

AKADÉMIAI DOKTORI ÉRTEKEZÉS

Poliaminok szerepe a stressztűrésben és kapcsolata más védővegyületekkel gabonanövényekben

Pál Magda

MTA ATK Mezőgazdasági Intézet

2019

1. Bevezetés és kutatási cél

A növények egyszerre több különböző környezeti terhelésnek vannak kitéve, amelyek csökkenthetik a várható mezőgazdasági hozamot. Világszerte minden évben nagy mennyiségű termésvesztést okoz a vízhiány, az extrém hőmérsékleti változások, a szikes talajok magas só koncentrációja, a nehézfémzennyezés illetve a kórokozók és kártevők hatása. Így mind elméleti, mind gyakorlati szempontból nagy jelentősége van azon, a természetben is előforduló vegyületek vizsgálatának, melyek a gazdasági növények stresszérzékenységét csökkenteni képesek.

Az abiotikus és biotikus stresszhatásokra adott válaszok jelátviteli útvonalainak többségénél léteznek azonos elemek, amelyek a keresztthatás lehetséges csomópontjai. Az ilyen közös elemek fő kapcsolási pontként szolgálhatnak, és szerepet játszhatnak a stressztűrésben. Egyre inkább egyértelmű, hogy a poliaminok (PA-ok) is ilyen kapcsolási pontok, és a PA-indukált válaszreakciók sok szinten összekapcsolódnak. A legnagyobb mennyiségben előforduló PA-ok, a putreszcin (PUT), a spermidin (SPD) és a spermin (SPM) különféle fiziológiai folyamatokat, például a fotoszintézist, az antioxidáns rendszert és az ioncsatornákat is képesek befolyásolni stresszhatás alatt, de specifikusságuk és hatékonyságuk eltérő mértékű. Felmerül a kérdés, hogy vajon az egyes PA-ok felhalmozódása elengedhetetlen-e a növények toleranciája és az abiotikus stresszválaszok szempontjából?

A poliaminok metabolizmusa dinamikus. Az abszorbeált exogén PA-ok vagy a megnövekedett mennyiségű endogén PA-ok gyorsan átalakulhatnak egymásba a PA-ciklus során. A PA-ok metabolizmusa ráadásul kapcsolódik a növényi hormonok és más jelátviteli molekulák szintéziséhez is. A bioszintézisében és katabolizmusában részt vevő enzimekre is hatással lehet a PA-kezelés. Így a valós helyzetet csak rendkívül összetett kísérleti körülmények között lehet felderíteni. További nehézséget jelent, hogy a kezelés hatása genotípus-függő lehet.

Mindezek alapján jelen munkában egyrészt az endogén PA-tartalom és a stressztolerancia mértéke közötti összefüggést kerestük, másrészt a külsőleg adagolt PA-ok által kiváltott változásokat tanulmányoztuk különböző stresszhatások során, különös tekintettel arra, hogy mindeközben az endogén poliaminok szintje milyen kapcsolatban van más védővegyületekkel. Az eredményektől azt reméljük, hogy a PA-metabolizmus szabályozásának megismerése új lehetőségeket mutat a gabonafélék környezeti változásokkal szembeni védelmében. A gyakorlati hasznosíthatóságát elsősorban abban látjuk, hogy alapot szolgáltathatnak jobb stresszellenállóságú haszonnövények előállításához, illetve ezen

vegyületeknek mint stressztolerancia-serkentőknek széleskörű, mezőgazdasági módszerként történő alkalmazásának kidolgozásához.

Csoportunk a PA-ok stressztűrésben betöltött szerepét tanulmányozza, és célja azoknak a kérdéseknek a vizsgálata, melyeket a témában még nem sikerült kielégítően megválaszolni:

1. Az egyes PA-ok (PUT, SPD és SPM) felhalmozódása, illetve a különböző formák (szabad és konjugált) alapvető fontosságúak-e a növények stressztűrőképessége és a stresszhatásokra adott válaszreakciók szempontjából? 2. A három fő PA szerepe hasonló vagy egyenrangú a növények stresszválaszaiban? 3. A betöltött szerepeik közül melyek az igazán lényegesek? 4. Hogyan vesznek részt a jelátvitelben? Az ehhez kapcsolódó kutatások egy része kerül dolgozatomban bemutatásra.

- A kutatások első részében a különböző, biotikus és abiotikus stresszfaktorok (lisztharmatfertőzés, alacsony hőmérséklet, UV-B sugárzás, ozmotikus és kadmiumstressz) hatását vizsgáltuk az endogén poliamin-tartalomra gabonanövényekben, keresve az összefüggést a PA-szint és a stresszrezisztencia/-tolerancia mértékével. Kiemelt kérdés volt annak vizsgálata is, hogy az adott stresszhatások során milyen korrelációs kapcsolat van a PA-ok és más védővegyületek között, mint pl. a szalicilsav (SA), abszcizinsav (ABA), glutation (GSH), aszkorbinsav, antioxidáns enzimek vagy a fitokelatinok (PC-ok).

- Második lépésben külsőleg adagolt PA-kezeléseket alkalmaztunk normál nevelési körülmények és stresszkörülmények között (ozmotikus és kadmiumstressz). A PA-ok lehetséges kedvező hatásának igazolása mellett vizsgáltuk a PA-metabolizmusban bekövetkező változásokat és annak szerepét a stressztoleranciában, illetve kölcsönhatását más védővegyületekkel, mint a SA, ABA, PC-ok és prolin. Külön kérdés volt, hogy melyek a közös és eltérő pontjai a poliamin, abszcizinsav és abiotikus stresszek által indukált jelátviteli és rezisztenciát szabályozó folyamatoknak, ezért PA- és ABA-kezeléseket is alkalmaztunk kontroll nevelési körülmények és ozmotikus stresszkörülmények között. Figyelembe véve, hogy a megnövekedett mennyiségű endogén poliaminok gyorsan átalakulhatnak egymásba, külön kísérletben vizsgáltuk a PUT-szintézis gátlásának hatásait is kadmiumstressz során. Vizsgálatainkat nemcsak metabolit, hanem génexpressziós szinten is elvégeztük.

2. Anyagok és módszerek

2.1. A növénynevelés körülményei és a növényi anyagok:

A lisztharmatfertőzés hatásainak vizsgálatához tavaszi Thatcher-alapú közel-izogén búzavonalakat (*Triticum aestivum* L.) (TC9: Thatcher*6/Transfer, TC19: Thatcher*7/Translocation4, TC26: Thatcher*6/ST-1.25, TC33: Thatcher*6/P.I.58548) használtunk, melyek eltérő endogén SA-szinttel rendelkeztek. A búzavonalak magoncait 2 °C-os, 28 napos vernalizációt követően 2:1 arányú föld:homok keverékbe, 11x18 cm-es cserepekbe (2 növény/cserép) ültettük, majd a martonvásári MTA ATK Mezőgazdasági Intézet üvegházában 22/16 °C-on (nappal/éjszaka), természetes, illetve mesterséges fénnnyel kiegészítve, 16 órás fotoperiódus mellett neveltük. A növényeken GS45 felnőttkori stádiumban lisztharmatfertőzést (*Blumeria graminis* f.sp. *tritici*) végeztünk. A fertőzés a lisztharmat ismert virulenciaspektrumú patotípusait tartalmazó keverékével történt, a konídiumok levélfelületre szórásával. A mintaszedés során minden vonal esetében 8-8 cserépről, a zászlós levelek alatti első, második és harmadik leveleket szedtük le a mintavételhez, a fertőzést követően 3 és 7 nappal, mind a kontroll, mind a fertőzött növények esetén. A Saari-Prescott skála szerinti felvételezés során a TC9 és TC19 genotípusok lisztharmattal szemben rezisztensnek, a TC26 és TC33 vonalak érzékenynek bizonyultak (Pál és mtsai. 2013).

