

# AZ ETILÉN SZEREPE A PARADICSOM SÓSTRESSZ HATÁSÁRA KIALAKULÓ OXIDATÍV STRESSZVÁLASZÁBAN

Tari Irma<sup>1</sup>, Poór Péter<sup>1</sup>, Borbély Péter<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>SZTE TTIK Növénybiológiai Tanszék

<sup>2</sup>SZTE TTIK Biológia Doktori Iskola

<sup>3</sup>SZBK Növénybiológiai Intézet

*A növényi hormon etilén (ET) fontos szerepet játszik a növények sóstressz akklimatizációjában. Az ET hatására akkumulálódó reaktív oxigén- (ROS) és nitrogénformák (RNS) az abiotikus stresszre adott növényi válaszok kialakításának fontos tényezői. Bár a ROS és RNS keletkezésének stressz ET-nel való kapcsolatát több rendszerben vizsgálták, kevésbé ismert a szövetekben ET-né alakuló ET prekursor, az exogén 1-aminociklopropán-1-karbonsav (ACC) hatása az említett reaktív molekulák keletkezésére. A szövetek ET koncentrációjának alakulása mellett aktuális ET-érzékenyséjük (összefoglalva ET státuszuk) is fontos az abiotikus stressz akklimatizáció sikeressége szempontjából. A talaj és az öntözővíz magas sótartalma által kiváltott sóstressz a klímaváltozás miatt egyre nagyobb mértékű, ezért fontossá vált gazdasági növényeink sóstresszre adott válaszreakcióinak fiziológiai és molekuláris szintű felderítése. A ROS és RNS keletkezésének kapcsolata a növény ET státuszával a sóstressz korai szakaszában alig ismert. Erre választ ad a megemelt ET-szinttel rendelkező, exogén ACC előkezelést kapott és az ET érzékelésére képtelen, ET receptor mutáns Never ripe (Nr) paradicsomnövények (Solanum lycopersicum L. cv. Ailsa Craig) összehasonlítása. Annak eldöntése, hogy a stressz ET a növények túlélését segíti vagy gyorsítja azok elpusztulását, a különböző ET státuszú növények vizsgálatával történhet tolerálható, 100 mM-os és letális, 250 mM-os NaCl-kezelések után.*

## **Az etilén jelentősége a növényekben**

A gáz halmazállapotú növényi hormon, az etilén (ET) a növényi életfolyamatok alapvető szabályozó molekulája. Az ET növényekre gyakorolt hatásának felfedezésekor figyelték meg az ún. hármás-választ etiolált borsó csíranövényekben, melynek jegyei a hosszirányú szármegnyúlás gátlása, az epikotil oldalirányú kiterjedése és a normális geotropikus válasz hiánya [1]. Az ET a növényi növekedést és fejlődést koncentrációtól függően gátolja vagy serkenti. Szabályozza a gyümölcsérést, a növényi szövetek öregedési folyamatát, a szenescenciát, a programozott sejthalált (PCD-t) és kiemelt szereplője a biotikus, illetve az abiotikus növényi stresszválaszoknak is. Számos abiotikus környezeti stresszor, például a szárazság és a magas sókoncentráció indukálhatja a szövetek ET termelését. Az egyes növényfajok, illetve a termesztett növényfajták különbözhetnek ET-érzékenységükben, így a hormonra adott válaszreakcióikban is. Az ET növényekre gyakorolt hatása azonban nagyban függ azok korától és állapotától, az esetleges stresszhatások típusától, intenzitásától és időtartalmától is [1].

## **Az etilén bioszintézise és az ET által indukált jelátvitel**

Az ET bioszintézisére az összes növényi szerv képes, a résztvevő kulcsenzimek szöveti megoszlása azonban eltérő lehet [2]. Az ET növényekben metioninból keletkezik, amelyet először S-adenozilmetioninná (SAM-má) alakul. A SAM-ból az ACC-szintáz (ACS) által katalizált reakcióban képződik az ET közvetlen prekursora, az 1-aminociklopropán-1-karbonsav (ACC), amit az ACC oxidáz (ACO) alakít ET-né. Paradicsomban legalább nyolc ACS gén található, az általuk katalizált ACC képződés az ET bioszintézis fő sebesség-limitáló lépése. Szabályozásuk egyrészt történhet a transzkripció szintjén. Az egyes izoenzimeket

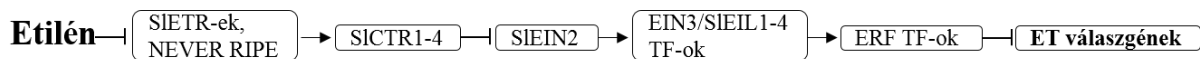
kódoló gének különböző indukáló faktorok (pl. hormonok, ontogenetikus szignálok, mechanikai, kémiai és fizikai stimulusok, valamint növényi patogének) jelenlétében expresszálódnak, másrészt fontos az enzimek stabilitásának poszttranszlációs kontrollja is, amit az enzimfehérje fél-életidejét megnövelő foszforiláció is szabályoz. Alacsony ET-szint mellett az ACS ubiquitin-függő lebomlása is fontos poszttranszlációs regulátor szereppel bír.

A közvetlen ET felszabadulás az ACC oxidációjának az eredménye, melyet az ACO izoenzimek végeznek. Paradicsomban eddig hat ACO izoenzimet írtak le (SIACO1-6), mindegyikük transzkripcionálisan aktív. Az ACO izoenzimeket kódoló multigén család expresszióját maga az ET szabályozza transzkripcionális szinten, illetve poszttranszlációs kontroll is feltételezett *in silico* analízis alapján [3].

A vegetatív növekedés során, az ET saját bioszintézisét autoinhibitor módon szabályozza (I-es állapot), azonban olyan ET indukcióval járó folyamatok során, mint a szenescencia vagy a gyümölcserés, az ET-termelést az ET egy pozitív visszacsatolási körben serkenti (II-es állapot) [2]. Más abiotikus stresszorokhoz hasonlóan a sóstressz is indukálja az ET termelést a bioszintézisben szereplő enzimek (pl. ACS2, ACS7) expressziójának szabályozásával [4].

Az ET diffúzióval távozik a szövetekből a külső környezetbe, azonban távolabbi ET válaszok kialakításában az ACC gyökér-hajtás közötti transzportja is szerepet játszik.

Az ET lineáris jelátviteli folyamata a hormonpercepciót szabályozó receptorokkal kezdődik, amelyek ET hiányában a jelátvitel negatív regulátorai (1. ábra).



**1. ábra:** Az etilén egyszerűsített, lineáris jelátviteli folyamata a paradicsomban ismert elemekkel. Részletek a szövegben.

