstressznek kitett paradicsom növényekben. *Magyar Szabadgyök-Kutató Társaság IX. Kongresszusa és az MTA ÉKB Mikroelem Munkabizottságának Tudományos Ülése*, Gödöllő, Magyarország, 2017.08.25-26. (p. 25).

Czékus, Z., Csíkos, O., Ördög, A., Poór, P. (2017). Szalicilsav indukálta ER stressz vizsgálata paradicsomban. *Magyar Szabadgyök-Kutató Társaság IX. Kongresszusa és az MTA ÉKB Mikroelem Munkabizottságának Tudományos Ülése*, Gödöllő, Magyarország, 2017.08.25-26. (p. 26).

Kovács, J., Poór, P., Borbély, P., **Czékus, Z.**, Tari, I. (2017). Sóstresszre adott válaszreakciók paradicsomban: nitrogénmonoxid, reaktív oxigénformák és proteolízis indukciója abszcizinsav hiányos mutánsokban. *Magyar Szabadgyök-Kutató Társaság IX. Kongresszusa és az MTA ÉKB Mikroelem Munkabizottságának Tudományos Ülése*, Gödöllő, Magyarország, 2017.08.25-26. (p. 24).

Poór, P., Hegedűs, D., Borbély, P., Ördög, A., Bódi, N., Bagyánszki, M., **Czékus, Z.**, Tari, I. (2017). Szalicilsav hatása a fotoszintetikus apparátusra sötétben. *XV. Magyar Növényanatómiai Szimpózium*, Budapest, Magyarország, 2017.09.07. (pp. 13-13).

Poór, P., **Czékus, Z.**, Borbély, P., Takács, Z., Tari, I. (2017). Növényi antioxidáns enzimek szalicilsav kezelést követő etilénfüggő szabályozása sötétben. *Magyar Szabadgyök-Kutató Társaság IX. Kongresszusa és az MTA ÉKB Mikroelem Munkabizottságának Tudományos Ülése*, Gödöllő, Magyarország, 2017.08.25-26. (p. 15).

Poór, P., Takács, Z., Borbély, P., **Czékus, Z.**, Ördög, A., Szalai, G., Tari, I. (2017). Szalicilsav kezelést követő etilénfüggő változások paradicsom növények H₂O₂ homeosztázisában fényben és sötétben. *A Magyar Növénybiológiai Társaság XII. Kongresszusa*, Szeged, Magyarország, 2017.08.30-09.01. (p. 11).

Zoltán, T., **Zalán, C.**, Péter, P., Péter, B., Irma, T. (2016). Effect of the light on the salicylic acid-induced oxidative stress in tomato. *Closing Conference of Hungary-Serbia IPA Cross-border Co-operation Programme HUSRB/1203/221/173 „PLANTTRAIN”*, Novi Sad, Szerbia, 2016.05.23-24. (p. 15).

Poór, P., Németh, E., Patyi, G., **Czékus, Z.**, Takács, Z., Szepesi, Á., Tari, I. (2015). Fény és sötét által szabályozott oxidatív robbanás és antioxidáns rendszer szalicilsav kezelt paradicsom

levelekben. *A Magyar Szabadgyök-Kutató Társaság VIII. Kongresszusa*, Budapest, Magyarország, 2015.11.05-06. (p. 25).

11.5. Posztterek

Czékus, Z., Koprivanacz, P., Kukri, A., Iqbal, N., Ördög, A., Poór, P. (2021). A fotoszintetikus aktivitás szerepe a flg22 által indukált védekezési reakciókban. *XIII. Magyar Növénybiológiai Kongresszus*, Szeged, Magyarország, 2021.08.24-27. (p. 62).

Czékus, Z., Iqbal, N., Pollák, B., Martics, A., Ördög, A., Poór, P. (2021). Ethylene- and light-dependent regulation of chitosan-induced defence responses in tomato plants. *8th Plant Nitric Oxide International Meeting*, Zoom meeting, Magyarország, 2021.07.07-09. (p. 53).

Iqbal, N., **Czékus, Z.**, Ördög, A., Poór, P. (2021). Ethylene-dependent effects of fumonisin B1 on the photosynthetic activity in tomato plants. *XIII. Magyar Növénybiológiai Kongresszus*, Szeged, Magyarország, 2021.08.24-27. (p. 67).

