

Válaszok az akadémiai doktori kapcsán Dr. Várallyay Éva kérdéseire

Nagyon-nagyon hálás vagyok Dr. Várallyay Éva akadémiai doktori értekezésem bírálata kapcsán végzett minden munkájáért és gondos bírálatáért! Megtisztelő, hogy vállalta, hálásan köszönöm méltatását és a kutatási téma fontosságának elismerését!

Köszönöm véleményét, egyetértek abban, hogy az olvasmányosságát a sok szakmai rövidítés, paraméter valóban nehezíti. Sajnos a minél részletesebb leírásra való törekvés velejárájaként jelentkezik ez a dolgozatban.

Köszönöm észrevételét, sajnos a többszöri ellenőrzés ellenére maradt a dolgozatban az a hiba, miszerint az anyagok és módszerek fejezethez hasonlóan a 4-es számozást kapta az eredmények rész.

A bírálatban tett megjegyzésekre és kérdésekre az alábbiakat szeretném válaszként adni:

1. „1/Az anyag módszer fejezetében fontos lett volna ismertetni a kísérletek során használt mutáns növényeket, röviden leírva azt, hogy vajon az adott hormon termelésében vagy annak érzékelésében (receptor) mutánsok, kitérve arra is röviden, hogy az adott gén termelődésére null vagy feltételes mutánsokról van-e szó. Az eredmények részben erre vannak utalások (pl SA hiányos, hormonmutáns, JA inszenzitív, vagy akár transzgenikus növények (84.oldal)), de a kezelésekre adott válaszok pontos értelmezéséhez ennek ismerete szükséges.”

Köszönöm, egyetértek, részletesebben bemutatthattam volna a felhasznált mutánsok genetikai hátterét és származását az anyagok és módszerek fejezetben, melyet ezúton pótolnék.

A NahG transzgenikus paradicsom növényeket az jellemzi, hogy a szalicilát-hidroxilázt kódoló bakteriális NahG gén expressziója miatt képtelenek SA-t felhalmozni. Ezen képességük hiánya jelentősen fogékonyabbá teszi őket számos kórokozóra, és gyakran spontán nekrotikus levélelváltozásokat okoz (Heck és mtsai. 2003). A NahG lúdfű növényeknél gátolva van a PR1, PR2 és PR5 fehérjék expressziója, és fokozott fogékonyságot mutatnak számos gomba-, bakteriális- és vírus kórokozóval szemben (Delaney és mtsai. 1994). A homozigóta SA hidroxiláz-overexpresszáló transzgenikus paradicsommagok a John Innes Centre-ből származnak (Norwich, Egyesült Királyság), melyeket Dr. María F. López-Climent és Prof. Aurelio Gómez-Cadenas jóvoltából (Department of Biology, Universitat Jaume I) használunk.

A *jasmonic acid-insensitive1 (jai1)* paradicsommutáns (az *Arabidopsis COI1 (CORONATINE-INSENSITIVE1)* receptorának homológja), amelyben a JA érzékelésének rendellenessége áll fenn, az egyik legjobban jellemzett paradicsommutáns. Korábbi tanulmányok kimutatták, hogy ezek a steril mutánsok nem képesek a JA válaszgének expressziójára, valamint a JA által szabályozott proteázgátlók akkumulációjára. Ezen felül ezek a mutáns növények rendkívül ellenállóak a takácsatkával szemben is (Li és mtsai. 2004). A magokat Dr. Bettina Hause (Leibniz Institute of Plant Biochemistry, Halle, Németország) és Dr. Gregg Howe (Michigan State University, USA) bocsátotta rendelkezésünkre. A homozigóta *jai-1/jai-1* palántákat a csírázás során 1 mM metil-jázmonáttal (MeJA) történő kezeléssel választották ki (Howe és Ryan, 1999). A MeJA-ra érzéketlen palánták (*jai-1/jai-1*) nem mutattak növekedési gátlást, és nem váltak lilává, szemben a MeJA-nak kitett érzékeny palántákkal. A kísérletek előtt az érzéketlen növényeket PCR-elemzésnek vetettük alá a homozigóta példányok kiválasztása érdekében (Li és mtsai. 2004).

Paradicsomban hét ET receptort írtak le, ezek az SIETR1, -2, -4, -5, -6, -7 és a Never ripe (Nr) (Cara és Giovannoni, 2008). Az SIETR3-ra történeti okokból NR-ként hivatkoznak a szakirodalomban (Wilkinson és mtsai. 1995). Három ET receptor, az SIETR1, -2 és a NR az I-

es receptor alcsaládba tartozik, mivel rendelkeznek jól konzervált hisztidin-kináz (His-kináz) doménnel. A másik négy receptor (SlETR4-SlETR7) a II-es alcsaládba sorolandó, mivel egyes, a His-kináz aktivitáshoz szükséges alkotóelemeik hiányoznak (Liu és mtsai. 2015). Az *Nr* egy domináns mutáció a gén N-terminális régióján, ami befejezetlen és késleltetett érési fenotípust és sárga/narancssárga színű, csekély mértékben puhult paradicsom gyümölcsöket eredményez, a receptor ET-kötésének sérülése miatt. Ugyanakkor az *Nr* expressziója nemcsak a gyümölcs perikarpiumában figyelhető meg (Mata és mtsai. 2018), hanem a paradicsomrügy és -levél szöveteiben is (Tieman és mtsai. 2000). A vegetatív szervekben az *Nr* mutáció ET inszenzitivitást vált ki az összes vizsgált szövetben. A homozigóta domináns *Nr/Nr* mutánsok csaknem teljesen érzéketlenek az ET-re a hármass-válasz próba során, exogén ACC jelenlétében, mellyel mi is ellenőriztük a növényeket (Lanahan és mtsai. 1994). Az *Nr* mutáció esetében fennmaradó, reziduális ET-szenzitivitás a fiziológiailag releváns ET koncentrációk esetében marginálisnak tekinthető (Yen és mtsai. 1995). Kísérleteinkhez Prof. Dr. G Seymour (School of Biosciences, Plant Sciences Division, University of Nottingham) biztosította az *Nr* homozigóta növények magjait. Tanszékünk minden szükséges hatósági engedéllyel rendelkezik a növények tartása, nevelése és vizsgálata szempontjából.

Cara, B., & Giovannoni, J. J. (2008). Molecular biology of ethylene during tomato fruit development and maturation. *Plant Science*, 175(1-2), 106-113.

Delaney, T. P., Uknes, S., Vernooij, B., Friedrich, L., Weymann, K., Negrotto, D., ... & Ryals, J. (1994). A central role of salicylic acid in plant disease resistance. *Science*, 266(5188), 1247-1250.

Heck, S., Grau, T., Buchala, A., Métraux, J. P., & Nawrath, C. (2003). Genetic evidence that expression of NahG modifies defence pathways independent of salicylic acid biosynthesis in the *Arabidopsis-Pseudomonas syringae* pv. *tomato* interaction. *The Plant Journal*, 36(3), 342-352.

Howe, G. A., & Ryan, C. A. (1999). Suppressors of systemin signaling identify genes in the tomato wound response pathway. *Genetics*, 153(3), 1411-1421.

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.

Li, L., Zhao, Y., McCaig, B. C., Wingerd, B. A., Wang, J., Whalon, M. E., ... & Howe, G. A. (2004). The tomato homolog of CORONATINE-INSENSITIVE1 is required for the maternal control of seed maturation, jasmonate-signaled defense responses, and glandular trichome development. *The Plant Cell*, 16(1), 126-143.

Liu, M., Pirrello, J., Chervin, C., Roustan, J. P., & Bouzayen, M. (2015). Ethylene control of fruit ripening: revisiting the complex network of transcriptional regulation. *Plant Physiology*, 169(4), 2380-2390.