A növényi ET receptorok, melyek homodimert formáló membránfehérjék és az endoplazmatikus retikulumban (ER), ill. a Golgi-apparátusban lokalizáltak, nagy hasonlóságot mutatnak a bakteriális két-komponensű rendszerekkel [1]. Preferenciális vagy véletlen módon kialakuló klaszterben funkcionálnak, melyek együttműködve kontrollálják a szignalizációt. Három fő doménjük a három transzmembrán domént tartalmazó szenzor, a hisztidin-kináz és a válasz regulátor (receiver) domén. Az ER-hez kapcsolódó, hidROSób N terminálison elhelyezkedő szenzor domén a felelős az ET-érzékelésért és a dimerizációért. Az itt történő mutációk képtelenné teszik a receptort az ET kötésre, mely ET-inszenzitív, a hármast választ ET jelenlétében sem mutató fenotípust eredményez [1]. Paradicsomban jelenleg hét ET receptort írtak le, ezek az SIETR1, -2, -4, -5, -6, -7 és a NEVER RIPE (NR) [5]. Az SIETR3-ra történeti okokból NEVER RIPE-ként (NR) hivatkoznak a szakirodalomban. A paradicsom ET receptorok a legtöbb szövetben expresszálódnak, azonban kifejeződési mintázatuk a fejlődési állapot, illetve különféle környezeti stimulusok függvénye [6]. Közülük kettő, az *SIETR1* és az *SIETR2* konstans módon expresszálódik a növényi szövetekben az egyedfejlődés során. Az *SLETR3* (NR) és az *SIETR4* gén kifejeződése felülszabályozódik a gyümölcseréskor, míg az *SIETR5* a gyümölcsben és a virágban expresszálódik, illetve patogén fertőzés során is aktiválódik [7].

Az ET a receptorok három transzmembrán doménjéhez kötődik réz kofaktor jelenlétében. A réz(I) ion a Golgiba a RAN1 réz-transzporter közreműködésével jut be, majd az ET receptorfehérje érése során kötődik az apoproteinhez [6]. Az RTE1 (REVERSION TO ETHYLENE SENSITIVITY1) membránfehérje túlermelletése stabilizálja az ETR1 receptort lúdfűben és az egész növényre kiterjedő ET inszenzivitást vált ki, akár magas ET koncentráció jelenlétében is.

A soron következő szignalizációs komponens, az ugyancsak negatív szabályozó, Raf-szerű szerin/treonin kináz, a CTR (CONSTITUTIVE TRIPLE RESPONSE), melyből paradicsomban több homológ is részt vesz az ET jelátvitelben. Ezek közül az NR receptor közvetlen protein-protein kapcsolatba lép a CTR1, -3 és -4-es kinázzal [6]. ET hiányában a CTR foszforilálja az EIN2 (ETHYLENE INSENSITIVE2) pozitív szabályozó, a Golgi membránhoz kötött fehérjét. A paradicsomban leírt *EIN2* homológ, az *SIEIN2* expressziója különböző mértékű az eltérő fejlődési stádiumokban, a paradicsomlevelekben és a gyümölcsben. A hormon receptorhoz kötődése gátolja a CTR1-t, ezért az EIN2 foszforilálatlan marad, C-terminális doménje lehasad, majd a sejtmagba transzlokálódik. Itt aktiválja az EIN3/EIL (ETHYLENE INSENSITIVE3/EIN3 LIKE) transzkripciós faktorokat (TF), mely TF-ok indukálják a másodlagos ET célgéneket aktiváló TF-okat, az ERF-eket (ETHYLENE RESPONSE FACTOR). Az MPK3 és az MPK6 proteinkinázok foszforiláció útján hatnak az EIN3 stabilitására, míg az EIN2 és EIN3/EIL fehérjék mennyisége ubiquitináció és proteasomális lebomlás útján is szabályozott. A CTR-ek negatív regulátor jellegéből adódóan funkcióvesztéses *ctr1* mutánsok konstitutív ET választ mutatnak.

Az ERF-ek rendelkeznek egy konzervált AP2 (APETALA2) doménnel, melynek segítségével számos *cis*-ható elemhez kötődnek az ET-indukálta gének promótereiben. Az ERF transzkripciós faktorok rendszerezhetők a célgénekre kifejtett gátló, vagy indukáló hatásuk alapján is. Zhang és mtsai. [8] korábban kimutatták, hogy az SIERF2 és a SIERF.B3 részt vesz a paradicsom ACS és ACO gének expressziójának kontrolljában. A SIERF.B3 képes szabályozni a *SIETR6* receptor és az elsődleges ET transzkripciós faktorok (*SIEIL*) és számos más *ERF* expresszióját, ami jó példája az ET saját bioszintézisének visszacsatolós szabályozására.

Az ET közvetítette szabályozás különbözhet az eltérő típusú abiotikus stresszfaktorok esetén, melyek közül összefoglalónk tárgyát a sóstressz folyamatai képezik.

### **ET receptor és jelátviteli mutánsok a paradicsomban**

A paradicsom az ún. klimakterikus gyümölcsök közé tartozik, amelynek érését az ET szabályozza és hiányában a termés nem megy át az éretlen, érett zöld, az érés kezdetét jelző ún. „breaker”, valamint a narancssárga és piros színnel jellemzett érési állapotokon.

Az *Nr* egy domináns mutáció a gén N-terminális régióján, ami befejezetlen és késleltetett érési fenotípust és narancssárga színű, csekély mértékben puhult paradicsom gyümölcsöket eredményez a receptor ET kötésének gátlódása miatt [9]. Az *Nr* expressziója megfigyelhető a gyümölcs perikarpiumában [10] és a paradicsomrügy és -levél szöveteiben is [11]. Ezáltal a vegetatív szövetekben is aktív *Nr* mutáció ET inszenzivitást vált ki az összes vizsgált szövetben. Míg a termésben a mutáció domináns jellegű, vagyis a termésérés az *Nr/nr* heterozigótáknál is elmarad, a vegetatív szövetekben a gén szemidomináns jellemzőkkel rendelkezik. A homozigóta domináns *Nr/Nr* mutánsok csaknem teljesen érzéketlenek az ET-re a hármás-válasz próba során, a virágok szenescenciájában és lehullásában. Ezzel szemben az *Nr* mutációra heterozigóta növények (*Nr/nr*) csökkent intenzitású hármás-választ mutatnak exogén ACC jelenlétében.

A *Solanum lycopersicum* cv. Ailsa Craig háttérű *Nr/Nr* mutáció nagymértékű csökkenést okoz az ET-érzékelésben és a fennmaradó reziduális szenzitivitás a fiziológiailag releváns ET koncentrációk esetében marginálisnak tekinthető, ezért a továbbiakban ismertetendő eredmények ezzel a genotípussal születtek.