Iqbal, N., **Czékus, Z.**, Ördög, A., Poór, P. (2021). FB1 perturbed redox homeostasis and nitric oxide production in tomato plants and activated defense mechanisms in ethylene-dependent manner. *8th Plant Nitric Oxide International Meeting*, Zoom meeting, Magyarország, 2021.07.07-09. (p. 60).

Nadeem, I., **Zalán, C.**, Attila, Ö., Péter, P. (2021). Fusaric acid-induced changes in the photosynthetic activity of tomato plants. *II. Plant Pests and Diseases Forum*, Zoom meeting, Portugália, 2021.03.24. (p. 18).

Ördög, A., **Czékus, Z.**, Martics, A., Pollák, B., Iqbal, N., Poór, P. (2021). Az etilén szerepének vizsgálata az flg22 által indukált szisztemikus védekezési reakciókban. *XIII. Magyar Növénybiológiai Kongresszus*, Szeged, Magyarország, 2021.08.24-27. (p. 82).

Zalán, C., András, K., Iqbal, N., Boglárka, P., Atina, M., Dóra, Cs., Attila, Ö., Péter, P. (2021). Investigation of the effects of daytime on the phytohormone-mediated defence responses of tomato plants. *Plant Biology Europe 2021*, Zoom meeting, Olaszország, 2021.06.28-07.01. (p. 123).

Zalán, C., Nadeem, I., Boglárka, P., Atina, M., Attila, Ö., Péter, P. (2021). Chitosan-induced local and systemic defence responses of tomato plants: The role of ethylene and light. *II. Plant Pests and Diseases Forum*, Zoom meeting, Portugália, 2021.03.24. (p. 31).

Zalán, C., András, K., Iqbal, N., Boglárka, P., Atina, M., Dóra, C., Attila, Ö., Péter, P. (2020). Daytime-dependent regulation of flagellin-induced defence responses in tomato plants. *4th National Conference of Young Biotechnologists*, Zoom meeting, Magyarország, 2020.11.05-27. (p. 39).

Attila, Ö., **Zalán, C.**, András, K., Angela, G. L., Marina, Z. S., Péter, P. (2019). Organ-specific and daytime-dependent effects of exogenous flg22 elicitor treatments on the photosynthetic activity of tomato leaves. *9th Conference of the Polish Society of Experimental Plant Biology*, Toruń, Lengyelország, 2019.09.09-12. (p. 90).

Gallé, Á., Pelsőczy, A., **Czékus, Z.**, Csiszár, J., Poór, P. (2019). Glutation-transzferáz enzimek fényindukálhatósága búzában. *Magyar Szabadgyök-Kutató Társaság X. Kongresszusa*, Szeged, Magyarország, 2019.08.29-30. (pp. 45-45).

Kukri, A., **Czékus, Z.**, Pollák, B., Csóré, D., Ördög, A., Poór, P. (2019). Flg22 elicitor etilénfüggő hatásainak vizsgálata paradicsom levelében. *Magyar Szabadgyök-Kutató Társaság X. Kongresszusa*, Szeged, Magyarország, 2019.08.29-30. (pp. 48-48).

Ördög, A., **Czékus, Z.**, Kukri, A., Poór, P. (2019). Exogén flg22-kezelés napszak- és szerv-függő hatása paradicsom növények fotoszintézisére. *Magyar Szabadgyök-Kutató Társaság X. Kongresszusa*, Szeged, Magyarország, 2019.08.29-30. (pp. 49-49).

Péter, P., **Zalán, C.**, András, K., Angela, G. L., Marina, Z. S., Attila, Ö. (2019). Activation of defense responses by flg22 elicitor is dependent on the daytime and ethylene in intact tomato leaves. *9th Conference of the Polish Society of Experimental Plant Biology*, Toruń, Lengyelország, 2019.09.09-12. (p. 89).

Zalán, C., András, K., Péter, P., Attila, Ö. (2019). Chitosan-induced plant defence responses are influenced by light and daytime in tomato. *9th Conference of the Polish Society of Experimental Plant Biology*, Toruń, Lengyelország, 2019.09.09-12. (p. 92).

Péter, P., **Zalán, C.**, Attila, Ö. (2018). Chitosan elicited immune response reduced photosynthetic electron transport in the guard cells of tomato plants under different light conditions. *Plant Biotic Stresses & Resistance Mechanisms III*, Bécs, Ausztria, 2018.07.02-03. (p. 38).