Mata, C. I., Fabre, B., Parsons, H. T., Hertog, M. L., Van Raemdonck, G., Baggerman, G., ... & Nicolaï, B. M. (2018). Ethylene receptors, CTRs and EIN2 target protein identification and quantification through parallel reaction monitoring during tomato fruit ripening. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1626.

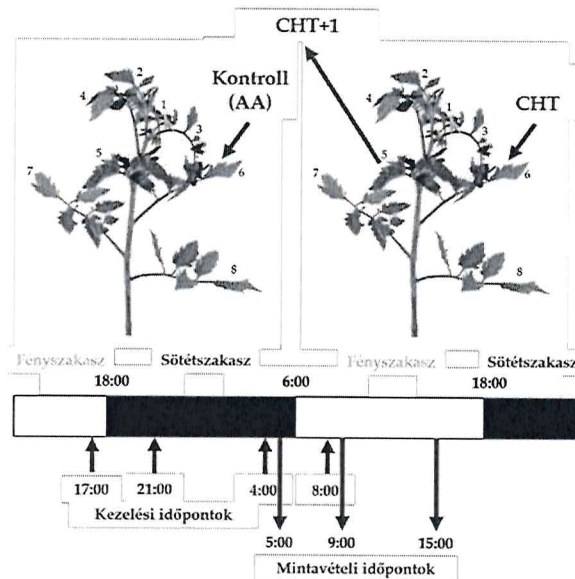
Tieman, D. M., Taylor, M. G., Ciardi, J. A., & Klee, H. J. (2000). The tomato ethylene receptors NR and LeETR4 are negative regulators of ethylene response and exhibit functional compensation within a multigene family. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(10), 5663-5668.

Wilkinson, J. Q., Lanahan, M. B., Yen, H. C., Giovannoni, J. J., & Klee, H. J. (1995). An ethylene-inducible component of signal transduction encoded by *Never-ripe*. *Science*, 270(5243), 1807-1809.

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.

2. „2/A kitozán-kezeléseket különböző időpontokban (du 17.00, este 21.00 és hajnal 4.00) végezték, de ezek után mindig adott időpontban (hajnal 5.00, reggel 9.00 és du 15.00) vettek mintát. Egy áttekintő táblázat, vagy ábra a sötét jelenlétéről és a kezelések, illetve a mintavételek időpontjáról nagyban segítette volna az értelmezést. A kezelést követő első mintavételekig eltelt idő minden kezelés esetében más (12h, 8h és 1h) volt. Lehetségesnek tartja, hogy 1 órával a kezelést követően nemcsak a hajnali 4 órai, hanem a délutáni és esti kezelést követően is nagyobb mértékű PR1-expressziót tapasztaltak volna, ahhoz hasonlóan, amit a reggel 8-kor elvégzett kezelést követően sötétben és fényben is tapasztaltak?”

Köszönöm észrevételét, egyetértek, egy ábra segítette volna a kísérleti elrendezés könnyebb megértését, melyet azonban a terjedelmi korlátok miatt nem tudtam beilleszteni, viszont ezúton pótlom:



A feltett kérdés kapcsán valóban feltételezhetjük, hogy a kezelést követően nem kizárt a vizsgálati időpontoktól eltérően a *PR1* gén expressziójában a nagyobb növekedés, mint ahogy azt a hajnali és reggeli esetekben megfigyeltük. Ugyanakkor egy másik elicitorral végzett még részletesebb tanulmányunk során, ahol a délután 5:00 és este 21:00 óras flg22 kezeléseket vizsgáltuk a kezelést követő 30. ill. 60. percben, nem tapasztaltunk a sötétben történt kezelést követően szignifikáns ROS és NO, valamint *PR1* expressziós növekedést (Czékus és mtsai. 2021). Mindezek alapján az esti növényi válasz valamennyire hasonló a reggeli sötétben mért válaszhoz a fényhez képest.

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), 8354.

3. „3/Kontroll növényekben a lokális választ mindig a felülről a 6. szint leveleiben, míg a szisztémikus a felülről 5. emelet leveleiben vizsgálták. Vajon a szisztémikus válasz esetében nem lett volna fontos a kontrollnövény szintén felülről 5. emeletén lévő levelek paramétereit is megmérni? Volt-e előző mérésük arra vonatkozóan, hogy e két levélemelet *PR1* expressziója, sztóma átmérője, ROS paramétereit és *Bip* expressziója mennyire azonosak vagy csak feltételezték, hogy ezek között nincs jelentős eltérés?”

Köszönöm kérdését. A vizsgálatok során megmértük ezeket a fiziológiai paramétereket és számottevő különbséget nem találtunk például a sztómanyitottság vagy H_2O_2 szintekben. Ugyanakkor ennél a tanulmánynál sajnos valóban nem ábrázoltuk a szisztémikus kontroll leveleket külön. Az ezt követő vizsgálatainknál már figyeltünk erre és külön oszlopon jelenítettük meg ezeket az eredményeket (Czékus és mtsai. 2021).

4. 4/A CHT-kezelést követően meggyőző *Bip*-expresszió növekedést mértek, ami ugyan korrelált, de nagyságrendjében elmaradt, amikor a *BiB* fehérje expressziós szintjével hasonlították össze. Lehetséges, hogy ez a válasz csak időben van lemaradva, és ha a kezelést

követően 2 vagy 3 óra múlva mérték volna, jelentősebb lett volna? A 9.ábrán csak a BiP hibridizáció szerepel. Jól értem, hogy a membránt párhuzamosan anti-aktin-ellenanyaggal is hibridizálták, és a feltüntetett % az ehhez normalizált adatokat mutatja?

Köszönöm kérdését, valóban a fehérje mennyiségében történő változások később jelentkezhetnek a génextpressziós változásokhoz képest. Ugyanakkor az egyik legelső tanulmányban, mely a témában született már két órán belüli BiP fehérjevaltozást detektáltak (Jelitto-Van Dooren és mtsai. 1999). A BiP expresszió vizsgálata azonban sokkal elterjedtebb az ER stressz és UPR vizsgálata során, mely nagyon gyorsan történik és molekuláris markerként használható (Zhang és Wang, 2012). Mi azonban próbáltuk megnézni a fehérje szinten történő változásokat is a génextpresszió vizsgálata mellett. A mérések során azonos mennyiségű fehérjét vittünk fel a gélekre, az eredmények a saját, kezeletlen kontrollra lettek normálva. Az aktint sajnos a dolgozatban nem tüntettük fel, mely azonban a dolgozat alapjául szolgáló tanulmányban megtalálható (Czékus és mtsai. 2021). Ugyanakkor valóban, szerencsésebb lett volna az aktin fehérje kifejeződésben történt változásokat is bevonni a számolásba.

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, 153461.

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.

Zhang, L., & Wang, A. (2012). Virus-induced ER stress and the unfolded protein response. *Frontiers in Plant Science*, 3, 293.

5. „5/A 21.00 órás kezelés, véleményem szerint nem a sötét szakasz elején van, hiszen a sötét az anyag-módszer leírása alapján 18.00-kor kezdődik – így este 9-kor már 3 órája tart. Ezt a kezelést követően is megfigyelhető volt a PR1-indukció reggel 8 órakor, méghozzá a 17 órás kezelése után mértékkel nagyjából hasonló mértékben. A 21 órás kezelés okozta a legnagyobb PR1-expressziós növekedést 12 óra után! Mi lehet ennek az oka?”