A paradicsom érésének gátlása több szinten történhet, amely a rendelkezésre álló egygén mutánsok vizsgálatával ismerhető meg. Az RTE1 (REVERSION TO ETHYLENE SENSITIVITY1)-vel homológiát mutató *GR* (*GREEN RIPE*) gén mutációja azonban a paradicsomban a gyümölcsérést késlelteti [20]. A spontán érési mutánsok között izolált *Never*

*ripe-2* hasonló fenotípust mutat, mint a *Gr*. Az *Nr-2*, az *Nr*-rel ellentétben azonban nem okoz ET inszenzitivitást a vegetatív szövetekben [12].

A gyümölcsérés master regulátora a MADS-box típusú RIN (RIPENING INHIBITOR) TF, ami közvetlenül a promóterekhez kötődve regulálja az *ACS2-4* és *ACO1* géneket, valamint az *NR* és *ETR4* receptor géneket. A *CNR* (*COLORLESS NON-RIPENING*) gén epigenetikus hatást vált ki, a *Cnr* mutánsban megváltozik egy, az érési gének promótereire kötődő TF-et kódoló *SBP* gén metilációja. Az *SBP* promóter hipermetilációja, majd ezt követően az általa kódolt *SQAMOSA TF* hiánya pleiotróp gátlást okoz az érés-specifikus gének expressziójában, így az *NR*-ében is [5].

A TF-oknak tehát alapvető szerepük van az érési folyamat szabályozásában, ami az egyes érési fázisokra jellemző gének expresszióját kapcsolja be. Az érett zöld stádium elérése után a fotoszintetikus fényreakciók általános gátlását figyelték meg a termésérés folyamán. Ezzel társult, hogy az *Nr* mutánsban indukálódtak a szacharóz-keményítő átalakuláshoz és a keményítő szintéziséhez szükséges gének is. Gátlódik az ET inszenzitív mutánsokban (bár kissé eltérő érési időpontban) a sejtfal puhulásával kapcsolódó enzimek (pl. endo- $\beta$ -1,4-glukanázok, expanszinok, xiloglukan transzglukozilázok, pektinázok) és a karotinoidek szintézisében kulcsfontosságú enzim, a fitoén-szintáz expressziója is. Az előbbieket az oldható cukrok mennyiségének csökkenését, illetve minőségük változását eredményezik, míg az utóbbi a likopin szintézis elmaradásához vezet az ET inszenzitív mutánsokban [13].

### **A sóstressz által kialakított élettani hatások és azok függése az ET státusztól**

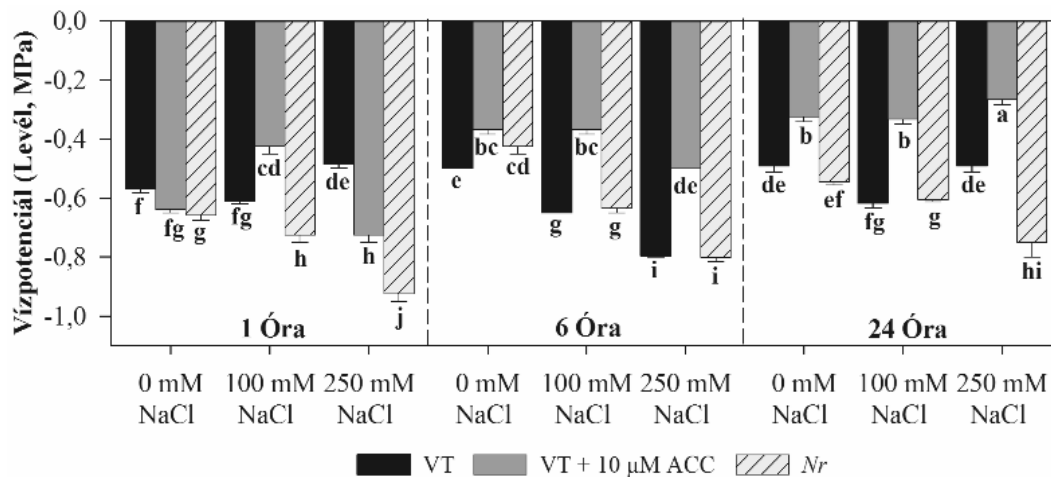
A helyhez kötött növény számára a talaj magas sótartalma az egyik fontos abiotikus stressztényező. Azokban a talajokban, amelyek a növényekben sóstresszt váltanak ki, leginkább a nátrium klorid és a nátrium szulfát többlete idéz elő ilyen stresszt.

A növények sóstresszre adott válaszreakciói nagyban függenek a stressz erősségétől. Nyolchetes paradicsomnövények 100 mM NaCl-dal történő kezelése csökkentette a hajtáshosszt, a teljes növény friss tömegét, valamint az össz-karotinoid tartalmat, a klorofill *a* és *b* össz mennyiségét [14]. Paradicsom sejtuszpenzióban a 100 mM NaCl koncentráció hatására. 20%-os életképesség csökkenést detektáltak, mely növelte a sejtek elektrolit kieresztését és ROS tartalmát. Ezek a sérülések azonban hosszabb távon regenerálódtak. Ezzel szemben a 300 mM NaCl teljesen lecsökkentette a sejtek életképességét és a  $K^+/Na^+$  arányt, mivel az elektrolit-kieresztés mértéke közel 70%-ot ért el és még magasabb ROS produkció volt detektálható [15]. A paradicsomfajták sótoleranciája azonban nagymértékben különbözhet. Ezekből az eredményekből is jól látható, hogy míg 100 mM NaCl szupraoptimális, növekedésgátló, de még tolerálható sókoncentráció a paradicsom számára, a 250-300 mM már sejthalált indukál. A sóstresszre adott válasz, a tolerancia mértéke már a stressz kezdeti fázisában eldőlt. Ugyanakkor relatíve kevés tanulmány foglalkozik a sóstressz korai eseményeivel a teljes növény szintjén, ezért jelen összefoglalónkban a sókezelés utáni első 24 óra eseményeire fókuszáltunk.

A sóstressz, továbbiakban a NaCl többlete által kiváltott hatás a növényekben ozmotikus és ionikus komponensre bontható. Az ozmotikus komponens megelőzi az ionikus hatást, és a nagy sótartalmú talajoldatok alacsony vízpotenciáljából adódik, amelyből a gyökér nehezen képes vizet felvenni. Ez megváltoztatja a gyökér hidraulikus konduktivitását és zavarokat okoz a xilémtranszportban is. Az így kialakuló vízdeficit sztómazáródást, a fotoszintézis gátlását és fotoinhibíciót eredményez, ami a biomassza-termelés csökkenéséhez vezet. Az ozmotikus hatás a sókoncentráció emelkedésével azonnal jelentkezik, a természetben ez azonban kevésbé kifejezett [16,17]. Ebben a helyzetben a sejtek ozmotikus adaptációra való képessége határozza meg a túlélésüket. Az ozmotikus adaptáció megtörténhet kompatibilis ozmolitok, például egyszerű cukrok, diszacharidok, cukoralkoholok, prolin, glicin-betain, illetve szerves ionok, főleg a  $K^+$  akkumulálásával. A kompatibilis ozmolitok helyreállíthatják a sejt ozmotikus

potenciálját a metabolikus folyamatok gátlása nélkül. Egyesek ozmoprotektánsként védik a fehérjéket és a membránokat, illetve antioxidánsokként is funkcionálnak.