Zalán, C., Orsolya, C., Dóra, H., Péter, B., Attila, Ö., Péter, P. (2018). Investigation of dark modulated endoplasmatic reticulum (ER) stress in tomato plants. *Fiatal Biotechnológusok Országos Konferenciája "FIBOK 2018"*, Budapest, Magyarország, 2018.03.28-29. (p. 116).

Czékus, Z., Csikos, O., Takács, Z., Ördög, A., Bódi, N., Bagyánszki, M., Tari, I., Poór, P. (2017). Szalicilsav okozta ER stressz hatásának vizsgálata paradicsomban. *A Magyar Növénybiológiai Társaság XII. Kongresszusa*, Szeged, Magyarország, 2017.08.30-09.01. (p. 44).

Czékus, Z., Csikos, O., Takács, Z., Ördög, A., Bódi, N., Bagyánszki, M., Tari, I., Poór, P. (2017). Szalicilsav indukálta ER stressz vizsgálata paradicsom növényekben. *XV. Magyar Növényanatómiai Szimpózium*, Budapest, Magyarország, 2017.09.07. (pp. 28-28).

Ördög, A., **Czékus, Z.**, Gamze, K., Poór, P. (2017). A fény szabályozó szerepe a kitozán indukálta sztómazáródásban. *A Magyar Növénybiológiai Társaság XII. Kongresszusa*, Szeged, Magyarország, 2017.08.30-09.01. (p. 60).

Ördög, A., **Czékus, Z.**, Gamze, K., Poór, P. (2017). A fény szabályozó szerepe a kitozán indukálta sztómazáródásban. *XV. Magyar Növényanatómiai Szimpózium*, Budapest, Magyarország, 2017.09.07. (p. 37).

Péter, P., Zoltán, T., Péter, B., **Zalán, C.**, Irma, T. (2017). Ethylene dependent changes in hydrogen-peroxide homeostasis after salicylic acid treatment in tomato. *International Conference Plant Molecular Physiology*, Bécs, Ausztria, 2017.23-24. (p. 21).

Péter, P., Zoltán, T., Péter, B., **Zalán, C.**, Gábor, P., Irma, T. (2016). Involvement of ethylene in hydrogen-peroxide metabolism in the leaves of salicylic-acid treated tomato. *Plant Biology Europe EPSO/FESPB 2016 Congress*, Prága, Csehország, 2016.06.26-29. (pp. 198-198).

Péter, P., **Zalán, C.**, Gábor, P., Péter, B., Judit, K., Zoltán, T., Irma, T. (2016). Investigation of Salt Stress-Induced Changes in Water Status, Photosynthetic Parameters and Cysteine Protease Activity in Wild Type and Absciscic Acid-Deficient *Sitiens* Mutant of Tomato (*Solanum Lycopersicum* cv. Rheinland Ruhm). *Plant Model Species: Fundamentals and Applications*, Bécs, Ausztria, 2016.02.04. (p. 23).

11.6. Ismeretterjesztő folyóiratcikkek

Czékus, Z., Poór, P. (2020). Éjszakai virágzás. *TermészetBÚVÁR*, 75(4), 6-9.

12. Köszönetnyilvánítás

Szeretnék köszönetet mondani témavezetőimnek, **Dr. Poór Péternek** és **Dr. Ördög Attilának**, akik BSc-s hallgató korom óta töretlen hittel, példátlan türelemmel és kitartással tanítottak és támogatták kutatómunkámat. Szakmai iránymutatásaik, fáradhatatlan segítségnyújtásuk felbecsülhetetlen szerepet töltött be a dolgozat, valamint a közös publikációk megszületésében. Hálásan köszönöm a feltétlen bizalmukat és állandó motivációjukat, mellyel segítették a kutatói pályán való elindulásomat!

Köszönettel tartozom tanszékvezetőnknek, **Prof. Dr. Fehér Attilának**, hogy lehetővé tette, hogy a Növénybiológiai Tanszéken készíthessem el a disszertációm!

Köszönöm volt tanszékvezetőnk, **Dr. Tari Irma Tanárnő** minden segítségnyújtását, kivételes szakmai meglátásai és tanácsai nagyban segítettek publikációink elfogadását!

Hálásan köszönöm **Dr. Bela Krisztina**, **Dr. Borbély Péter** és **Dr. Takács Zoltán** különböző mérési módszerek elsajátításában nyújtott fáradhatatlan segítségnyújtását, akikhez bármilyen kérdéssel, bármikor bizalommal fordulhattam!