Köszönöm, valóban a 21 óra olyan értelemben nem tekinthető a sötét szakasz elejének, amennyiben 18 órakor lekapcsoljuk a villanyt. Annyiban viszont igen, hogy ebben az első éjszakai negyedben kezdődik meg a nappal folyamatosan növekvő aktivitású antioxidáns enzimek és más védekezésben szerepet játszó enzimek aktivitásának visszacsökkenése (Kerdnaimongkol és mtsai. 1997; Gallé és mtsai. 2018). Emellett azért 21 órakor, 3 órával a fény kikapcsolását követően kezdjük el vizsgálni a védekezési folyamatokat, mert az aktív fitokrómok lebontódáshoz több órára van szükség (Pearce és mtsai. 2017). Genoud és mtsai. (2002) írták le elsőként, hogy a *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000, vagy az exogén SA (0,25 mM) kezelés hatására jelentkező PR1 expresszió a sötétben elmarad lúdfüben. Emellett azt is leírták, hogy az a *phyB* mutánsokban is alacsonyabb. Klessig és munkacsoportja (Liu és mtsai. 2011) volt az első, aki leírta, hogy a fertőzés után kapott fényexpozíció hossza határozza meg pl. a MeSA szerepét a gyors és szisztémikus védekezési válaszok kialakításában. Éjszaka vagy a sötét periódus kezdetén a növényi védekezési válaszok késtek, míg reggel, a fényszakasz elején erőteljesebben jelentkeztek. Ezek alapján az este 21 órakor alkalmazott CHT kezelés nem váltott ki olyan mértékű SA-mediálta választ, mint a fényszakasz elején alkalmazott SA kezelés annak első órájában. Ugyanakkor a levélen maradt CHT hatására másnap a reggeli órákban aktiválódhatott az SA-által szabályozott védekezés a PR1 expresszió alapján, azaz megkésett, ahogy ezt a fertőzések kapcsán Klessig és munkacsoportja korábban megfigyelte (Liu és mtsai. 2011). A hajnali gyors emelkedés hátterében a napszakfüggő változások és a fényszakasz kezdetének regulációja áll, mely során a védekezési gének kifejeződése a kísérleti növényekben

programszerűen, ekkor kezd emelkedni a fény bekapcsolása vagy az ezelőtti fázisban (Karapetyan és Dong, 2018). Emellett igazolt az is, hogy az LHY a védekező gének pozitív szabályozójaként nagyobb érzékenységgel reagál az SA indukciójára reggel, mint este (Zhou és mtsai. 2015).

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*, 69(4), 505-509.

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.

Karapetyan, S., Dong, X. (2018). Redox and the circadian clock in plant immunity: A balancing act. *Free Radical Biology and Medicine*, 119, 56-61.

Kerdnaimongkol, K., Bhatia, A., Joly, R. J., & Woodson, W. R. (1997). Oxidative stress and diurnal variation in chilling sensitivity of tomato seedlings. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 122(4), 485-490.

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.

Pearce, S., Shaw, L. M., Lin, H., Cotter, J. D., Li, C., & Dubcovsky, J. (2017). Night-break experiments shed light on the Photoperiod1-mediated flowering. *Plant Physiology*, 174(2), 1139-1150.

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.

6. „6/ Az exogén SA-kezelések leírásánál szerencsésebbnek találtam volna, hogy ha az adott enzimaktivitás és a hozzá tartozó génexpressziós vizsgálatok egymáshoz kapcsolva szerepeltek volna. A génexpressziós változások ráadásul (pl. az *SIRBOH1* expressziójában) igen markánsan és fényfüggő módon történtek. Esetleg ismert az, hogy hány *SIBOH*-enzimet kódoló gén van a paradicsomban, és ismert-e ezek expressziójának szöveti vagy esetleg sejtszintű expressziója? Lehetséges-e, hogy különböző *SBOH*-ok a levélben időben és térben is antagonisták módon szabályozódnak, és így az aktivitásméréskor csak ezen folyamatok eredőjét lehetséges mérni?”

Köszönöm, valóban egymás után is lehetett volna az egyes enzimaktivitásokat és az adott gének expresszióját ábrázolni. A célom az volt, hogy a főbb ROS produkció után bemutassam az egyes antioxidánsok aktivitásában bekövetkező változásokat, melyek erre lehetnek hatással és csak utána az őket kódoló főbb gének expressziós változását.

A korábbi tanulmányokban, melyek alapján mi is választottunk, 8 NADPH-oxidázt kódoló gént azonosítottak a paradicsom növényben, amelyek neve *SIRbohA*-tól *SIRbohH*-ig terjedt (Li és mtsai. 2015). A legújabb, genomszintű átfogó azonosítási vizsgálatok során azonban már 11 *SIRBOH* gént azonosítottak paradicsomban (önkéntes számozást követve), melyek a legnagyobb valószínűséggel a plazmamembránban lokalizálódó enzimeket kódolnak. Kifejeződésüket gyökérben, szárban és a levelekben is kimutatták, illetve a virágban és a termésérés során is vizsgálták (Wang és mtsai. 2024). Ezen legújabb tanulmányban valóban, stressztől függően egyes *SIRBOH* gén/gének a többi indukciójához képest represszálódtak. Például sóstressz hatására míg a 11 génből 10 transzkript szintje nőtt, addig egy (5-ös számozású) expressziója csökkent. Hőstressz hatására 2 gén kifejeződése csökkent, míg hideghatásra 6 gén represszálódott az idő függvényében. A H_2O_2 kezelésre viszont mindegyik transzkript szintje megnőtt (Wang és mtsai. 2024). Ezek miatt valóban, az aktivitásméréskor a gének expressziójában bekövetkező változások eredőjét mérhetjük. A korábban azonosított 8 génből az *SIRbohB*-t (korábban *Wfi1*) és az *SIRbohG*-t (korábban *SIRBOH1*, ahogy mi is használtuk) általában e család kulcsfontosságú, erősen expresszálódó tagjaként azonosították. Megállapították, hogy az *SIRBOH1* (*SIRbohG*) szerepet játszik az apoplasztikus H_2O_2 -termelésben és a sztómák záródásának indukciójában. A gén kifejeződését a *Botrytis cinerea*

fertőzés is indukálta (Li és mtsai. 2015), legújabban pedig a sóstressz során írták le kulcsszerepét (Egea és mtsai. 2025). Összeségében tehát emiatt esett a választásunk erre a génre.

Egea, I., Barragán-Lozano, T., Estrada, Y., Jáquez-Gutiérrez, M., Plasencia, F. A., Atarés, A., ... & Pineda, B. (2025). *Respiratory burst oxidase G (SIRBOHG): A key regulator of H₂O₂-Mediated Na⁺ homeostasis and salt tolerance in tomato. Plant Physiology and Biochemistry, 222, 109683.*

Li, X., Zhang, H., Tian, L., Huang, L., Liu, S., Li, D., & Song, F. (2015). Tomato SlRbohB, a member of the NADPH oxidase family, is required for disease resistance against *Botrytis cinerea* and tolerance to drought stress. *Frontiers in Plant Science, 6*, 463.

Wang, Y., Liu, Z., Li, L., Pan, X., Yao, K., Wei, W., ... & Wang, C. (2024). The characteristics and expression analysis of the tomato slrboh gene family under exogenous phytohormone treatments and abiotic stresses. *International Journal of Molecular Sciences, 25*(11), 5780.

7. „7/ Hasonló a kérdés a paradicsom katalázai (SIKATI-3) esetében. Itt a három gén expressziójának trendje azonos, de vajon a relatív transzkripció szint egymáshoz képest hogyan viszonyul. Nagyságrendileg ezen gének expressziója megegyezik, vagy lehetnek különbségek?”