A növények vízpotenciál csökkenése szorosan összefügg a sóstressz erősségével és az ozmotikus adaptáció sikeressége egyértelműen függ a szövetek ET státuszától (2. ábra).



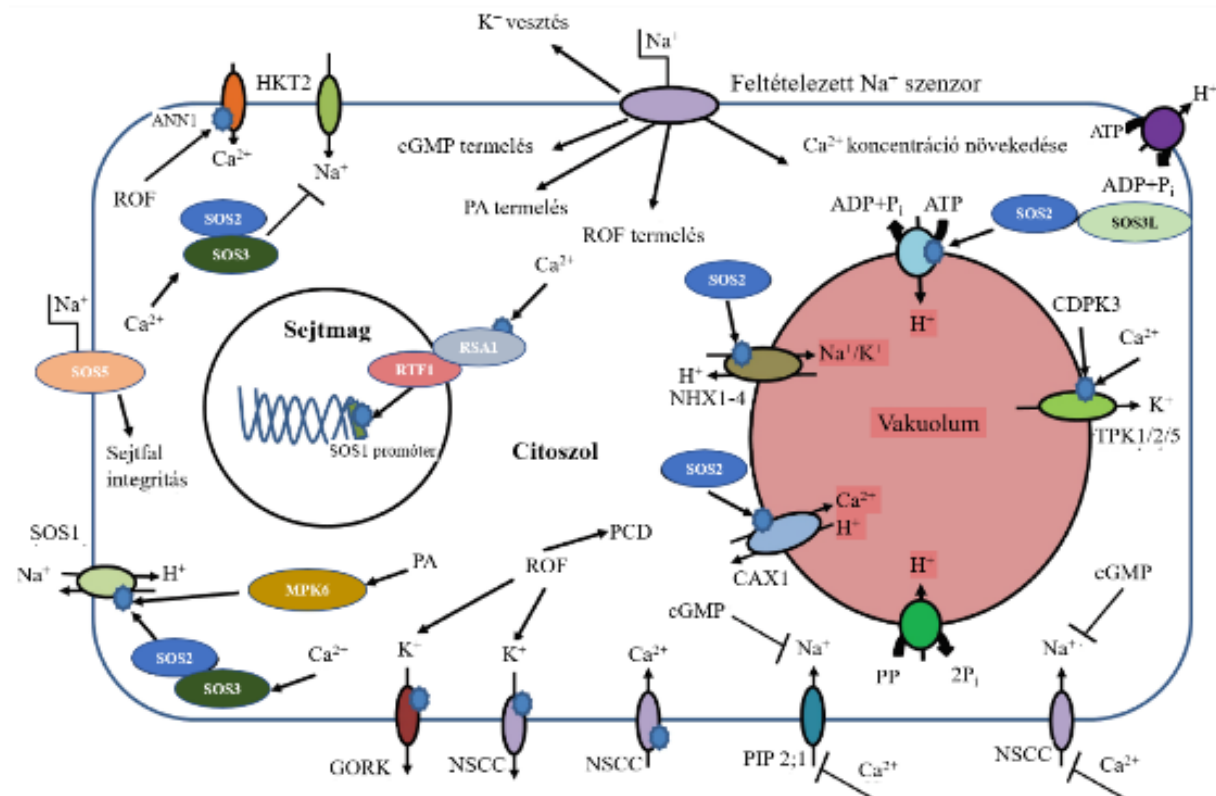
**2. ábra:** A vízpotenciál VT (fekete oszlopok) és *Nr* mutáns (ferde csíkos oszlopok), valamint 10  $\mu$ M ACC-vel előkezelte VT (narancssárga oszlopok) paradicsomnövények leveleiben 1, 6, ill. 24 órás 100 mM, ill. 250 mM NaCl expozíciót követően. A kísérlet kezdő időpontja a VT növények ACC-kezelése 1. órájától számítva. Átlag  $\pm$  SE, n = 4. A különböző betűvel jelölt értékek szignifikáns különbségeket mutatnak a kezelések és az eltérő időpontok között  $P \leq 0,05$  szinten (Duncan teszt) [34]).

Megállapítható, hogy az exogén ACC-kezelés mérsékeli, majd később megelőzi a vízpotenciál csökkenését szubletális és letális sóstressznél egyaránt, míg az ET jelátvitel blokkolása következtében az *Nr* mutánsokban a levélszövetek vízpotenciál csökkenése szignifikánsan nagyobb, mint a vad típusnál (VT), különösen letális sóstressznél.

A sóstressz ionikus komponense a  $\text{Na}^+$  és  $\text{Cl}^-$  ionok lassú felhalmozódása által az ion-homeosztázisban okozott zavart jelenti. A  $\text{Na}^+$  beáramlás a gyökérsejtekbe elsősorban a nemszelektív kationcsatornákon (NSCC) keresztül történik, részt vehetnek a folyamatban az aquaporinok (AtPIP2), a HKT1 nagy affinitású  $\text{K}^+$  transzport proteinek, illetve a shaker-típusú  $\text{K}^+$  csatornák (AKT1 és az LCT1) is. A  $\text{K}^+$  a növényekben a sejt legfontosabb esszenciális kationja, alapvető szerepe van a turgornyomás fenntartásában, a membránpotenciál, a membránintegritás és funkció megőrzésében, továbbá számos enzim működéséhez szükséges. A növényi sejtek ionfelvevő rendszereiben a  $\text{Na}^+$  a  $\text{K}^+$  direkt kompetitora, ráadásul magas sókoncentrációk esetén a  $\text{Na}^+$  felvétele sokkal hatékonyabb, mint a  $\text{K}^+$ -é [18]. A magas extracelluláris  $\text{Na}^+$  koncentráció elsősorban az alacsony szelektivitású  $\text{K}^+$  felvevő rendszereket érinti, míg a nagyaffinitású rendszerek tovább működnek sóstressz során is, és kiemelt szerepük van a sótoleranciában [17]. A citoplazmában akkumulálódott  $\text{Na}^+$  dehidratálja a fehérjéket, melyek így elveszíthetik natív konformációjukat. Amennyiben a  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  arány jelentősen lecsökken a szövetekben, az enzimatisma folyamatok, illetve a fehérjeszintézis gátlódhat [16].