Szeretném megköszönni **Kukri András**, **Nadeem Iqbal**, **Martics Atina**, **Pollák Boglárka**, valamint **Csóré Dóra** és **Koprivanacz Péter** emberfeletti segítségnyújtását a sokszor hajnalig (vagy tovább) elhúzódó mérések kivitelezésében, akiknek köszönhetően még az éjszakai munkák is vidám hangulatban teltek, baráti támogatásukkal pedig a legnehezebb napokban is erőt adtak!

Kiemelt köszönettel tartozom munkacsoportunk lelkének, **Bécs Attilánénak (Etának)**, aki szakdolgozó korom óta felkarolva segített át e rögzös úton, melynek során az egyik legnagyobb emberi támaszom volt. Emellett példátlan lelkiismeretességével, mellyel a növények nevelését, valamint a kísérletek előkészítését végezve, olyan biztonságérzetet és stabil hátteret biztosított számomra, mely nélkülözhetetlen volt a dolgozat elkészüléséhez!

Köszönöm **Dóri Erikának**, **Kapásné Török Évának** és **Porkoláb Erzsébetnek** a bármikori, önzetlen segítségnyújtásukat, és támogatásukat, mellyel nemcsak átsegítettek a nehéz időszakokban, de vidám légkört is teremtettek a laborban!

Köszönöm **Dr. Gallé Ágnes**, **Dr. Horváth Edit**, **Dr. Molnár Árpád** és **Dr. Riyazuddin** hasznos szakmai tanácsait, melyekkel segítették a felmerülő problémák megoldását!

Köszönöm **Pál Erika** mindenkori segítségnyújtását az adminisztratív feladatok ellátásában!

Köszönöm továbbá a **Növénybiológiai Tanszék valamennyi volt és jelenlegi munkatársának** a munkám előrehaladásában nyújtott minden segítségét!

Köszönöm **Prof. Dr. Szalai Gabriella**, **Hamow Kamirán Áron**, valamint az **MTA ATK Növényélettani Osztály valamennyi munkatársának** a szalicilsav és jázmonsav tartalom meghatározásában nyújtott segítségét!

Legnagyobb köszönettel a **családomnak** és **barátaimnak** tartozom, akik minden helyzetben feltétlenül mellettem álltak és támogattak, ezáltal lehetővé téve a dolgozatom elkészültét.

A dolgozat elkészüléséhez szükséges támogatást az **NKFIH FK 124871** pályázat biztosította.

13. Nyilatkozat

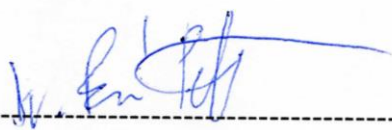
Mint az alábbi közlemények felelős szerzője igazolom, hogy Czékus Zalán Ph.D. jelölt jelentős mértékben hozzájárult az alábbi tudományos publikációk létrehozásához, és tézisében közölt eredményeit más Ph.D. értekezésben nem használjuk fel.

Czékus, Z., Koprivanacz, P., Kukri, A., Iqbal, N., Ördög, A., Poór, P. (2022). The role of photosynthetic activity in the regulation of flg22-induced local and systemic defence reaction in tomato. *Photosynthetica*, 60(2), 105-114.

Czékus, Z., Kukri, A., Hamow, K. Á., Szalai, G., Tari, I., Ördög, A., Poór, P. (2021). Activation of Local and Systemic Defence Responses by Flg22 Is Dependent on Daytime and Ethylene in Intact Tomato Plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(15).

Czékus, Z., Iqbal, N., Pollák, B., Martics, A., Ördög, A., Poór, P. (2021). Role of ethylene and light in chitosan-induced local and systemic defence responses of tomato plants. *Journal of Plant Physiology*, 263.

Czékus, Z., Poór, P., Tari, I., Ördög, A. (2020). Effects of Light and Daytime on the Regulation of Chitosan-Induced Stomatal Responses and Defence in Tomato Plants. *Plants-Basel*, 9(1).



Dr. Poór Péter

egyetemi docens

SZTE TTIK Növénybiológiai Tanszék



Dr. Ördög Attila

egyetemi adjunktus

SZTE TTIK Növénybiológiai Tanszék

Szeged, 2022. szeptember 5.