A növényi KAT enzimeket egy kis géncsalád kódolja, amely általában három izoenzim-géncsoportból áll, és amelyek a növény teljes életciklusa során meglehetősen összetett térbeli és időbeli expressziós mintázatot mutatnak (Luna és mtsai. 2005). Az I. és a II. osztályba tartozó gének transzkripciója ellentétes nappal-éjszaka ritmust mutat, és ezek számos növényben cirkadián szabályozás alatt állnak (Mhamdi és mtsai. 2010). Alapvetően a legmagasabb KAT-aktivitás a peroxiszómákban található. Ezen felül azonban a kukoricában és a spenótban léteznek mitokondriális és kloroplasztikus KAT-formák (Foyer és Noctor, 2000). A KAT-ok fő csoportjai közül az I. osztályú KAT-ok erősen expresszálódnak a levélben, fényfüggőek és részt vesznek elsősorban a fotorespiráció által generált H₂O₂ eltávolításában. A II. osztályú KAT-ok főként a vaszkuláris szövetekben találhatóak, a III. osztályba tartozó tagok pedig a peroxiszómában lokalizálódnak (Luna és mtsai. 2005).

A három gént egymásra normálva valóban jelentős különbségek figyelhetők meg azok alap kifejeződésében paradicsom levélben. A legdominánsabb expressziót az SIKAT2 mutatja, melynek a tizede az SIKAT1 alapexpressziója. A legkisebb értéket pedig az SIKAT3 mutatta, mely az SIKAT1 értékének százada.

Luna, C. M., Pastori, G. M., Driscoll, S., Groten, K., Bernard, S., & Foyer, C. H. (2005). Drought controls on H₂O₂ accumulation, catalase (CAT) activity and CAT gene expression in wheat. *Journal of Experimental Botany, 56*(411), 417-423.

Mhamdi, A., Queval, G., Chaouch, S., Vanderauwera, S., Van Breusegem, F., & Noctor, G. (2010). Catalase function in plants: a focus on Arabidopsis mutants as stress-mimic models. *Journal of Experimental Botany, 61*(15), 4197-4220.

Foyer, C. H., Noctor, G. (2000). Oxygen processing in photosynthesis: regulation and signaling. *New Phytol.* 146: 359-388

8. „8/ A kezelés gyökéren keresztül 24 órán keresztül történt, és ha jól értem, reggel 9-kor kezdődött. Hogyan kell értelmezni a fény és a sötét szerepét itt? A sötétben kezelt növények ezután végig, a 24 órás mintavételig sötétben maradtak? Nem lehetséges az, hogy ennek az elhúzódó sötétnek (ami hosszabb, mint a normál sötét periódus) is hatása van a mért adatokra?”

Köszönöm, igen, a CHT kezelésén kívül minden más kísérletünk és kezelésünk reggel 9 órakor kezdődött, a gyökéren keresztül alkalmazva. Ennek a választott időpontnak az oka a

sztómatomozgásban és fotoszintetikus aktivitásban megfigyelt változások figyelembevétele egy korábbi munkánk alapján (Poór és Tari, 2012), így azóta is a fényperiódus 3. órájában kezdjük a vizsgálatainkat. Ebben az időpontban ugyanis a CCA1/LHY transzkripció faktorok aktiválódásának köszönhetően már bekapcsolódott a növények védekezése, a sztómák kinyíltak és a fotoszintetikus aktivitás a fényszakasz első felének megfelelően optimálisan működik (Koprivanacz és mtsai. 2025). Ezt kapcsoltuk ki a sötétben történt SA kezeléssel, mely során a kezelt növények egy részét sötétbe helyeztük. Ezek a növények ezt követően 24 óráig sötétben voltak, míg az SA-kezelt növények másik csoportja a normál fotoperióduson maradt, ahol este 18 órától volt sötét, másnap reggel hatig, majd a mintavétel reggel 9 órakor történt a fényben. Valóban, az elhúzódó vagy meghosszabbított sötétnek is hatása van, melyet azonban a megfelelő kontrollok hivatottak mutatni. Sajnos azonban a napi ritmus miatt a fény hatását csak hasonló elrendezésben és megalkuvásokkal lehet vizsgálni, ha a sötétperiódusban kapcsolnánk fényt, az az ebben a periódusban zajló folyamatok miatt (pl. alacsony védekezési kapacitás, fokozott növekedés) lenne hatással a mért adatokra. Az újabb munkáinkban azonban már törekszünk a természetes „háttér” vizsgálatára, mely azonban több mintavételi pontot igényel mind a fény, mind pedig a sötét szakaszban (pl. egy-egy szakasz átlépési pontja előtt és után is).

Koprivanacz, P., Kukri, A., Milodanovic, D., Martics, A., Czékus, Z., Gallé, Á., ... & Poór, P. (2025). Red light improved photosynthesis and defence-related metabolism in tomato in a leaf level-dependent manner. *Plant Stress*, 18, No-101104.

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.

9. „9/ A hexokinázok szerepének vizsgálatával kapcsolatban: míg a normál fényviszonyok között mért HCK1-4 génexpresszió korrelál a mért enzimaktivitással, a sötétben mért génexpressziós különbségek azonban nem magyarázzák az enzimaktivitásban mért különbségeket. Van esetleg magyarázat arra, hogy az öreg levelekben miért nő meg ilyen nagyon a HXK-gének expressziója?”

A hexokinázok sokrétű szereppel bírnak a növényekben, nem csupán az energiatermelésben, de fogyasztásban egyaránt, ill. egyfajta cukorszenzorként vagy akár a sejthalál szabályozásában is szerepet játszanak (Granot és mtsai. 2013). Az idősebb levek a kifejlett ill. fejlődőkhöz képest teljesen más metabolizmust mutatnak, alap glükóz szintjük is csupán 60 %-a a fejlődő levelekének. Erre az alap különbségre a meghosszabbított sötétség is máshogy hathat. Többek között nem csupán a sötét-indukálta etilén felhalmozódás hathatott érzékenyebben a génekre (Yanagisawa és mtsai. 2003), hanem az SnRK1 energiaszenzor hatására is jobban fokozódhatott a sötétség alatt alapesetben is alacsonyabb energiaszint miatt a cukorkatabolizmus vagy a TOR aktivitás, mely gátolja a szenescenciát (Li és Zhao, 2024).

Granot, D., David-Schwartz, R., & Kelly, G. (2013). Hexose kinases and their role in sugar-sensing and plant development. *Frontiers in Plant Science*, 4, 44.

Li, G., & Zhao, Y. (2024). The critical roles of three sugar-related proteins (HXK, SnRK1, TOR) in regulating plant growth and stress responses. *Horticulture Research*, 11(6), uhae099.

Yanagisawa, S., Yoo, S. D., & Sheen, J. (2003). Differential regulation of EIN3 stability by glucose and ethylene signalling in plants. *Nature*, 425(6957), 521-525.

10. „10/ Míg a levelek korától függő HXK-változásokat normál fotoperiódusban és sötétben is vizsgálták, az SA hatását csak normál fotoperiódusban vizsgálták. Van-e hipotézise arra, hogy milyen változást detektáltak volna, az SA kezelést sötétben elvégezve?”

Köszönöm, ezeket a méréseket is elvégeztük, de publikálásuk elmaradt. Ahogy feltételeztük, kontroll körülmények között este a sötétben szignifikánsan csökken az alap HXK aktivitás és a gének expressziója, hasonlóan, csak jóval szignifikánsabban az SA kezelések során is így történt a sötétben, ezért a két stressz (sötét és SA) együttes hatása azonos, gátló lehet a kifejtett levelekben. A mérések valóban ezt mutatták, minden gén expressziója csökkent az alkalmazott SA koncentráció függvényében, ezekben a levelekben. Ugyanakkor az SA koncentrációtól függő, ET gátlására gyakorolt hatása miatt a szenescens levelekben valóban érdekes lenne ezen változások detektálása!