Az alacsony hőmérsékleti stressz hatásainak vizsgálatához kiválasztottunk nyolc eltérő vetésidejű és fagyérzékenységű gabona genotípust: két Thatcher-alapú közel izogén tavaszi búzavonalat (TC19 és TC33), valamint kettő martonvásári őszi búzafajtát (Mv 8 és Mv Hombár), két őszi zab (*Avena sativa*: Kwant and Mv Pehely) és egy-egy tavaszi, illetve őszi árpa (*Hordeum vulgare* L.) változatot (Jubilant illetve Petra) mely utóbbiakat mind a martonvásári MTA ATK Mezőgazdasági Intézetében nemesítettek. A búzaszemeket 3:1 arányú föld:homok keverékbe, 11x11 cm-es cserepekbe (15 növény/cserép) ültettük, majd a cserepeket véletlenszerű elrendezésben 20/18 °C-on 16/8 órás fény-sötét periódus mellett neveltük Conviron PGV-36 típusú növénynevelő kamrában 10 napos korig. A megvilágítás mértéke 250 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PPFD, a relatív páratartalom 75% volt. A 10 nap elteltével valamennyi genotípus esetén a cserepeket két csoportra osztottuk. Az egyik csoport továbbra is az eddigi nevelési körülmények között maradt, míg a másik csoport cserepeit egy azonos típusú kamrába, 5 °C-ra helyeztük át, és a növénynevelést további 12 napig folytattuk. A kísérlet végén a kontroll és hidegkezelt növények valamennyi levelét felhasználtuk a mintavételhez.

Az UV-B sugárzás, az alacsony hőmérséklet vagy a PEG-indukálta ozmotikus stressz hatásának vizsgálata során a búza, kukorica vagy rizs növényeket üveg főzőpohárban neveltük, rozsdamentes acél hálón vagy műanyag edényekben, tápoldatban. Az előnevelés bizonyos kezdeti körülményeinek eltéréseit, illetve azonos fázisait az alábbiakban foglalhatjuk össze. A búzanövények vizsgálata során öt búza genotípust használtunk: két Thatcher-alapú közel izogén tavaszi búzavonal (TC19 és TC33) viszonylag magas endogén SA-tartalommal, és három martonvásári őszi búzafajta (Mv Emese, Mv 8 és Mv Hombár) viszonylag alacsony SA-szinttel. A magokat 3 napig desztillált vízzel nedvesített szűrőpapíron, sötétben, 22 °C-on csíráztattuk. A kukoricaszemeket (*Zea mays* L., Mv 255) 30 percig 0,5%-os Neomagnol oldatban fertőtlenítettük, majd desztillált vízzel nedvesített szűrőpapírrban csíráztattuk 3 napig 24 °C-on. A rizs (*Oryza sativa* L.) (Sanghaji Akadémia, Sanghaji Mezőgazdasági Génbank, Kína) genotípusokat eltérő szárazság-tolerancia szintjük és eltérő endogén SA-tartalmuk alapján választottuk ki (Pál és mtsai. 2014). A szárazsággal szemben toleránsabb genotípusok közül a KN361-1-8-6 és Zhonghan No. 3 alacsonyabb kezdeti SA-tartalommal, míg a szintén toleránsabb IAC1246, valamint az érzékenyebb N22 genotípusok alacsonyabb kezdeti SA-szinttel voltak jellemezhetőek. Összehasonlító előkísérletek során kiválasztásra került egy magyar rizsváltozat is (Janka), melyet a szarvasi Halászati és Öntözési Kutatóintézetől kaptunk. A csíráztatás során a rizsszemeket desztillált vízzel nedvesített szűrőpapíron egy napig 37 °C-on, majd további 5 napig 27 °C-on inkubáltuk. A kicsírázott növényeket főzőpoharakba vagy műanyag edényekbe ültettük (7 kukoricanövény/edény, 12 búza növény/edény és 15 rizs növény/edény), és 250 ml tápoldatban (Pál és mtsai. 2005) az MTA ATK Mezőgazdasági Intézet Fitotron épületének Conviron típusú növénynevelő kamráiban neveltük. A növénynevelés körülményei 20/18 °C a búza és 22/20 °C a kukorica esetén, 16/8 órás fény-sötét periódus mellett a Conviron GB-48 növénynevelő kamrában, ahol a megvilágítás mértéke 250 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PPFD, a relatív páratartalom 75% volt. A rizsnövények esetében a Conviron PGV-36 típusú növénynevelő kamrát használtuk, melynek beállításai az alábbiak voltak: 28/26 °C, 13/11 órás fény-sötét periódus, 250 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PPFD, és 70%-os relatív páratartalom. A növénynevelő edények kétnaponta a tápoldatok teljes cseréjére közben ismételtlen új elrendezésbe kerültek.

Búzanövények kadmiumkezelése során 17 napig normál körülmények között neveltük a növényeket, majd egyik felét 7 napig a tápoldathoz adagolt 50 μM $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ -tal kezeltük, másik felét pedig továbbra is kontroll körülmények között tartottuk. A 24 napos kontroll és Cd-kezelt növényekről levél- és gyökérmintát szedtünk.

A járulékos UV-B sugárzás vizsgálatához a búzanövények egyik felét normál megvilágításnak (fehér fény, PPFD: $250 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), míg a másik csoportot fehér fénynek és egyidejűleg alkalmazott UV-B sugárzásnak tettük ki. Az UV-B-t 7 darab UV-B Narrowband TL 100W/01 típusú Philips lámpa szolgáltatta, melynek maximális sugárzása 311 nm-nél található. Az UV-B sugárzás dózisa a kontroll növények esetében $38 \mu\text{Watt/cm}^2$, míg az UV-B-kezeltéknél $430 \mu\text{Watt /cm}^2$ volt. A két hét elteltével mindkét megvilágítás esetén újabb három csoportot hoztunk létre. A növények egy része volt a kontroll, második része $50 \mu\text{M Cd(NO}_3)_2$ -ot kapott 7 napig, a harmadik része 15% PEG-6000-et kapott 5 napig a tápoldathoz adagolva. A kezelések végén az első, második és harmadik levelekből, illetve a gyökerekből szedtünk mintát.

A rizsszemeket megfelelő csíráztatást követően üvegpoharakba ültettük és speciális rizs tápoldaton neveltük (Pál és mtsai. 2014). 20 nap elteltével a főzőpoharakat három csoportra osztottuk. Az első csoport növényeit továbbra is kontroll körülmények között tartottuk, a második csoport egyedeit 15%-os PEG-6000 kezelésnek tettük ki, míg a harmadik csoport főzőpoharait azonos típusú növénynevelő kamrába helyeztük át 10°C -ra. A kezelések kezdetétől számított 1 és 6 nap elteltével mindhárom csoportból levélmintát szedtünk.