A citoszol magas  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  arányának megőrzése tehát fokozza a növények sótoleranciáját. A növényi védekezés megvalósulhat a  $\text{Na}^+$  vakuólumba történő kompartmentizációjával, valamint a kevésbé fontos szövetekben történő felhalmozásával [16]. A gyökérsejtekben a NaCl-indukált  $\text{K}^+$  kieresztés a GORK csatornán (GUARD CELL OUTWARD RECTIFYING  $\text{K}^+$  CHANNEL) keresztül valósul meg, melynek aktivitás csökkenése is segíti a sótoleranciát.

A  $\text{Na}^+$  döntő mennyiségének citoplazmából történő eltávolítását a SOS1  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiporter végzi, amelyet a SOS2 Ser/Thr protein kináz és a SOS3  $\text{Ca}^{2+}$ -kötő fehérje komplexe aktivál. A SOS2 közvetlenül befolyásolhatja a vakuoláris ATP-áz (V-ATPáz) aktivitását is, illetve olyan vakuolum transzportereket, mint az NHX ( $\text{Na}^+/\text{H}^+$  ANTIPTER), ami közvetíti a vakuólumba irányuló  $\text{Na}^+$  transzportot [18].



**3. ábra:** A nátriumion felvételét, kompartmentizációját és effluxát közvetítő transzporterek növényekben. Nemszelektív kationcsatorna (NSCC), HKT1; az aquaporin AtPIP2,1; shaker típusú  $\text{K}^+$  csatorna; kis-affinitású kation transzporter (AKT1 és az LCT1); SOS1  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiporter; CAX (ARABIDOPSIS CALCIUM EXCHANGER) és NHX ( $\text{Na}^+/\text{H}^+$  ANTIPTER); GORK csatorna (GUARD CELL OUTWARD RECTIFYING  $\text{K}^+$  CHANNEL); SOS2 Ser/Thr protein kináz; SOS3  $\text{Ca}^{2+}$ -kötő fehérje [18].

A sóhatás kifejlődése során a gyors ozmotikus fázis egy általános stresszválaszt vált ki a növényekből. A korai válasz gének transzkripciós faktorok, membrántranszport-asszociált gének, a foszforegulációban és az azonnali ROS védekezésben szerepet játszó gének. A késői válasz gének  $\text{NaCl}$  specifikusak, legnagyobb részük a redox-szabályozásban vesz részt, ugyanakkor kiemelten fontosak a metabolizmust szabályozó gének, az ozmolitok szintézisében résztvevő fehérjéket, a membránokat védő fehérjéket, iontranszportereket kódoló gének is [18]. A sóstresszelt paradicsomnövényekben a  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  arány kialakulásában is fontos szerepe van az ET státusznak.

Az *Nr* mutánsokkal szemben a sókezelések egy napon belül nem voltak szignifikáns hatással a levelek  $\text{K}^+$ -tartalmára, sem a VT, sem az exogén ACC-vel kezelt VT növényekben (1. táblázat). Az ACC-kezelés és az *Nr* mutáció azonban tovább fokozta a só-indukálta  $\text{Na}^+$  akkumulációt a levelekben, különösen a letális sókoncentráció esetében. E két tényező összességében csökkent  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  arányhoz vezetett, amely szubletális sóstressz esetén szignifikánsan, letális sóstressznél jelentősen alacsonyabb érték az *Nr* mutánsokban, mint az ACC-kezelt, illetve a kezeletlen VT-ben. Mindez azt mutatja, hogy az ET jelátvitel blokkolása

szignifikánsan megemelte az ionikus stresszt a tolerálható sókoncentrációnak kitett paradicsomnövényekben.

**1. táblázat:** A  $K^+$  - és  $Na^+$  -tartalom, valamint a  $K^+/Na^+$  arány változása VT és *Nr* mutáns, valamint 10  $\mu M$  ACC-vel előkezelt VT paradicsomnövények leveleiben 24 órás 100, ill. 250 mM-os NaCl expozíciót követően.

	0 mM NaCl			100 mM NaCl			250 mM NaCl		
	VT	VT + 10 $\mu M$ ACC	<i>Nr</i>	VT	VT + 10 $\mu M$ ACC	<i>Nr</i>	VT	VT + 10 $\mu M$ ACC	<i>Nr</i>
$K^+$	21,60 $\pm 1,5^a$	21,27 $\pm 0,8^a$	21,73 $\pm 2,3^a$	19,00 $\pm 0,1^a$	19,38 $\pm 2,5^a$	13,98 $\pm 1,7^b$	20,97 $\pm 1,9^a$	24,09 $\pm 3,4^a$	21,08 $\pm 1,8^a$
$Na^+$	0,91 $\pm 0,2^d$	1,26 $\pm 0,1^d$	0,90 $\pm 0,2^d$	1,59 $\pm 0,4^d$	2,87 $\pm 0,5^c$	3,50 $\pm 0,4^c$	24,90 $\pm 0,2^b$	29,56 $\pm 5,0^a$	32,59 $\pm 0,1^a$
$K^+/Na^+$	25,39 $\pm 5,2^a$	17,40 $\pm 1,9^{ab}$	21,73 $\pm 3,4^{ab}$	13,47 $\pm 3,0^b$	7,62 $\pm 2,4^b$	4,17 $\pm 0,9^c$	0,84 $\pm 0,1^c$	0,87 $\pm 0,3^c$	0,65 $\pm 0,1^c$

A kísérlet kezdő időpontja a VT növények ACC-kezelése 1. órájától számítva.

Átlag  $\pm$  SE, n = 3. A különböző betűvel jelölt értékek szignifikáns különbségeket mutatnak a kezelések között  $P \leq 0,05$  szinten (Duncan teszt).

### A sóstressz és az ET által indukált oxidatív és nitrozatív stressz

A növényi sejtekben végbemenő aerob metabolizmus redox-kaszádjainak működése során elkerülhetetlen a folyamatos ROS képződés, mely folyamatos antioxidáns kontroll alatt áll. A ROS-k másodlagos hírvivőként funkcionálhatnak, módosítják bizonyos gének expresszióját, illetve specifikus fehérjék aktivitását a sejt redox-egyensúlyának megváltozásakor. A ROS molekulák viszonylag rövid féléletidejűek, közülük a legstabilabb a  $H_2O_2$ . A  $H_2O_2$  keletkezhet a peroxiszómában a fotorespiráció során, a glioxiszómában, a kloroplasztisz és a mitokondriális elektrontranszportlánc működésekor, a plazmamembránhoz kötött NADPH-oxidáz, és a sejtfall peroxidázok, a germin-szerű oxalát-oxidázok és aminoszav-oxidázok is lehetnek a  $H_2O_2$  forrásai. Fontos ROS források az ER-hez kötődő, citokróm P450 által katalizált detoxifikáló reakciók is [19]. A  $H_2O_2$  diffúzióval vagy az aquaporinokon juthat át a membránokon [20]. A két legreaktívabb szabadgyök, a  $O_2^{\cdot-}$  és a  $HO^{\cdot}$  képes a lipidek, fehérjék és nukleinsavak oxidálására. A különböző ROS-generáló mechanizmusok hozzájárulása a sejtek ROS termeléséhez eltérő lehet [21].