11. „11/ Többször utal rá, hogy a legerősebb napi ingadozást a HXK1 és HXK4 gének expressziója mutatta. Tudjuk-e, vagy becsülhető-e az, hogy ezen gének relatív expressziója mekkora egymáshoz és a másik két gén expressziójához képest? Kérdésem arra irányul, hogy vajon mennyire érvényesül az össz HXK expresszióban ez a jól megfigyelhető ingadozás.”

A négy vizsgált *SIHXX* gén kifejeződését kontroll körülmények között a reggeli időpontban összehasonlítva a kifejtett levelekben azt kaptuk, hogy az *SIHXX1* a domináns, aminek a fele az *SIHXX2*, harmada az *SIHXX4* és ötöde az *SIHXX3* expressziója.

12. „12/ A hexonkináz aktivitás SA-kezelésre való változásánál nekem úgy tűnik, hogy az 1 mM SA hatására a hexonkináz aktivitás a fiatal levelekben megfigyelt görbéhez hasonlóan változik. Nem azt várnánk, hogy a kezelés hatására, mivel a stressz választ indukál, a levélben inkább az öreg levelekhez hasonlóan alakul a HXK-aktivitás, vagy rosszul gondolom?”

A HXK aktivitás ebben az esetben - a letális SA koncentráció alkalmazása miatt - inkább úgy alakulhat, hogy kezdetben még fokozódik a védekezés részeként, majd a nagy ROS produkción és a kimerült antioxidáns és egyéb, a védekezésben szerepet játszó enzimműködéssel együtt csökken és véglegesen inaktiválódik a sejthalál, melynek során pl. különböző cisztein proteázok aktiválódnak (Kovács és mtsai. 2016). Hasonló időbeli kinetikát láthatunk a ROS produkcióban is pl. sejtuszupenzióban (Poór és mtsai. 2013).

Kovács, J., Poór, P., Szepesi, Á., & Tari, I. (2016). Salicylic acid induced cysteine protease activity during programmed cell death in tomato plants. *Acta Biologica Hungarica*, 67(2), 148-158.

Poór, P., Kovács, J., Szopkó, D., & Tari, I. (2013). Ethylene signaling in salt stress-and salicylic acid-induced programmed cell death in tomato suspension cells. *Protoplasma*, 250(1), 273-284.

13. „13/ Az ER-stressz tanulmányozása kapcsán elvégzett kísérleteknél érdekesnek találtam, hogy a VT-növény 1 mM SA-val való kezelése kapcsán mind a plusz Tm, mind a plusz PBA kezelés hatására megnőtt a GSH-szint, míg ha a két extra kezelés együtt alkalmazták, a GSH-szint csökkent (36.ábra), de a GST-szint változásakor a hatás additívnak mutatkozott (37/D ábra). Hogyan magyarázható ez a változás?”

Köszönöm, ez nagyon érdekes, mivel a GSH szint valóban jobban megemelkedik a nagy koncentrációjú SA kezelés hatására az ER stresszt indukáló Tm kezeléséhez képest, valamint a molekuláris biológiai tanulmányokban kémiai chaperonként használt PBA kezeléshez képest egyaránt. Az SA kapcsán ismert, hogy fokozza a GSH keletkezését, hogy elősegítse a különböző stresszhatások túlélését a növényekben (Tari és mtsai. 2015; Kaya és mtsai. 2020). Ugyanakkor a GSH szintjét meghatározó, annak metabolizmusában részt vevő komponensekre, illetve az azokat kódoló gének expressziójára sokféleképpen hathat. Ráadásul ez lehet

koncentráció- és szervfüggő is (Gallé és mtsai. 2021). A mi méréseink alapján is megfigyelhető, hogy az SA a glutation bioszintézishez kapcsolódó *SIGSH1* expresszióját csökkentette, de a *SIGR2* és több *GST* (pl.: *SIGSTF2* és *SIGSTT3*) gén mellett a katabolizmusban szerepet játszó *SIGGT* transzkript szintjét is fokozta. Azonban enzim szinten nemcsak a GST aktivitás, hanem a GR, DHAR és GPOX enzimek aktivitása is szignifikánsan nőtt az SA kezelés hatására. A GSH szintjét sok minden befolyásolja, minden sejt-kompartimentumban kulcsszereplő. Emellett sokrétű szerepének (pl.: antioxidáns-védelem, redox-homosztázis, xenobiotikumok méregtelenítése, tiolcsoportok védelme, kénmetabolizmusban betöltött szerep) (Gill és Tuteja, 2010) sajnos csak egy részét tudtuk tanulmányozni. A hármas kezelés esetében a PBA szerepe sem egyértelmű, mert bár kémiai chaperonként általánosan alkalmazzák (Watanabe és Lam, 2008), fiziológiailag aspecifikus hatásai is vannak, például jelentősen hat az ET-re (Czékus és mtsai. 2022). Ugyanakkor a PBA hatását a GST gének expressziójára először vizsgáltuk, és az eredmények alapján az *SIGSTF2*, *SIGSTU5* és *SIGSTT3* magas indukcióját figyelhettük meg a Tm- és/vagy SA kezelés hatására, ami a magas GST aktivitással együtt hozzájárulhat az ER-stressz káros hatásainak enyhítéséhez.

Gill, S. S., Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(12), 909-930.

Gallé, Á., Bela, K., Hajnal, Á., Faragó, N., Horváth, E., Horváth, M., ... Csiszár, J. (2021). Crosstalk between the redox signalling and the detoxification: GSTs under redox control?. *Plant Physiology and Biochemistry*, 169, 149-159.

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.

Kaya, C., Ashraf, M., Alyemeni, M. N., Ahmad, P. (2020). The role of endogenous nitric oxide in salicylic acid-induced up-regulation of ascorbate-glutathione cycle involved in salinity tolerance of pepper (*Capsicum annum* L.) plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 147, 10-20.

Tari, I., Csiszár, J., Horváth, E., Poór, P., Takács, Z., Szepesi, Á. (2015). The alleviation of the adverse effects of salt stress in the tomato plant by salicylic acid shows a time- and organ-specific antioxidant response. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 57(1), 21-30.

Watanabe, N., Lam, E. (2008). BAX inhibitor-1 modulates endoplasmic reticulum stress-mediated programmed cell death in Arabidopsis. *Journal of Biological Chemistry*, 283(6), 3200-3210.

14. „14/ Az etilén hatását egy etilénreceptor-mutánsban (*Never ripe*) vizsgálták. Ha a mutánsban nincs etilénreceptor, hogyan hat a kívülről adott etilén, hogyan kell értelmeznünk az itt kapott választ?”

Az *Nr* (*SlETR3*; *AtETR1* homológ) egy domináns mutáció a gén N-terminális régióján, ami éretlen, sárga színű terméssel rendelkező növényt eredményez, azonban a mutáció minden vegetatív szervben jelen van és ET inszenzitivitást vált ki a szövetekben (Lanahan és mtsai. 1994). Habár pl. az ET prekursor ACC kezelés hatására érzéketlen, maga az ET bioszintézis nem sérült, sőt, kismértékben fokozottabb a mutánsban az ET érzékelés hiánya miatt fellépő bioszintézisben történő visszacsatolás miatt (Monteiro és mtsai. 2011). Eredményeink az mutatják, hogy a magas koncentrációjú ACC kezelés fokozta a *BiP* expresszióját, azaz az ET részt vesz az UPR szabályozásában. A Tm-indukálta *BiP* expresszió viszont kisebb mértékű volt az *Nr* növények levelében a VT-hoz képest, azaz az SA-hoz hasonlóan szerepe van az ET-nek az ER stressz során a növények védekezésében.

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.

Monteiro, C. C., Carvalho, R. F., Gratão, P. L., Carvalho, G., Tezotto, T., Medici, L. O., ... & Azevedo, R. A. (2011). Biochemical responses of the ethylene-insensitive *Never ripe* tomato mutant subjected to cadmium and sodium stresses. *Environmental and Experimental Botany*, 71(2), 306-320.