A PA-kezelések során kukorica- (Mv 255) és búza- (TC33) növényeket neveltünk 7 napos korig, majd a tápoldatot 0,1, 0,3 vagy 0,5 mM PUT-t, SPD-t vagy SPM-t tartalmazóra cseréltük, melyet kétnaponta a kezelésnek megfelelő, frissen elkészített oldattal cseréltünk, akárcsak a kontroll növények esetén. 7 napos kezelés követően a legfiatalabb, teljesen kifejtett leveleket és a gyökereket használtuk a mintavételhez. A 0,5 mM PUT előkezelés védőhatásának vizsgálatához az előbbi kukorica és búza genotípusokat használtuk. A 7 napos kontroll, illetve PUT-előkezelt növények két csoportra osztottuk. Az egyik csoportot normál tápoldatra helyeztük, ez a PUT-előkezelés esetében, egy ún. „recovery” periódusnak tekinthető, míg a másik csoportot 15%-os PEG-6000 kezelésnek tettük ki, ozmotikus stressz kiváltására. A PEG-kezelés a kukorica- és búzanövények eltérő ozmotikus stressz érzékenysége miatt, a kukorica esetén 5 nap, a búza esetén pedig 7 nap volt.

A PUT előkezelést hasonlóképpen alkalmaztuk a rizsnövényeken is (Janka). 7 nap elteltével 6 csoportra osztottuk a növénynevelési körülményeket. Négy csoport továbbra is kontroll nevelési körülmények között nőtt, míg két csoport 7 napon át 0,5 mM PUT-előkezelést kapott. Ezek után, mind a kontroll, mind a PUT-előkezelt csoport egy-egy alcsoportját $50 \mu\text{M Cd(NO}_3)_2$ kezelésnek tettük ki. A PUT-előkezelést kapott másik alcsoportot egy 7 napos „recovery” periódusként kontroll nevelési körülmények közé helyeztük vissza. A további három csoport 14 napos korig nőtt kontroll körülmények között. Ezt követően az egyik

alcsoporthoz továbbra sem kapott semmilyen kezelést sem, egy másik csoportot 0,5 mM 2-(difluorometil)ornitinnel (DFMO), míg a harmadik csoportot kombinált 0,5 mM DFMO és 50 μM $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ kezelésnek tettük ki. A növények leveleiről a 14. és 21. napon, a gyökerekről a 21. napon vettünk mintát.

Az ABA- és PUT-kezelés összehasonlító vizsgálatához TC33 búza genotípusú búzanövényeket neveltünk 14 napos korig. Ekkor a növényeket 0,15 mM ABA-val vagy 0,5 mM PUT-nel kezeltük 1 napig és az aznapi kontroll növényekkel együtt egy részükről levél és gyökér mintát vettünk. A növények másik részéből hat csoportot képeztünk. Mind a kontroll, mind az ABA- illetve PUT-előkezelt növények egyik felét kontroll körülmények között neveltük tovább, másik felét pedig 15%-os PEG 6000 kezelésnek tettük ki 5 napon át. Az 5 nap elteltével mind a 6 kezelésből levél és gyökér mintákat szedtünk.

2.2. Fiziológiai, biokémiai és génexpressziós mérések:

Klorofill-a fluoreszcencia indukció mérése: A PS_{II} kvantumhatásfokát jellemző $\Delta F/F_m'$ klorofill-fluoreszcencia indukciós paramétert PAM-2000 (Walz, Effeltrich, Németország) műszerrel (Janda és mtsai. 1994) az adott nevelési körülmények között a növénynevelő kamrában mértük. A mérések az adott kísérletekben a legfiatalabb teljesen kifejtett levélen történtek.

A fotoszintetikus aktivitás mérése: A fotoszintetikus aktivitás mérése szintén a növények legfiatalabb teljesen kifejtett levelein, nyitott rendszerű LI-6400 típusú infravörös gázanalizátorral (LI-COR Inc, Lincoln, Nebraska, USA) történt (Szalai és mtsai. 2017; Pál és mtsai. 2018).

Lipidperoxidáció meghatározása: A lipidperoxidáció meghatározása a malondialdehid-tartalom (MDA) mérésén alapszik. Az MDA-tartalom meghatározása spektrofotometriásan, (Shimadzu UV-VIS 160A) Thomas és mtsai. (2004) módszere szerint történt.

Hidrogénperoxid-tartalom meghatározása: A H_2O_2 -tartalom meghatározása az ammónium vasszulfát/xylenol orange (FOX-1) módszer szerint spektrofotometriásan történt (Gay és mtsai. 1999).

Antioxidáns enzimaktivitások meghatározása: A kataláz és az aszkorbát-peroxidáz (APX) Janda és mtsai. (1999), a gvajakol-peroxidáz Ádám és mtsai. (1995), a glutation-reduktáz Smith és mtsai. (1988), míg a glutation-S-transzferáz aktivitása Guthenberg és Mannervik (1981) módszere szerint spektrofotometriásan került meghatározásra.

Kadmiumtartalom meghatározása: A minták fémtartalmát ICAP-61E típusú atomabszorpciós készülékkel határoztuk meg (Hegedűs és mtsai. 2001).

Prolintartalom meghatározása: A prolintartalmat ninhidrin reagens segítségével Bates és mtsai. (1973) módszere szerint spektrofotométerrel mértük.

Szalicilsav, flavonoid és abszcizinsav-extrakció és mennyiségi analízis: A mintaelőkészítés és a mérés Meuwly és Metraux (1993) valamint Pál és mtsai (2005) által leírtak szerint történt kukoricanövények esetén 1 g, búza- és rizsnövények esetén 0,5 g növényi minta felhasználásával. A szárazra párolt mintákat közvetlenül mérés előtt 0,5 ml 15% acetonitrilben oldottuk vissza, majd membránszűrést követően analizáltuk. A méréshez Waters típusú HPLC-t használtunk, mely a következő részekységekből állt: W2690 pumparendszer (mely tartalmazott egy automata mintaadagolót, oszloptermosztátot és gradiens keverésre alkalmas pumparendszert), egy W474 scanning fluoreszcens detektor és W996 fotodiódasoros detektor. Az elválasztás 4 µm szemcseméretű, 150x4,6 mm méretű Synergi 4u Fusion-RP 80A (Phenomenex) analitikai oszlopon történt. A mérési adatok kiértékeléséhez Millenium32 programot használtunk.

Poliaminok mennyiségi analízise: A mintaelőkészítés és a mérés 0,2 g növényi minta felhasználásával történt (Németh és mtsai. 2002). Az elválasztáshoz 5 µm szemcseméretű, C18 töltetű, 100x2.1 mm méretű Kinetex oszlopot (Phenomenex) és W2690 szeparációs modult használtunk. A danzil-kloriddal származékképzett poliaminok detektálása fluoreszcens detektorral (W474) 340 nm-es gerjesztési és 515 nm-es kisugárzási hullámhosszon történt.