A ROS túlzott mértékű akkumulációja túlterhelheti az antioxidáns rendszereket, ami oxidatív károsodáshoz és növekedésgátláshoz vezet. A  $H_2O_2$ -kezelés képes stressztoleranciát kiváltani a növényekben, mivel aktiválhatja a védelmi folyamatokat. A túlzott  $H_2O_2$  akkumuláció azonban a PCD és a szenescencia egyik kulcsszabályozója. A ROS-on kívül, a NO és származékai, mint például a peroxinitrit ( $ONOO^{\cdot-}$ ) is kiemelt szerepűek a növényi stresszválaszokban [22]. A gáz halmazállapotú NO fél-életideje rövid, koncentrációtól függően szignálmolekulaként szerepel vagy destruktív hatással rendelkezik. A NO képes reakcióba lépni egyes makromolekulákkal. Ezek közül a fehérjeműködést módosító S-nitroziláció a legjelentősebb, ahol a NO kovalensen kötődik specifikus ciszteinek tiol-csoportjaihoz.

A NO és a  $O_2^{\cdot-}$  reakciójából létrejövő  $ONOO^{\cdot-}$  által mediált nitráció egy nitro-csoport ( $-NO_2$ ) hozzáadását jelenti a zsírsavakhoz, fehérjékhez vagy nukleinsavakhoz. A nitráció lehet hatástalan, okozhat funkcióyerést vagy leggyakrabban funkcióvesztést is. Túlzott akkumuláció esetén  $ONOO^{\cdot-}$  vezérelt tirozin nitráció nitrozatív stresszt okozhat a sejtben.

A  $O_2^{\cdot-}$ ,  $H_2O_2$ ,  $^{\cdot}OH$  és a NO szignálmolekulaként részt vesznek a sóstressz-válaszok kialakításában is, túlzott mennyiségük azonban másodlagos, nitro-oxidatív stresszt indukál a növényi sejtekben, mely a sóstressz harmadik komponensének is tekinthető [23]. Nyárfa kallusz sejtekben a só-indukált  $H_2O_2$  termelés sótoleranciát indukált, a  $Na^+$ -szintek alacsonyan és a  $K^+$ -tartalom megtartásán keresztül. A sóstressznek kitett *Arabidopsis* növények gyökereiben a

NADPH oxidáz által megnövelt vaszkuláris ROS ( $O_2^{\bullet-}$ ) produkció csökkentette a xilémnedv  $Na^+$  tartalmát, ezáltal a  $Na^+$  transzportját a gyökérből a hajtásba. Ez magasabb  $K^+/Na^+$  arányt és sótoleranciát eredményezett [24]. A ROS a  $Na^+$  és  $K^+$  homeosztázist a plazmamembrán  $Ca^{2+}$  csatornáinak aktivitásán keresztül is szabályozhatja, mely befolyásolja a downstream elhelyezkedő komponenseket, így a MAP kinázokat (MPK-k), a SOS2-t és hasonló fehérjéket [23]. A túlzott ROS produkció  $K^+$  kiáramláshoz vezethet, főleg a GORK és NSCC csatornákon keresztül, ami inicializálja a PCD-t [156].

A sóstressz szignalizációban a NO és a többi RNS is szerepet játszhat [169]. Sókezelés során megemelkedik a NO felhalmozódás számos növényi szervben. A só-indukálta NO akkumuláció függ a stressz mértékétől és a kezelés hosszától, valamint a szövetek korától [24], a magas NO koncentráció azonban önmagában nem olyan káros. Sóstressz során a NO és  $O_2^{\bullet-}$  akkumuláció peroxinitrit képződéséhez és nitrooxidatív stressz kialakulásához vezet a növényekben [25]. NaCl jelenlétében a NO fokozza az antioxidáns enzimek aktivitását [26], aktiválhatja a plazmamembrán  $Na^+/H^+$  antiportert, a plazmamembrán és vakuoláris  $H^+$  ATPázt és a  $H^+$ -pirofoszfátázt [24].

Sóstressz során a  $Na^+$  felvétel okozta membrán depolarizáció  $K^+$  kiáramlást vált ki. A DNS fragmentáció a  $Na^+$  expozíciót követő 1 óra elteltével már detektálható és az ionikus stressz eredménye. A sejtek megemelkedett elektrolit-kieresztése is tipikus PCD jellemző, gyakran használják a sótolerancia meghatározására is, mivel főleg a  $K^+$  effluxot jelzi [27].