15. „15/ A kutatások során a *NahG*-növények kiemelt szerepet kaptak. Pontosan milyen mutáns ez?”

Köszönöm, sajnos a mutánsok részletes bemutatására nem került sor a dolgozatban. Az első kérdés válaszában leírtaknak megfelelne, a *NahG* transzgenikus növények a szalicilát-hidroxilázt kódoló bakteriális *NahG* gén expressziója miatt képtelenek SA-t felhalmozni. Ezen képességihiány jelentősen fogékonyabbá teszi őket számos kórokozóra, és gyakran spontán nekrotikus levéleváltozásokat okoz (Heck és mtsai. 2003). A *NahG* növények kisebbek és gátolt bennük az SA marker *PR1* kifejeződése (Delaney és mtsai. 1994).

Delaney, T. P., Uknes, S., Vernooij, B., Friedrich, L., Weymann, K., Negrotto, D., ... & Ryals, J. (1994). A central role of salicylic acid in plant disease resistance. *Science*, 266(5188), 1247-1250.

Heck, S., Grau, T., Buchala, A., Métraux, J. P., & Nawrath, C. (2003). Genetic evidence that expression of *NahG* modifies defence pathways independent of salicylic acid biosynthesis in the *Arabidopsis*-*Pseudomonas syringae* pv. *tomato* interaction. *The Plant Journal*, 36(3), 342-352.

16. „16/ A GSH katabolizmussal kapcsolatban, a változások nyomonkövetésére az *SIOXP* és *SIGGT* gének expresszióját, míg a GR enzimet kódoló gének közül a *SGR1*-et és *GR2*-t vizsgálták. Hány az adott folyamatban, vagy adott enzimet kódoló gén van a paradicsomban, és miért ezekre esett a választás?”

Köszönöm a kérdést! Kiindulásként a Gallé és mtsai. (2021) által publikált cikket vettük alapul, ahol kollegáim bizonyos stresszorok (pl. NaCl, mannitol) mellett különböző SA koncentrációk hatását is összehasonlítva vizsgálták két paradicsomfajtában. E munka biztosította számunkra, hogy például az 59 *GST* közül azokat válaszuk ki, melyekre az SA hat. Ez alapján választottuk a *GRI* és *GR2* géneket is, míg az *SIOXP* és *SIGGT* géneket Uzilday és mtsai (2017) munkája figyelembevételével választottuk. Az *SIOXP* esetében egy gént ad meg az NCBI (Gene ID: 101246654), továbbá az *SIGGT* esetében is egyet találtunk (Solyc05g051780).

Gallé, Á., Bela, K., Hajnal, Á., Faragó, N., Horváth, E., Horváth, M., ... Csiszár, J. (2021). Crosstalk between the redox signalling and the detoxification: GSTs under redox control?. *Plant Physiology and Biochemistry*, 169, 149-159.

Uzilday, B., Ozgur, R., Sekmen, A. H., Turkan, I. (2017). Endoplasmic reticulum stress regulates glutathione metabolism and activities of glutathione related enzymes in *Arabidopsis*. *Functional Plant Biology*, 45(2), 284-296.

17. „17/ A ROS-ok Tm-mel indukált ER-stressz során betöltött szerepének vizsgálatakor a növényeket „normál fotoperiódus mellett sötétben is kezelték”. Mit jelent itt a sötét? A fotoperiódus kezdetéhez viszonyítva mikor történt a kezelés?”

Köszönöm, sajnos hiányos maradt az ábraleírás. Az SA kezeléshez hasonlóan, a reggel 9:00 órakor Tm-kezelt növények egy csoportját sötétbe helyeztük 24 órára, és másnap reggel 9:00 órakor a normál fotoperióduson Tm-kezelt növényekkel vetettük össze őket.

18. „18/ A kapott válaszok rendszerszintű értelmezésére érdemes lett volna összegző ábrát készíteni, amin a vizsgált enzimek és az őket kódoló gének anyagcsere-kapcsolatai láthatóak – ez a kapott eredmények értelmezését nagyban segítette volna.”

Köszönöm szépen, egyetértek, de sajnos a különböző alkalmazott SA koncentrációk és az időfüggvények miatt nagyon nehéz összegző ábrát készíteni. Eredményeink is rávilágítanak,

hogy nagyon sokrétű a hatása a hormonnak, mely többek között erősen koncentráció és más hormonokkal történő interakció függvénye, akár a ROS metabolizmus változásán keresztül (is). Másrészt sokszor a gén szintű szabályozás az adott mért időpontban ellentétes lehet az enzimaktivitással, míg egy következő időpontban már nem. Sajnos emiatt elvesznének az idő- és koncentráció-függő, rendkívül érdekes változások és hatások.

Köszönöm szépen még egyszer izgalmas kérdéseit, javaslatait és segítségét! Éppen az utolsó kérdésre adott válasz volt a több tézispont megfogalmazásának háttérében. A túl összetett folyamatok, a koncentráció- és időfüggő változások miatt próbáltam a lehető legpontosabb állításokat megfogalmazni, a túlzott általánosítások helyett. Belátom azonban, hogy ez nehezebb az értelmezést és hátrányává válhat a dolgozatnak. Köszönöm javaslatait, amiket felhasználva az alábbi általánosabb és szintetizáló megfogalmazásokat adnám meg a tézispontoknak:

1. A CHT-kezelés által kiváltott SA-függő védekezési válaszok (*SIPRI* expresszió, sztómazáródás és szuperoxid-gyökönion produkció) napszak- és fényfüggést mutattak paradicsomban, míg az UPR-válaszhoz kapcsolódó *SIBiP* expresszió fénytől függetlenül fokozódott.
2. Az exogén SA kezelések koncentrációfüggően növelték a paradicsomlevelek szabad és teljes SA-tartalmát, valamint fokozták az oxidatív stresszhez kapcsolódó folyamatokat (pl. lipidperoxidáció, ionkieresztés, ROS produkció) normál fotoperióduson, fényben, melyek a sötétben jelentősen kisebb mértékűek vagy változatlanok maradtak, ami az SA-indukált oxidatív stresszfolyamatok fényfüggését igazolja.
3. A letális koncentrációjú SA kezelés fényben fokozta a ROS-metabolizmusban szereplő enzimek aktivitását és több antioxidáns enzim génjének expresszióját (*SIRBOH1*, *SIMnSOD*, *SICu/ZnSOD*, *SIKAT1*, *SIAPX1* és *SIAPX2*), míg sötétben ezek a hatások csökkentek vagy elmaradtak. Ezzel szemben a KAT enzim aktivitását mindkét SA koncentráció fénytől függetlenül gátolta.
4. Az SA kezelések koncentráció- és fényfüggő módon befolyásolták a fotoszintetikus apparátus működését: letális koncentrációban csökkentették a fotoszintetikus hatékonyságot jelző paramétereket (pl. Y(II) és Y(I)), miközben növelték az energiavesztéssel kapcsolatos értékeket. Az alacsonyabb koncentrációjú SA hatásai főként sötétben voltak kimutathatók, ami az SA fotoszintézisre gyakorolt hatásának fényérzékenységét igazolja.
5. A letális koncentrációjú SA kezelés fényben jelentős ultrastrukturális változásokat idézett elő a kloroplasztiszokban, valamint csökkentette a keményítőtartalmat és növelte az oldható cukrok mennyiségét. Ezek a változások sötétben kisebb mértékben vagy egyáltalán nem jelentkeztek, ami arra utal, hogy az SA által kiváltott kloroplasztisz-károsodás és szénhidrát-anyagcsere változások nagymértékben fényfüggők.
6. A paradicsom HXK aktivitása és a *SIHXX* gének expressziója levélemelet-, napszak- és fényfüggő változást mutatott, melyben normál fotoperióduson az *SIHXX1* és *SIHXX4*, míg sötétben elsősorban az *SIHXX3* játszott meghatározó szerepet. Az SA kezelések ezzel párhuzamosan csökkentették a HXK aktivitást és az *SIHXX* gének transzkript szintjét, miközben jelentős glükózfelhalmozódást idéztek elő a levelekben.
7. A letális koncentrációjú SA kezelés ultrastrukturális károsodásokat okozott a mitokondriumokban, csökkentette a cyt *c* szintet, valamint mérsékelte a HXK és COX aktivitást, ami fokozott mtROS- és mtNO-produkcióval társult. A HXK aktivitás gátlása tovább növelte az mtROS képződését, igazolva, hogy a csökkent mtHXK aktivitás hozzájárulhat az SA-indukált PCD kialakulásához.
8. Az ER stressz és az UPR szabályozásában az SA mellett a JA és az ET is részt vesz, mivel ezek a hormonok fokozzák az *SIBiP* expresszióját, míg e hormonok érzékelésének