Diamin oxidáz (DAO) és poliamin oxidáz (PAO) aktivitásának mérése: Az enzimaktivitásokat 430 nm-en Shimadzu UV-VIS 160A (Kyoto, Japán) spektrofotométerrel mértük, megfelelő színképződéshez o-aminobenzaldehidet használva (Takács és mtsai. 2016).

A glutation-, γ-glutamil-cisztein- és cisztein-tartalom meghatározása: A mintaelőkészítés és a mérés 0,4 g növényi minta felhasználásával készült Kocsy és mtsai. (2001) leírása alapján. A komponensek elválasztása 250x4 mm méretű BST Rutin 10 C18 BD oszlopon történt egy W2690-es szeparációs modullal. A származékképzett minták detektálása fluoreszcens detektorral 380 nm-es gerjesztési és 480 nm-es kisugárzási hullámhosszon történt.

Fitokelatin-szintáz enzim aktivitásának mérése és fitokelatinok mennyiségi meghatározása: A mintaelőkészítést 750 mg növényi mintából végeztük Chen és mtsai. (1997) által leírtak szerint. A méréshez Waters típusú HPLC-t használtunk (W2690 pumparendszer, W 501 pumpa (a származékképzéshez), W996 diódasoros UV/VIS detektor) post-column származékképzéssel, a mérési adatok kiértékelése Millenium32 program segítségével történt (Szalai és mtsai., 2013).

Aszkorbát-tartalom meghatározása: A redukált és oxidált aszkorbát tartalmat 0,5 g növényi minta felhasználásával Szalai és mtsai. (2014) módszerével határoztuk meg folyadékkromatográffal.

Lipid extrakció és zsírsav analízis: A lipid extrakció és a zsírsav analízis Pál és mtsai. (2007) módszere szerint történt 1 g növényi anyagból. A következő membránfrakciókban vizsgáltuk a zsírsav-összetételt, a kettős kötés indexet valamint a telítetlenségi százalékot: monogalaktozil-diacilglicerol, digalaktozil-diacilglicerol, foszfatidil-etanolamin és foszfatidil-glicerol.

Génexpresszió vizsgálata valós idejű PCR-rel: A vizsgálni kívánt gének expressziós mintázatának vizsgálatához levél- és gyökérmintákat szedtünk (a 3 független biológiai ismételten kívül 3-3 technikai ismételést alkalmaztunk). Az RNS izolálása TRIzol reagenssel (Life Technologies, Carlsbad, CA, USA), a minták kezelése DNase I-gyel, tisztítása Direct-zol™ RNA MiniPrep Kit-tel (Zymo Research, Irvine, CA, USA) történt a gyártó utasításai szerint. Az izolált RNS mennyiségét és tisztaságát fotometriásan (NanoDrop ND-1000 UV-Vis spectrophotometer, NanoDrop Technologies, Wilmington, DE, USA) határoztuk meg. A cDNS szintéziséhez M-MLV Reverse Transcriptase-t (Promega Corporation, Madison, WI, USA) használtunk. A valós idejű polimeráz láncreakció (real-time PCR) kivitelezése a vizsgálni kívánt génekre és a háztartási génekre specifikus primerek (Sigma-Aldrich Co. LLC.), PCR BIO SyGreen Mix (PCR Biosystems, London, UK) és CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) segítségével, a gyártó által mellékelt leírás szerint történt. A célgén expresszióját a referenciagén expressziójához viszonyítottuk, az expressziós különbségeket a $2^{-\Delta\Delta C_t}$ módszerrel számoltuk ki (Livak és Schmittgen 2001).

Statisztikai analízis: Az eredmények 10 ismételés átlagai a klorofill-*a* fluoreszcencia indukciós és a fotoszintézis aktivitásmérések, 3-5 ismételés átlagai fotometriás mérések és a HPLC-s és GC-s analízisek, 3 ismételés átlagai a génexpressziós elemzések meghatározása során. A paraméterek változásait az azonos napos kontroll növényekben mért értékekhez hasonlítottuk. A szignifikancia vizsgálatához Student-féle kétmintás *t*-próbát használtunk. A vizsgált paraméterek közötti kapcsolat vizsgálatához a paraméterek korrelációs elemzését SPSS 16.0 programmal végeztük.

3. Eredmények

A PA-ok minden élő sejtben megtalálhatók, és egyre inkább egyértelmű, hogy közvetlen védő szerepük mellett kapcsolási pontokként különböző celluláris folyamatokat szabályoznak, a PA-indukált válaszreakciók pedig sok szinten összekapcsolódnak. A legelterjedtebb PA-ok, azaz a PUT, SPD és SPM különféle fiziológiai folyamatokat, például a fotoszintézist, az antioxidáns rendszert és az ioncsatornákat képesek befolyásolni stresszhatás alatt, de specifikusságuk és hatékonyságuk eltérő mértékű. Mindezek alapján jelen munkában egyrészt az endogén PA-tartalom és a stressztolerancia mértéke közötti összefüggést kerestük, másrészt a külsőleg adagolt PA-ok által kiváltott változásokat tanulmányoztuk különböző stresszhatások során, különös tekintettel arra, hogy mindeközben az endogén PA-ok szintje milyen kapcsolatban van más védővegyületekkel.

3.1. Poliamin-tartalom változása és annak más védővegyületekkel való kapcsolata különböző stresszhatások során

Kutatásaink első részében biotikus és abiotikus stresszfaktorok hatását vizsgáltuk az egyedi endogén PA-tartalomra különböző stressztoleranciájú gabonanövényekben. A SA szerepe számos biotikus, majd később abiotikus stresszválasz során bizonyított. Mivel a célkitűzéseink egyike a PA-ok és más növényi hormonok kapcsolatának jellemzése volt, így jó kiindulási alapként szolgált a korábbi kísérletünk során tesztelt nagyszámú búzagenotípusból kiválasztott eltérő endogén SA-szinttel rendelkező genotípusok vizsgálata, melyek eltérő stressztűrő képességgel is rendelkeztek.

Lisztharmatfertőzés során a PA-ok, különösen a SPD mennyisége már a 3. naptól megemelkedik, és bár néha szoros, pozitív korrelációt mutattunk ki a SA- és PA-szintek, valamint a PA-tartalom és az antioxidáns enzimaktivitások között, nem találtunk közvetlen összefüggést PA-szintek, azok változásai és a lisztharmat-rezisztencia között az eltérő kezdeti SA-tartalommal jellemzett búzavonalakban.

A különböző fagytoleranciájú gabonafajok levelében, az alacsony hőmérsékleti (5 °C) kezelésre indukálódó, fagytoleranciában szerepet játszó vegyületek mintázatában szignifikáns eltéréseket találtunk. A legjelentősebb különbségeket a tavaszi zabfajták mutatták a többi gabona genotípushoz képest, ugyanis ezek képtelenek voltak a hidegkezelés során SPD-t felhalmozni. A SPD-szint, flavonoidokkal, ABA-val, *transz*- Δ^3 -hexadekánsavval és APX-zal kimutatott szoros kapcsolata azt mutatja, hogy a SPD döntő szerepet játszhat a gabonafélék hideg akklimatizációs jelátviteli folyamataiban.