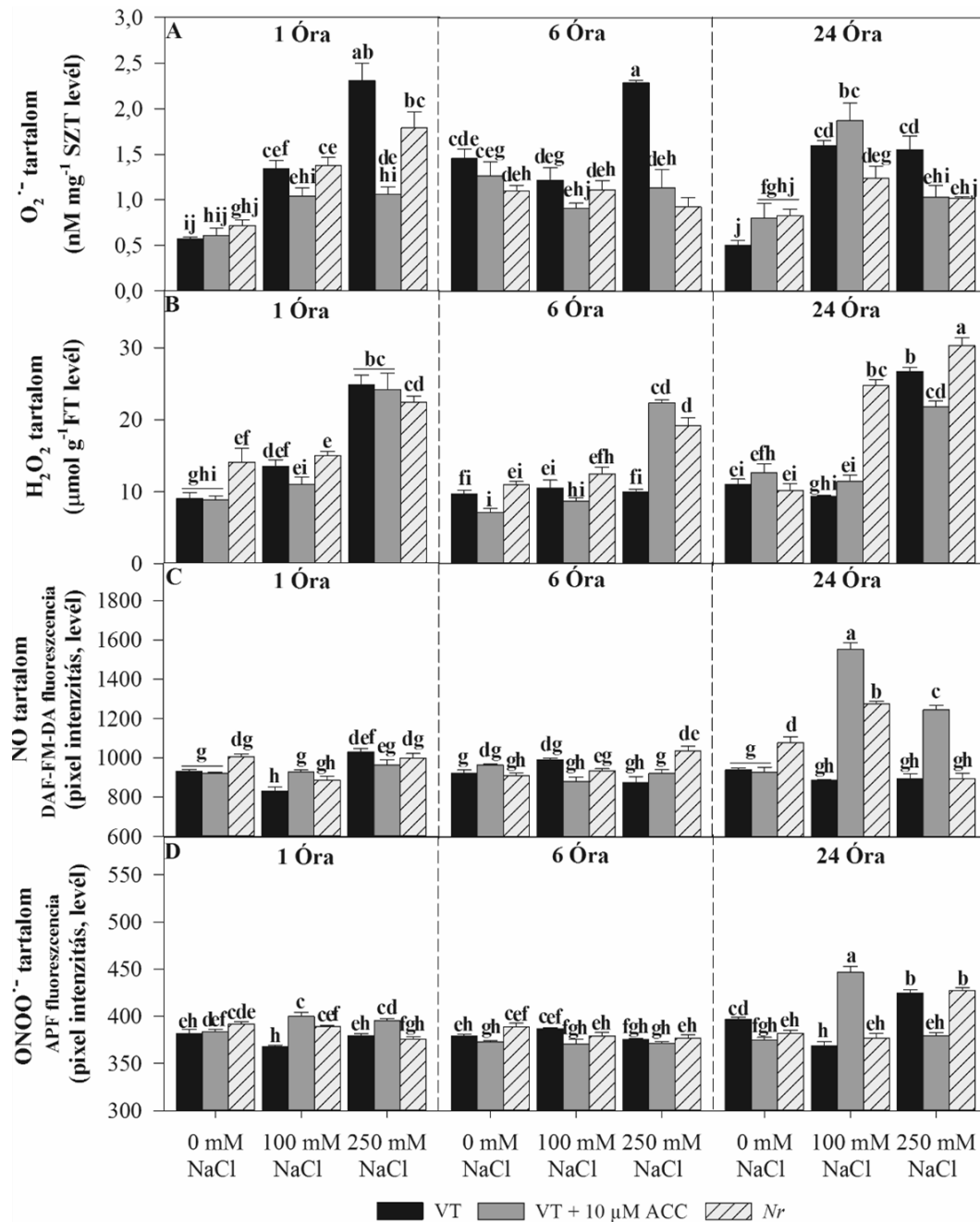
Az eltérő ET státusz jelentős különbségeket eredményezett a növények oxidatív stresszválaszában is sóstressz alatt. A megemelkedett sókoncentrációkra a VT levelek intenzív  $O_2^{\bullet-}$  akkumulációval válaszoltak, ami erősebb volt letális sóstressz esetén. Az *Nr* növényekben ez az emelkedés rövidebb időszakra korlátozódott, míg az ACC-előkezelt VT növényekben a  $O_2^{\bullet-}$  koncentráció emelkedése sóstressz alatt jelentősen elmaradt a VT-től vagy azzal azonos szinten maradt (4. ábra, A). A tolerálható sóstressz rövid és mérsékelt, míg a letális sókoncentráció erőteljes, kétfázisú emelkedést okozott a  $H_2O_2$  akkumulációjában, amit az *Nr* mutáció fokozott, míg az ACC-előkezelés hosszútávon mérsékelt. Összességében magas sókoncentrációnál a szövetek ET-szintjének megemelése csökkenti a ROS akkumulációt, míg az ET inszenzivitás inkább növeli azt (4. ábra, B).

A levelek NO-szintjében a sóstressz átmeneti és kisebb mértékű ingadozást váltott ki. Erőteljes változás a stressz 24. órájában volt tapasztalható, ahol az ACC kiemelkedően magas, míg az *Nr* mutáció jelentős emelkedést okozott a NO-szintekben 100 mM NaCl-kezelésnél. Ez arra utal, hogy a NO inkább segíti, mint gátolja a sóstressz akklimatizációt. A peroxinitrit tartalmak sem változtak drámaian a kezelése során, és az ET státusztól való függésre az az egyetlen különbség utal, hogy az exogén ACC szintén szubletális sóstressznél emelte meg a ONOO<sup>-</sup>koncentrációját (4. ábra C, D). Mivel a ONOO<sup>-</sup> a szuperoxid gyökanyon és az NO reakciójából is keletkezhet, ez felfogható egyfajta antioxidáns védőmechanizmusnak is.

A ROS túlzott akkumulációját a nem enzimatis (karotinoidok, glutation, aszkorbinsav stb.) és az enzimatis antioxidánsok tartják kordában. A szuperoxid gyökanyont redukáló szuperoxid-dizmutáz (SOD) aktivitás, a  $H_2O_2$ -t bontó kataláz (KAT) és aszkorbát-peroxidáz (APX) aktivitása növekedhet és gátolódhat is magas sókoncentrációk hatására [28].

Az antioxidáns enzimek egyes izoenzimeinek túlexpresszáltatása növelheti a toleranciát számos környezeti stresszel szemben. A SOD-nak három fő izoformája van növényekben, ezek a mitokondriális és peroxisómális elhelyezkedésű mangán SOD (MnSOD), a kloroplasztisban található vas-SOD (FeSOD), illetve a citoplazmatikus, apoplasztikus és kloroplasztisz lokalizációjú réz/cink-SOD (Cu/ZnSOD). Paradicsomban eddig négy Cu/ZnSOD, egy MnSOD és három FeSOD gént azonosítottak [29].





**4. ábra:** A  $O_2^{\cdot-}$  (A) a  $H_2O_2$  (B), a NO (C), illetve a  $ONOO^{\cdot-}$  (D) akkumulációja VT (fekete oszlopok) és *Nr* mutáns (ferdecsíkos oszlopok), valamint 10  $\mu$ M ACC-vel kezelt VT (narancssárga oszlopok) paradicsomnövények leveleiben, a 100 mM ill. 250 mM-os NaCl hozzáadását követő 1, 6, ill. 24 óra elteltével. A kísérlet kezdő időpontja a VT növények ACC kezelése 1. órájának leteltétől számítva. Átlag + SE, n = 3 (A), n = 4 (B, C, D). A különböző betűvel jelölt értékek szignifikáns különbségeket mutatnak  $P \leq 0,05$  szinten (SNK teszt) [34]).

A KAT mM-os nagyságrendű szubsztrátaffinitással rendelkezik a  $H_2O_2$ -ra nézve, ezért működése stresszfolyamatok során válik jelentőssé [30]. A növényekben legtöbbször három izoformája található meg, a KAT1, KAT2, KAT3, melyek a glioxiszómákban és a peroxiszómákban (KAT1 és -2), a sejtfalban (KAT1 és -3) és a mitokondriumban (KAT3) lokalizáltak. Az APX szintén részt vesz a  $H_2O_2$  kioltásában, azonban elektrondonorként redukált aszkorbátot használ. Affinitása a  $H_2O_2$ -hoz  $\mu$ M-os nagyságrendű. Paradicsomban három citoszolikus, két peroxiszómális és két kloroplasztikus lokalizációjú APX izoenzimet

azonosítottak [31], a citoszolikus izoenzimek általános védelmet nyújtanak stressz esetén [32]. A növényi peroxidázok (POD) megtalálhatóak a vakuólumban, citoszolban és a sejtfalban, de a sejtisztervecskékben nem [30]. A ROS és az antioxidánsok között létrejövő egyensúlyhiány oxidatív stresszt okozhat, mely kialakulhat a túlzott ROS akkumuláció, illetve az antioxidánsok kioltó képességének csökkenése következtében egyaránt.