hiányában az ER stresszválasz gyengébb maradt. Az SA hiánya a ROS-homeosztázis és a glutation-anyagcsere megváltozásával járt együtt, amit a *NahG* növények eltérő H₂O₂-, szuperoxid-, GSH- és GSSG-szintjei igazoltak.

9. A Tm-indukált ER stressz fokozta több glutation-metabolizmusban részt vevő enzim aktivitását és génexpresszióját, melyek közül több SA-függő szabályozást mutatott (*SIGR2*, *SIGGT*, *SIGST2*). Emellett a PBA kezelés több antioxidáns gén transzkripcióját növelte, ami hozzájárulhat az ER stressz káros hatásainak mérsékléséhez.

10. Izolált kloroplasztiszok felhasználásával igazoltuk, hogy a Tm kezelés csak közvetetten hathat a kloroplasztiszok ROS produkciójára. A Tm kezelés kedvezőtlenül befolyásolta a fotoszintetikus apparátus működését, csökkentve a fotoszintetikus hatékonyságot és növelve a védelmi mechanizmusokhoz kapcsolódó paramétereket. Ezek a változások a *NahG* növényekben erőteljesebben jelentkeztek, ami alátámasztja az SA védő szerepét az UPR során.

A nagyon érdekes feltett általános kérdésekre az alábbiakban szeretnék válaszolni:

1. *„A kitozán megvásárolható és akár hobbikertben is használható biostimuláns. eredményei alapján mit javasol, mikor érdemes a kitozánnal permetezni annak érdekében, hogy a növényben a legerősebb védekezési választ érzjük el?”*

Köszönöm kérdését! Az eredmények alapján a fényszakasz első felében (az első negyedében) javasolnám a CHT-kezelés alkalmazását. A kezelni kívánt terület nagyságától függően érdemes ezeket a biostimulánsokat úgy kijuttatni, hogy az a fényszakasz első felében történjen meg. Ekkor a sztómák már nyitva vannak, a fotoszintézis aktív, de még nem akkumulálódott jelentős mennyiségű keményítő. Emellett fontos azt is tudatosítani, hogy ezek a szerek (felszívódástól függően) már akár egy órán belül aktiválhatják az SA-jelátvitelt és a bioszintézist. Éppen ezért a fény elérhetőségével és mennyiségével (időjárás) is számolni kell. Egy egyszerű permetezésnek tűnő beavatkozást követően ugyanis néhány órán belül olyan átprogramozódás történhet, amely hatással van a hetek múlva zajló folyamatokra, a védekezésre, valamint a termés minőségére és mennyiségére is. Ezt egy másik kísérletünkben is megfigyeltük, ahol egy hasonló, SA-jelátvitellel ható biostimulánst vizsgáltunk egy K+F pályázat keretében.

2. *„A hormonkezelések során a kezelőszert folyadékultrában adták a növényhez. Vajon a gyökéren keresztül felszívott hormonok milyen arányban, mennyiségben jutnak el a levelekbe? Van-e, lehet-e jelentősége annak, hogy az adott hormon szintje a gyökéren és a szállítószöveteken keresztül, vagy egy biostresszor patogén támadása miatt közvetlenül a levélben indukálódik?”*

Köszönöm kérdését! A hormonok vizsgálata többféle módon történhet, amelyek közül az egyik legegyszerűbb az exogén hormonkezelés. Ennek két leggyakrabban alkalmazott formája a gyökéren keresztüli felvétel, illetve a hajtás (pl. levél) felületére történő permetezés. Ez utóbbi esetében azonban számolni kell a viaszos kutikulával, valamint – amennyiben az adott hormon a sztómák működésére hat (ami több hormon esetében is előfordul) – a sztómazáródással és a szuboptimális felvétellel is. További nehézséget jelenthet, hogy egyes hormonok fényérzékenyek, mint például az SA (Thermo Fisher adatlap).

A gyökéren keresztüli SA-alkalmazás széles körben elterjedt és jól dokumentált (Arfan és mtsai. 2007; Eraslan és mtsai. 2007). Ebben az esetben az SA nemcsak a transzspiráció által hajtott vízáramlással, hanem az apoplastban történő diffúzió révén is mozoghat (Lim és mtsai. 2020). Bár a méréseink alapján 24 órán belül nem volt kimutatható különbség a fényben és sötétben történő gyökéren keresztüli SA-felvétel között, és a felvett mennyiség arányos volt az

alkalmazott SA-koncentrációval, de ez a folyamat mégis lassabb, mint a biotikus stressz (pl. patogén támadás) során kialakuló SA-akkumuláció – legalábbis lokálisan (Hartmann és Zeier, 2019). Ezzel összhangban irodalmi adatok is jelentős SA-szint-emelkedést írnak le: Raskin és munkacsoportja kimutatta, hogy patogénfertőzés hatására a 10–200 ng/g friss tömegről akár 37,19 µg/g friss tömegre is emelkedhet az SA-szint rizsben (Silverman és mtsai. 1995). Hasonlóan, a dohánymozaikvírus (TMV) fertőzését követően az SA-szint több mint 40-szeresére, akár 75 µg/g friss tömegre is nőhet a fertőzés helyén (Enyedi és mtsai. 1992).

A kezelések tekintetében ma már olyan megközelítések is léteznek, ahol az SA-t egyszere gyökéren és levélen keresztül is alkalmazzák (Sultana és mtsai. 2025). Emellett természetesen a hormonhatások vizsgálhatók bioszintézis- vagy receptor-mutánsokkal (pl. *Nr*), illetve a hormonlebontó enzimeket kódoló gének túlexpressziójával transzgenikus növényekben (pl. *NahG*). Ugyanakkor az így kialakított hormonhomeosztázis a csírázástól kezdve stabilabb, mint amikor egy adott időpillanatban exogén stresszhormonnal idézünk elő választ.

Arfan, M., Athar, H. R., & Ashraf, M. (2007). Does exogenous application of salicylic acid through the rooting medium modulate growth and photosynthetic capacity in two differently adapted spring wheat cultivars under salt stress?. *Journal of Plant Physiology*, 164(6), 685-694.

Enyedi, A. J., Yalpani, N., Silverman, P., & Raskin, I. (1992). Localization, conjugation, and function of salicylic acid in tobacco during the hypersensitive reaction to tobacco mosaic virus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89(6), 2480-2484.

Eraslan, F., Inal, A., Gunes, A., & Alpaslan, M. (2007). Impact of exogenous salicylic acid on the growth, antioxidant activity and physiology of carrot plants subjected to combined salinity and boron toxicity. *Scientia Horticulturae*, 113(2), 120-128.