50 μM Cd-stressz során, a PUT mennyisége emelkedett meg a búzanövények levelében és gyökerében, a magasabbrendű PA-ok felhalmozódására nem került sor. A Cd-tolerancia eltérő mértéke a PUT-tartalom emelkedésével nem mutatott összefüggést, de a PC-szintézis különböző mértékű indukciójával a búzanövények gyökerében szoros kapcsolatban állt. Eredményeink azt sugallták, hogy habár a PC-ok szintézise együtt jár a SPD/SPM-felhalmozódás hiányával, de a γ -glutamil-cisztein szintézisét követő lépések szabályozásában már más, a PA-ok szintézisétől független folyamatok vehetnek részt. A szabad és kötött SA pozitív korrelációt mutatott a PC szintáz-aktivitással (PCS), mind a levélben, mind a gyökérben, továbbá szintén pozitív korrelációs kapcsolatban állt a PUT-, míg negatív kapcsolatban SPM-tartalommal a levélben.

Kimutattuk, hogy a 430 $\mu\text{Watt}/\text{cm}^2$ dózisú UV-B sugárzás ugyanolyan feltételek mellett pozitív vagy negatív hatást is gyakorolhat ugyanolyan feltételek mellett a búzában, attól függően, hogy milyen típusú másodlagos abiotikus stressztényezőt alkalmaztunk. A megfigyelt kedvező vagy káros hatások pedig kapcsolatban voltak a PA-tartalomban megfigyelt változásokkal. Az 50 μM Cd-stressz UV-B sugárzással kombinálva, mint egy összegző hatásként nagymértékű PA felhalmozódást okozott, mellyel párhuzamosan a legnagyobb mértékű SA-akkumuláció szintén az UV+Cd-kezelt növények gyökerében volt kimutatható. Ezzel ellentétben az UV-B sugárzás csökkentette a 15%-os PEG-indukálta ozmotikus stressz tüneteit, mely során a SA felhalmozódás mellett káros mennyiségű PA-akkumuláció nem volt megfigyelhető.

Rizsnövényekben vizsgálni tudtuk, hogy a még kifejezettebb kezdeti SA-tartalombeli különbségek hogyan befolyásolják a stresszérzékenységet. Bár a szárazságérzékeny genotípusok rendszerint enyhén nagyobb SA-szinttel rendelkeztek, mint a toleránsak, a SA-tartalom és a szárazság-tolerancia mértéke között nem volt szoros összefüggés a rizsnövényekben. Hasonlóan, bár az egyedi PA-szintek stressz-specikusan változtak a hideg- és szárazságstressz során (10 °C és 15% PEG), de a vártakkal ellentétben a PA-tartalom sem korrelált a stressztolerancia mértékével, továbbá a PA-ok mennyiségi változásai nem mutattak összefüggést a SA-tartalommal sem.

Az irodalmi adatok alapján felmerült kérdésre tehát, hogy vajon az egyes PA-ok felhalmozódása elengedhetetlen-e a növények toleranciája és a stresszválaszok szempontjából, eredményeink alapján a következő választ adhatjuk. A PA-ok felhalmozódása nem bizonyítja feltétlenül, hogy egyedi szerepük van a közvetlen stresszvédelemben. Ráadásul a különböző PA-ok mennyiségi változásai eltérő irányúak lehetnek. Ugyanakkor, habár nincs közvetlen

összefüggés a stressztolerancia és a PA-ok mennyiségi változásai között, azok számos védővegyülettel (pl. flavonoidok, antioxidánsok, PC-ok, növényi hormonok) korrelációt mutattak. Ebből kifolyólag, ideje, hogy a PA-okra ne csak direkt védőmolekulaként tekintsünk, hanem olyan sokoldalú vegyületekként, amely meghatározó szerepet játszanak a stressztűrési szabályozásában, közvetlen kölcsönhatásba kerülnek más anyagcsere-útvonalakkal és hormonális keresztthatásokkal, illetve aktiválhatják a stresszre válaszütemet adó gének expresszióját is.

3.2. Poliamin-kezelések hatása kontroll és abiotikus stressz körülmények között

Az előbbi eredményekre alapozva, második lépésben külsőleg adagolt különböző PA-kezeléseket alkalmaztunk normál nevelési és stresszkörülmények között gabonanövényeken. Bár a PA-okat általában hasonló molekulák családjaként tekintik, a különböző PA-ok külsőleg adagolva eltérő vagy akár ellenkező hatásúak lehetnek, továbbá a hatásmechanizmusuk az alkalmazott növényfajtól is függ. Vizsgálataink során megcáfoltuk a korábban a PA-okról kialakult „minél több, annál jobb” elvet. A magasabbrendű PA-okkal (SPD és SPM) történt kezelések során, különösen a magasabb koncentrációk (0,3 és 0,5 mM) esetén, és búzával összehasonlítva, a kukoricában még inkább, a felhalmozódó PA-ok mennyisége összefüggésben volt a növények növekedésének gátlásával, a fotoszintetikus hatékonyság romlásával, az oxidatív stressz és a SA-felhalmozódás mértékével. A növények megpróbálták fenntartani az optimális PA arányt, ennek érdekében a PA-ciklus intenzíven működött mind a levelekben, mind a gyökerekben a búza- és a kukoricánövények esetében is, de különbségeket mutattunk ki a ciklus egyes lépéseinek intenzitásában. A PA-ok és az SA között megfigyelt pozitív kapcsolatok feltárása a PA-ok stresszkörülmények közötti szerepének és hatásmechanizmusainak mélyebb megértéséhez vezethetnek. Ugyanakkor a PUT-kezelés, ugyanazon körülmények között, azonos koncentrációban (0,5 mM) növényi növekedést és fotoszintézis serkentő hatása mellett, elő-kezelésként alkalmazva védelmet nyújtott az ozmotikus stressz-szel szemben, de hatása kedvezőbb volt a búzanövények esetében, mint a kukoricában.

Bár bizonyos esetekben a PA-ok védelmet nyújtanak a nehézfémstressz során pl. búzanövényekben, de rizsben ugyanazon körülmények között alkalmazva a 0,5 mM PUT fokozta az 50 μ M Cd-indukálta oxidatív stressz, sőt a legnagyobb mértékű PA-felhalmozódás a PUT-előkezelte növényekben együtt járt a Cd-stressz során tapasztalt csekély mértékű PC-szintézissel. A háttérben meghúzódó folyamatok vizsgálatához figyelembe kell venni, hogy a

magasabbrendű PA-ok és PC-ok szintézise antagonista kapcsolatban állhat. Azonban az is lehetséges, hogy a PA-ok kelátképzőként a PA-Cd kötés révén csökkentik a PC-szintézis indukcióját (mind enzimatisz szinten, mind génexpressziós szinten). Ráadásul a PUT közvetlenül is hatással lehet a PCS génexpressziójára.

0,15 mM ABA- és 0,5 mM PUT-kezelések összehasonlító vizsgálata során kimutattuk, hogy összefüggés van a PA-ok anyagcseréje és az ABA-jelátvitel között, ami a SPD- és SPM-tartalom szabályozott szinten való fenntartását eredményezte ozmotikus stressz (15% PEG) alatt a búzanövényekben. Az ABA komplex módon befolyásolta a PA-metabolizmust, így a megjelenő PA-mintázat a transzkripciós szabályozás, másrészt a katabolizmus és/vagy a visszaalakulás eredményének megnyilvánulása, mind kontroll körülmények között, mind ozmotikus stressz során. Annak ellenére, hogy az ABA és az ozmotikus stressz hasonló hatással volt a PA-készletre, különböző hatást fejtettek ki a prolinszintézisre. A prolin és a PA-ok szintézise részben függetlenül és nem antagonista módon szabályozott; emellett a PA-katabolizmus és a PA-ciklus is kapcsolatban lehet a prolinszintézissel.

Kutatásaink során igazoltuk a PA-metabolizmusban a PA-ciklus kulcsfontosságát. Eredményeinkből kitűnik, hogy a PA-ok metabolizmusa dinamikus. Az abszorbeált exogén PA-ok vagy a megnövekedett mennyiségű endogén PA-ok gyorsan átalakulhatnak egymásba a PA-ciklus során, és a ciklus egyes lépéseinek intenzitása különbözik a növényfajoktól, a szervektől és a stressz körülményektől függően. Így a lehetséges kedvező hatás sem egyértelműen várható. A PA-készlet PA-cikluson keresztül megvalósuló finomhangolása lehet a kulcs a kedvező és kedvezőtlen hatások közötti egyensúly megteremtésére, és ami felelős lehet a különböző növényfajokban tapasztalt különbségekért. A PA-ok bioszintézisében és katabolizmusában részt vevő enzimek tehát fontos szerepet játszanak. Kísérleteink során pl. kimutattuk, hogy a PUT szintézis gátlása DFMO-val rizsben kedvező volt Cd-stressz során. Ugyanakkor, míg az apoplasztikus DAO/PAO enzimek hatékonyságát sokkal inkább a szubsztrátok mennyisége, mint a tényleges aktivitás változás befolyásolja, addig a peroxisómális PAO génexpressziója érzékenyen reagált az alkalmazott kezelésekre.

A PA-ok védőhatása egyrészt molekuláris szinten direkt módon valósulhat meg, de metabolizmusuk más vegyületek szintézisével (pl. prolin, és PC-ok) való összefüggése miatt összetett módon. Másrészt, a PA-ok növényi hormonokkal (pl. SA és ABA) együttműködve, valamint a microarray analízisünk során tapasztaltak alapján igazoltan a génexpressziós szinten kifejtett hatásuk által a jelátvitelben betöltött szerepük is mind hangsúlyosabb. A PA-metabolizmus szerepének és szabályozásának tanulmányozása hozzásegíthet a jobb stresszellenállóságú haszonnövények előállításához.

4. Új tudományos eredmények

- Habár szoros, pozitív korrelációt találtunk a SA- és PA-szintek, valamint a PA-tartalom és az antioxidáns enzimaktivitások között, nem találtunk közvetlen összefüggést PA-szintek, azok változásai és a liztharmat-rezisztencia között búzanövényekben.
- Különböző fagytoleranciájú gabonafajok esetén kimutattuk, hogy a tavaszi zab fajtákban a hidegkezelés során hiányzik a SPD- felhalmozódás. A SPD-szint, flavonoidokkal, ABA-val, t16:1-tal és APX-zal kimutatott szoros kapcsolata azt mutatja, hogy a SPD döntő szerepet játszhat a gabonafélék hideg akklimatizációs jelátviteli folyamataiban.
- A Cd-tolerancia mértéke a GSH/PC-metabolizmus eltérő intenzitásával volt összefüggésben búzanövényekben, azonban a PA-szintek változása csak a γ -EC-tartalommal mutatott összefüggést.
- Kimutattuk, hogy az UV-B sugárzás pozitív vagy negatív hatást is kifejthet ugyanolyan feltételek mellett a búzában, attól függően, hogy milyen típusú a másodlagos stresszfraktor. A védő hatás megléte, vagy hiánya pedig kapcsolatban volt a PA-tartalomban megfigyelt változásokkal.
- Bár az egyedi PA-szintek stressz-specifikus változást mutatva a hideg- és szárazságstressz során rizsnövényekben, a várakkal ellentétben a PA-tartalom nem mutatott összefüggést a stressztolerancia mértékével, továbbá a PA-ok mennyiségi változásai nem mutattak kapcsolatot a SA-tartalommal sem.
- Ellentétben a PUT-nel, a magasabbrendű PA-ok (SPD és SPM) koncentrációfüggő módon káros hatást fejtek ki kukorica- és búzanövényekben is. A kukoricanövények érzékenyebbnek bizonyultak ezen káros hatással szemben, melynek hátterében a búzától eltérő PA- metabolizmus állt.
- A PUT-előkezelés védelmet nyújtott az ozmotikus stressz-szel szemben kukorica- és búzanövényekben. A kedvező hatás összefüggésben volt a PA-tartalommal és metabolizmussal, valamint a SA-tartalom változásaival.
- A PUT-előkezelés fokozta, míg a PUT-szintézis gátlása csökkentette a Cd károsító hatását rizsnövényekben. A PUT gátolta a PC szintézist enzimatis és génexpressziós szinten is.
- A PA-metabolizmus és az ABA-jelátvitel között meglévő kapcsolat vezet a PA és a prolin szintjének megfelelő szinten szabályozott fenntartásához ozmotikus stressz körülmények között búzanövényekben.

5. A tézisekben szereplő hivatkozások

- Ádám A.L., Bestwick C.S., Barna B., Mansfield J.W. (1995) Enzymes regulating the accumulation of active oxygen species during the hypersensitive reaction of bean to *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*. *Planta* **197**:240–249.
- Bates L.S., Waldren R.P., Teare I.D. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil* **39**:205–207.
- Chen J., Zhou J., Goldsbrough P.B. (1997) Characterization of phytochelatase synthase from tomato. *Physiol Plant* **101**:165–172.
- Gay C., Collins J., Gebicki J.M. (1999) Hydroperoxide assay with the ferric–xylenol orange complex. *Anal Biochem* **273**:149–155.
- Janda T., Szalai G., Kissimon J., Paldi E., Marton C., Szigeti Z. (1994) Role of irradiance in the chilling injury of young maize plants studied by chlorophyll fluorescence induction measurements. *Photosynthetica* **30**:293–299.
- Janda T., Szalai G., Tari I., Paldi E. (1999) Hydroponic treatment with salicylic acid decreases the effects of chilling injury in maize (*Zea mays* L.) plants. *Planta* **208**:175–180.
- Kocsy G., von Ballmoos P., Rüegsegger A., Szalai G., Galiba G., Brunold C. (2001) Increasing the glutathione content in a chilling-sensitive maize genotype using safeners increased protection against chilling-induced injury. *Plant Physiol* **127**:1147–56.
- Livak K.J., Schmittgen T.D. (2001) Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. *Methods* **25**:402–408.
- Meuwly P., Metraux J.P. (1993) Ortho-anisic acid as internal standard for the simultaneous quantitation of salicylic acid and its putative biosynthetic precursors in cucumber leaves. *Anal Biochem* **214**:500–505.
- Németh M., Janda T., Horváth E., Paldi E., Szalai G. (2002) Exogenous salicylic acid increases polyamine content but may decrease drought tolerance in maize. *Plant Sci* **162**:569–574.
- Pál M., Horváth E., Janda T., Paldi E., Szalai G. (2005) Cadmium stimulates the accumulation of salicylic acid and its putative precursors in maize (*Zea mays* L.) plants. *Physiol. Plant.* **125**: 356-364
- Pál M., Janda T., Szalai G. (2018) Interactions between plant hormones and thiol-related heavy metal chelators. *Plant Growth Regul* **85**:173–185.
- Pál M., Kovács V., Szalai G., Soós V., Ma X., Liu H., Mei H., Janda T. (2014) Salicylic acid and abiotic stress responses in rice. *J Agron Crop Sci* **200**:1–11.
- Pál M., Kovács V., Vida G., Szalai G., Janda T. (2013) Changes induced by powdery mildew