Hartmann, M., & Zeier, J. (2019). N-hydroxypipicolinic acid and salicylic acid: a metabolic duo for systemic acquired resistance. *Current Opinion in Plant Biology*, 50, 44-57.

Lim, G. H., Liu, H., Yu, K., Liu, R., Shine, M. B., Fernandez, J., ... & Kachroo, P. (2020). The plant cuticle regulates apoplastic transport of salicylic acid during systemic acquired resistance. *Science Advances*, 6(19), eaaz0478.

Silverman, P., Seskar, M., Kanter, D., Schweizer, P., Metraux, J. P., & Raskin, I. (1995). Salicylic acid in rice (biosynthesis, conjugation, and possible role). *Plant Physiology*, 108(2), 633-639.

Sultana, S., Altaf-Un-Nahar, M., Islam, M. R., Roy, M., Rahman, F., Azam, M. G., ... & Karim, M. R. (2025). Foliar and root applications of salicylic acid alleviate salinity stress by modulating morpho-physiological and biochemical aspects in tomato (*Solanum lycopersicum*). *Discover Plants*, 2(1), 36.

Thermo Fischer adatlap:

<https://www.fishersci.com/store/msds?partNumber=AAA122530E&productDescription=SALICYLIC+ACID+2.5KG&vendorId=VN00024248&countryCode=US&language=en>

3. „A dolgozatban összefoglalt kísérletek során csupán közvetetten vizsgálta a növény védekezési folyamatait. Hogyan lehetne vizsgálni azt, hogy az adott kezelések valóban befolyásolják-e a növények biotikus, vagy abiotikus stresszekkel szembeni védekezését, és erre vajon van-e hatása annak, hogy a kezelés a fotoperiódus mely szakaszán történik?”

Köszönöm a kérdését, amely fontos módszertani lehetőségekre mutat rá! Egyrészt érdemes lenne a vizsgálatokat különböző növénypatogénnel is elvégezni, amire korábban még nem volt lehetőségünk. Emellett fontos lenne az SA-bioszintézis és -jelátvitel vizsgálatát elvégezni mind lokális, mind szisztemikus szinten, különböző napszakokban. Ilyen irányú kísérleteink már jelenleg is folyamatban vannak, többek között *Pseudomonas syringae* fertőzés alkalmazásával.

További lehetőséget jelentene cirkadián óra-, illetve fitokróm-mutánsok alkalmazása az SA szerepének pontosabb feltárására. Fitokróm-mutánsokkal kapcsolatos vizsgálataink már jelenleg is zajlanak. Emellett az RNS-interferencia-alapú géncsendesítés alkalmas lehetne arra, hogy validáljuk a leíró jellegű eredményeink alapján azonosított gének funkcionális szerepét.

Ugyanakkor paradicsomban a megfelelő mutánsok előállítása vagy beszerzése, illetve a géncsendesítési rendszerek alkalmazása a gyakorlatban nem egyszerű feladat; az anyagi vonzatokon túl jelentős időigénnyel is jár. Ennek ellenére ezen technikák laboratóriumunkban történő bevezetése, valamint az optimális növényi modellrendszer kiválasztása érdekében már megtettük az első lépéseket.

4. „A kezelések hatására történő változások nyomon követérére enzimaktivitás-méréseket és kiválasztott gének expresszióját vizsgálták. Tervezik-e nagyobb áteresztőképességű genomikai (nagy-áteresztőképességű szekvenálás) és metabolomikai mérésekkel tovább vizsgálni ezeket a kérdéseket? Mit gondol, érdemes lenne-e az RNS-interferencia folyamatok (miRNS-reguláció) változását is vizsgálni?”

Köszönöm szépen ezt a kérdését is! Röviden válaszolva mindkét felvetésre: igen, mindkettő releváns és izgalmas kutatási irány lehet, ugyanakkor újabb kísérleti megközelítéseket igényelne. Ilyen jellegű vizsgálatokat – például RNA-seq és metabolomikai elemzések – már végeztünk egy folyamatban lévő pályázat keretében is (Koprivanacz és mtsai. 2025; Kukri és mtsai. 2025). Az éjszaka lezajló folyamatok jelentős része ma még valóban a „sötét homályába” vész. A kutatások döntő többsége nappali körülmények között történik, így az éjszakai folyamatokról – annak ellenére, hogy azok szorosan összekapcsolódnak a nappali anyagcsere- és stresszválaszokkal – még viszonylag kevés részletes információval rendelkezünk (Graf és Smith, 2011). Különösen fontos ez azért, mert számos stressztényező kifejezetten az éjszakai periódusban fejti ki hatását vagy válik meghatározóvá (Gallé és mtsai. 2019).

A miRNS-szintű szabályozás vizsgálata különösen érdekes lenne a fertőzést követő első órákban, illetve a fertőzéstől távolabbi, szisztémikus levelekben, fény- és sötétkörülmények között egyaránt. Bár már rendelkezésre állnak eredmények (kevés) az SA különböző miRNS-ekre gyakorolt hatásáról, ezen vizsgálatok jelentősen új információval szolgálhatnának. Ez különösen igaz paradicsom esetében, ahol az elmúlt két évben mindössze két tanulmány jelent meg az SA és a miRNS-ek kapcsolatáról (Hussein és mtsai. 2024; Zhou és mtsai. 2024), illetve egy a fényspektrum szerepéről (Székely és mtsai. 2023). Hálásan köszönöm még egyszer az előremutató és gondolatébresztő kérdéseit!

- 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, 1944.
- Hussein, A., Abdelsattar, M., Radwan, K. H., Osman, E., Abdeldaym, E. A., Abdelhadi, A. A., & Abdallah, N. A. (2024). Streamlining the defense mechanism involving miRNA/mRNA and phytohormones during mycorrhiza-fusarium infecting tomato roots. *Brazilian Journal of Biology*, 84, e280450.
- Koprivanacz, P., Kukri, A., Milodanovic, D., Martics, A., Czékus, Z., Gallé, Á., ... & Poór, P. (2025). Red light improved photosynthesis and defence-related metabolism in tomato in a leaf level-dependent manner. *Plant Stress*, 18, No-101104.
- Kukri, A., Czékus, Z., Gallé, Á., Szöllősi, R., Nagy, G., Zsindely, N., ... & Poór, P. (2025). Nocturnal red light modulates the ethylene production and the downstream transcriptional networks that control plant defence responses at dawn. *Plant Stress*, 101145.
- Graf, A., & Smith, A. M. (2011). Starch and the clock: the dark side of plant productivity. *Trends in Plant Science*, 16(3), 169-175.
- Székely, A., Gulyás, Z., Balogh, E., Payet, R., Dalmay, T., Kocsy, G., & Kalapos, B. (2023). Identification of ascorbate-and salicylate-responsive miRNAs and verification of the spectral control of miR395 in Arabidopsis. *Physiologia Plantarum*, 175(6), e14070.
- Zhou, X., Wang, Z., Su, C., Cui, J., Meng, J., & Luan, Y. (2024). Genome-wide analyses of miRNAs in mycorrhizal plants in response to late blight and elucidation of the role of miR319c in tomato resistance. *Horticultural Plant Journal*, 10(6), 1371-1382.

Poór Péter: A szalicilsav által szabályozott növényi védekezési válaszok és az intracelluláris oxidatív stressz vizsgálata

Végezetül szeretném még egyszer megköszönni Dr. Várallyay Éva alapos bírálatát, valamennyi észrevételét, javaslatát, valamint izgalmas és előremutató szakmai kérdéseit!

Bízom benne, hogy válaszaim elfogadhatónak bizonyulnak, és továbbra is támogatja doktori eljárásomat!

Köszönettel:

Szeged, 2026. május 8.



Dr. Poór Péter