- in the salicylic acid and polyamine contents and the antioxidant enzyme activities of wheat lines. *European Journal of Plant Pathology* **135**:35–47.
- Saari E.E., Prescott J.M. (1975) A scale for appraising the foliar intensity of wheat diseases. *Plant Disease Reporter* **59**: 377–380
- Szalai G., Janda K., Darkó É., Janda T., Peeva V., Pál M. (2017) Comparative analysis of polyamine metabolism in wheat and maize plants. *Plant Physiol Biochem* **112**:239–250.
- Szalai G., Janda T., Pál M. (2014) Routine sample preparation and HPLC analysis for ascorbic acid (vitamin C) determination in wheat plants and *Arabidopsis* leaf tissues. *Acta Biol Hung* **65**:205–217.
- Szalai G., Krantev A., Yordanova R., Popova LP, Janda T. Influence of salicylic acid on phytochelatin synthesis in *Zea mays* during Cd stress. *Turk J Bot* 2013; **37**: 708–714.
- 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 Physiol Biochem* **108**:266–278.
- Thomas J.C., Perron M., Davies E.C. (2004) Genetic responsiveness to copper in the Ice Plant, *Mesembryanthemum crystallinum*. *Plant Sci* **167**:259–266.

6. A tézisek alapjául szolgáló referált folyóiratban megjelent publikációk

(csillaggal jelölve a felelős szerzősség)

- Pál M.***, Kovács V., Vida G., Szalai G., Janda T. (2013) Changes induced by powdery mildew in the salicylic acid and polyamine contents and the antioxidant enzyme activities of wheat lines. *Eur J Plant Pathol* **135**:35–47.
- Pál M.**, Kovács V., Szalai G., Soós V., Ma X., Liu H., Mei H., Janda T. (2014) Salicylic acid and abiotic stress responses in rice. *J Agron Crop Sci* **200**:1–11.
- Kovács V., Gondor O.K., Szalai G., Darkó É., Majláth I., Janda T., **Pál M.*** (2014) Synthesis and role of salicylic acid in wheat varieties with different levels of cadmium tolerance. *J Hazard Mater* **280**:12–19.
- Kovács V., Gondor O.K., Szalai G., Majláth I., Janda T., **Pál M.*** (2014) UV-B radiation modifies the acclimation processes to drought or cadmium in wheat. *Environ Exp Bot* **100**:122–131.
- Gondor O.K., Szalai G., Kovács V., Janda T., **Pál M.*** (2014) Impact of UV-B on drought- or cadmium-induced changes in the fatty acid composition of membrane lipid fractions in

- wheat. *Ecotox Environ Saf* **108**:129–134.
- Szalai G., Janda T., **Pál M.** (2014) Routine sample preparation and HPLC analysis for ascorbic acid (vitamin C) determination in wheat plants and *Arabidopsis* leaf tissues. *Acta Biol Hung* **65**:205–217.
- Pál M.**, Szalai G., Janda T. (2015) Speculation: Polyamines are important in abiotic stress signaling. *Plant Sci* **237**:16–23.
- Gondor O.K., Szalai G., Kovács V., Janda T., **Pál M.*** (2016) Relationship between polyamines and other cold-induced response mechanisms in different cereal species. *J Agron Crop Sci* **202**:217–230.
- Szalai G., Janda K., Darkó É., Janda T., Peeva V., **Pál M.*** (2017) Comparative analysis of polyamine metabolism in wheat and maize plants. *Plant Physiol Biochem* **112**:239–250.
- Pál M.***, Csávás G, Szalai G, Oláh T, Khalil R, Yordanova R, Gell G, Birinyi Z, Németh E, Janda T (2017) Polyamines may influence phytochelatin synthesis during Cd stress in rice. *J Hazard Mater.* 340: 272-280.
- Pál M.***, Janda T., Szalai G. (2018) Interactions between plant hormones and thiol-related heavy metal chelators. *Plant Growth Regul* **85**:173–185.
- Pál M.***, Majláth I., Németh E., Hamow K.Á., Szalai G., Rudnóy S., Balassa G., Janda T. (2018) The effects of putrescine are partly overlapping with osmotic stress processes in wheat. *Plant Sci* **268**:67–76.
- Pál M.***, Tajti J., Szalai G., Peeva V., Végh B., Janda T. (2018) Interaction of polyamines, abscisic acid and proline under osmotic stress in the leaves of wheat plants. *Sci Rep* 8: 12839.
- Tajti J., Janda T., Majláth I., Szalai G., **Pál M.*** (2018) Comparative study on the effects of putrescine and spermidine pre-treatment on cadmium stress in wheat. *Ecotox Environ Saf* **148**:546–554.

7. *A tézisekhez nem kapcsolódó, referált folyóiratban megjelent publikációk* (csillaggal jelölve a felelős szerzőség)

- Kandra L., Gyémant G., **Pál M.**, Petro M., Remenyik J., Liptak A. (2001) Chemoenzymatic Synthesis of 2-chloro-4-nitrophenyl Beta-maltoheptaoside Acceptor-products Using Glycogen Phosphorylase b. *Carbohydrate Research* 333:(2) 129-136.

- Janda T., Szalai G., Papp N., **Pál M.**, Paldi E. (2004): Effects of freezing on thermoluminescence in various plant species. *Photochem. Photobiol.* 80: 525-530.
- Pál M.**, Horváth E., Janda T., Paldi E., Szalai G. (2005) Cadmium stimulates the accumulation of salicylic acid and its putative precursors in maize (*Zea mays* L.) plants. *Physiol. Plant.* 125: 356-364.
- Pál M.**, Horváth E., Janda T., Paldi E., Szalai G. (2006) Physiological changes and defense mechanisms induced by cadmium stress in maize. *J Plant Nutr Soil Sci* 169: 239-246.
- Horváth E., **Pál M.**, Szalai G., Paldi E., Janda T. (2007) Exogenous 4-hydroxybenzoic acid and salicylic acid modulate the effect of short-term drought and freezing stress on wheat (*Triticum aestivum* L.) plants. *Biol Plant* 51: 480-487.
- Pál M.***, Leskó K., Janda T., Paldi E., Szalai G. (2007) Cadmium-induced changes in the membrane lipid composition of maize plants *Cereal Res Comm* 35: 1631-1642.
- Rácz, I., Paldi, E., Szalai, G., Janda, T., **Pál, M.**, Lásztity, D. (2008) Effect of S-methylmethionine on membrane integrity in higher plants exposed to low temperature stress. *J. Plant Physiol.* 165:1483-1490.
- Pál M.***, Janda T, Szalai G (2011) Absciscic acid may alter the salicylic acid-related abiotic stress response in maize. *Journal of Agronomy and Crop Science-Zeitschrift fur Acker und Pflanzenbau* 197: 368-377
- Kovács V., Vida G., Szalai G., Janda T., **Pál M.*** (2012) Relationship between biotic stress tolerance and protective compounds in wheat genotypes. *Acta Agron Hung* 60:131–141.
- Gulyás Z, Boldizsár Á, Novák A, Szalai G, **Pál M**, Galiba G, Kocsy G (2014) Central role of the flowering repressor ZCCT2 in the redox control of freezing tolerance and the initial development of flower primordia in wheat. *BMC Plant Biology* 14:(1) Paper 91. 17.
- Janda T, Gondor OK, Yordanova R, Szalai G, **Pál M** (2014) Salicylic acid and photosynthesis: signalling and effects. *Acta Physiologiae Plantarum* 36: 2537-2546.
- Rudnóy Sz., Majláth I., **Pál M.**, Paldi K., Rácz I., Janda T., (2015) Interactions of S-methylmethionine and UV-B can modify the defence mechanisms induced in maize. *Acta Physiologiae Plantarum* 37 (8): 1-11.
- Boldizsár Á, Vanková R, Novák A, Kalapos B, Gulyás Zs, **Pál M**, Flokovác K, Janda T, Galiba G, Kocsy G (2016) The mvp2 mutation affects the generative transition through the modification of transcriptome pattern, salicylic acid and cytokinin metabolism in *Triticum monococcum*. *Journal of Plant Physiology* 202: pp. 21-33.
- Boldizsár Á., Carrera D. Á., Gulyás Z., Vashegyi I., Novák A., Kalapos B., **Pál M.**, Galiba G., Kocsy G. (2016) Comparison of redox and gene expression changes during the

- vegetative/generative transition in crowns and leaves of wheat chromosome 5A substitution lines at low temperature. *Journal of Applied Genetics* 57: pp. 1-13
- Gondor OK, Janda T, Soos V, **Pal M**, Majlath I, Adak MK, Balazs E, Szalai G (2016) Salicylic Acid Induction of Flavonoid Biosynthesis Pathways in Wheat Varies by Treatment. *Frontiers in Plant Science* 7: Paper 1447. 12 p.
- Gondor OK, **Pal M**, Darko E, Janda T, Szalai G (2016) Salicylic Acid and Sodium Salicylate Alleviate Cadmium Toxicity to Different Extents in Maize (*Zea mays* L.) *PLoS One* 11:(8) Paper e0160157. 18 p.
- Janda T., Darko É., Shehata S., Kovács V., **Pál M.**, Szalai G. (2016) Salt acclimation processes in wheat. *Plant Physiol Biochem.* Feb 2; 101:68-75.
- Szalai G, **Pál M**, Árendás T, Janda T (2016) Priming seed with salicylic acid increases grain yield and modifies polyamine levels in maize *Cereal Research Communications* 44:(4) pp. 537-548.
- Bányai J, Maccaferri M, Cané MA, Monostori I, Spitkó T, Kuti C, Mészáros K, Láng L, **Pál M**, Karsai I (2017) Phenotypical and physiological study of near-isogenic durum wheat lines under contrasting water regimes. *South African Journal of Botany* 108: pp. 248-255.
- Darko E, Gierczik K, Hudák O, Forgó P, **Pál M**, Türkösi E, Kovács V, Dulai S, Majláth I, Molnár I Janda T Molnár-Láng M (2017) Differing metabolic responses to salt stress in wheat-barley addition lines containing different 7H chromosomal fragments. *PLoS One* 12(3):e0174170.
- Janda T., Khalil R., Tajti J., **Pál M.**, Szalai G., Rudnóy S., Rácz I., Kátay Gy., Molnár A. B, Lejmel M. A, Marček T., Gell Gy., Birinyi Zs., Darko É. (2018) The newly synthesized plant growth regulator S-methylmethionine salicylate may provide protection against high salinity in wheat. *Plant Growth Regulation* 85: 305-315.
- Monostori I, Heilmann M, Kocsy G, Rakszegi M, Ahres M, Altenbach SB, Szalai G, **Pál M**, Toldi D, Simon-Sarkadi L, Harnos N, Galiba G, Darko É (2018) LED Lighting – Modification of growth, metabolism, yield and flour composition in wheat by spectral quality and intensity. *Frontiers in Plant Science* 9: Paper 605. IF: 4.298
- Szalai G., Majláth I., **Pál M.**, Gondor O K, Rudnóy Sz., Oláh Cs., Vanková R., Kalapos B., Janda T. (2018) Janus-Faced Nature of Light in the Cold Acclimation Processes of Maize. *Frontiers in Plant Science* 9: Paper 850.
- Pál M.***, Ivanovska B., Oláh T., Tajti J., Hamow K.Á., Szalai G., Khalil R., Vanková R., Dobrev P., Misheva S.P., and Janda T. (2019) Role of polyamines in plant growth regulation of Rht wheat mutants. *Plant Physiology and Biochemistry* 137: 189-202

Cao, J. Gulyás, Zs. Kalapos, B. Boldizsár, Á. Liu, X. **Pál, M.** Yao, Y. Galiba, G. Kocsy, G. (2019) Identification of a redox-dependent regulatory network of miRNAs and their targets in wheat. *Journal of Experimental Botany* 70: 85-99.

Köszönetnyilvánítás

Köszönet illeti az MTA ATK Mezőgazdasági Intézet vezetőségét, hogy lehetővé tették a munka elvégzését.

Köszönetem Dr. Páldi Emilnek, hogy friss diplomásként bizalmat szavazott nekem.

Köszönetemet szeretném kifejezni Dr. Szalai Gabriella volt témavezetőmnek, akinek segítségére, tanácsaira és támogatására még mindig számíthatok.

Külön köszönet Dr. Janda Tibornak a PhD utáni munkám során nyújtott segítségéért, valamint az értekezés alapos átnézéséért.

Köszönöm volt doktoranduszaimnak, Dr. Kovács Viktóriának és Tajti Juditnak a segítségét a kísérletes munkák egy részében.

Köszönöm közvetlen munkatársaimnak Dr. Darkó Évának, Dr. Gondor Orsolya Kingának, Dr. Majláth Imrének munkájukat egy-egy részfeladat során.

Külön köszönet illeti Kövesdi Ferencné, Kóti Gyulánét†, Janicskáné Oláh Tímeát, akikre mindig számíthattam és segítségük nélkül ez a munka talán el sem készülhetett volna.

Köszönetemet fejezem ki mindazoknak a munkatársaknak, akik bármilyen formában segítettek a munkámat.

Köszönöm szüleimnek, hogy lehetővé tették számomra, hogy tanuljak és folyamatosan motiváltak céljaim elérésében.

Ajánlom Rékának és Regőnek.