Mivel a ROS-k kölcsönhatnak a RNS-vel, az oxidatív mellett nitrozatív stressz is kialakulhat, melyet összefoglaló néven nitro-oxidatív stressznek nevezünk, és amit számos abiotikus faktor, köztük a talaj magas sótartalma is kiválthat. A lúdfű APX1 S-nitrozilációja megnöveli az enzim  $H_2O_2$  kioltó aktivitását és így növeli az oxidatív stresszel szembeni ellenállóképességet [33]. A  $ONOO^-$  által mediált nitráció funkcióvesztést okoz néhány antioxidáns enzim, mint pl. a KAT, vagy egyes APX izoenzimek esetében. A  $ONOO^-$  csökkentheti a  $H_2O_2$  termelődését is a SOD számos izoformájának blokkolása által [22]. Ugyanakkor a szuperoxid gyökkanion és NO reakciója  $ONOO^-$ -t közvetlenül is csökkenti a sejt  $O_2^-$  tartalmát, így megakadályozhatja a további ROS termelődést, ezért a  $ONOO^-$  növényekben nem olyan toxikus, mint az állatokban.

A sókezelések hatására a SOD aktivitás eltérő kinetikával emelkedett meg, és a VT levelekben a szubletális sóstressz során egy korai, míg a letális sókoncentráció jelenlétében két maximumot mutatott. Az ACC csak a letális sókezelésnél fokozta a SOD aktivitást, ami hasonló tendenciát mutatott az *Nr* levelekben is (5. ábra, A).

Érdekes módon a levél specifikus KAT aktivitása csak a szubletális sóstressz alatt emelkedett meg, a letális sókezelés során viszont jelentősen gátlódott a kezeletlen kontrollhoz képest. A KAT specifikus aktivitását az exogén ACC átmenetileg emelte meg a VT-ben (5. ábra, B), hosszabb távon ez csak az *Nr* mutáns levelekben maradt meg letális sókoncentrációnál.

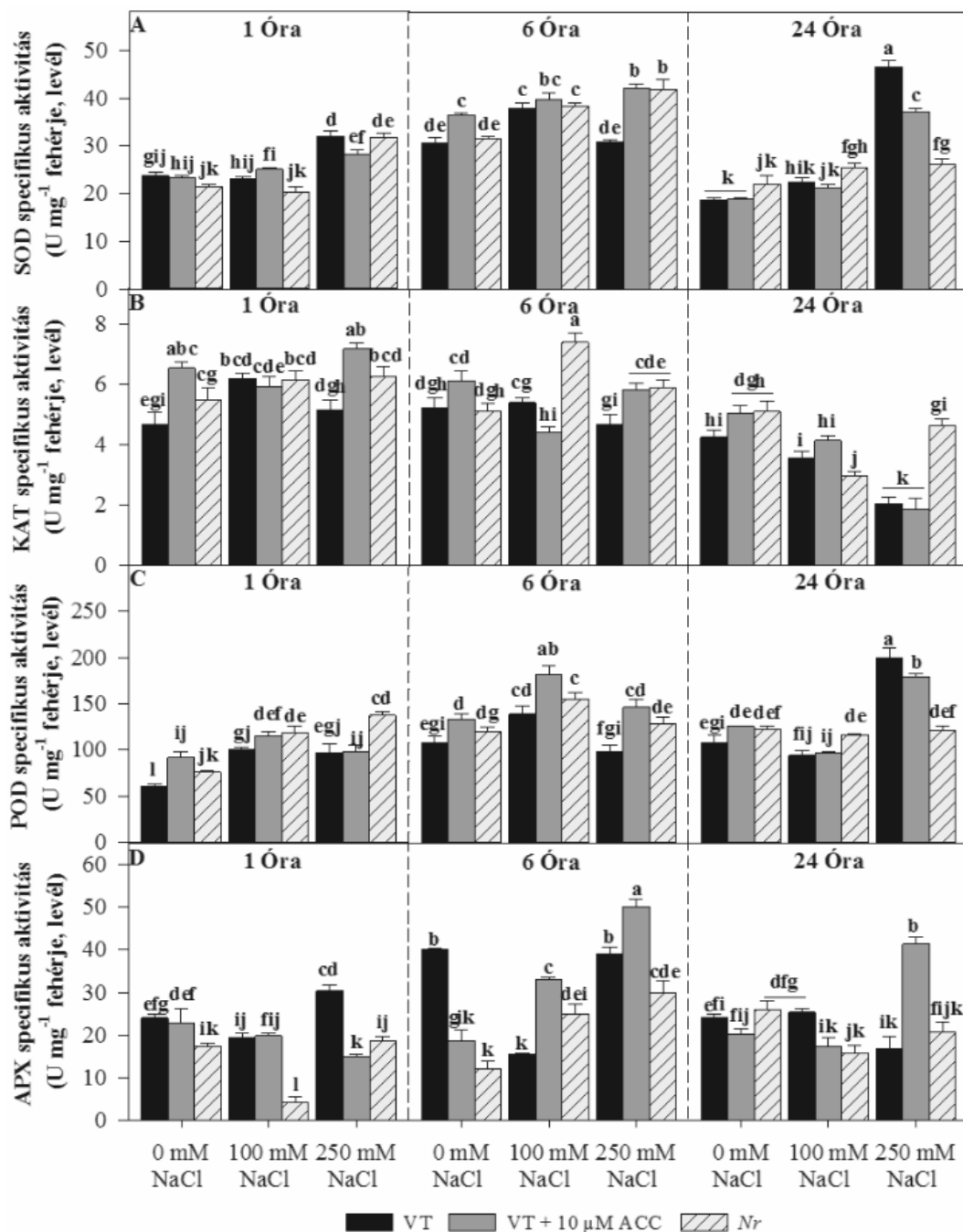
A sókezelésekre a VT levelek szignifikáns POD aktivitás növekedéssel reagáltak, amelyek maximuma az alacsonyabb sókoncentrációnál korábban, míg letális sóstressznél 24 óra múlva jelentkezett (5. ábra, C). Ezt a tolerálható sóstressznél az exogén ACC enyhén, de szignifikánsan növelte a 6 óráig. Bár a letális sókezelés 1 órát követően tovább fokozta a POD aktivitását az *Nr* levelekben, később a mutáció gátló hatásának bizonyul az enzim specifikus aktivitására.

A levél esetében, a sókezelések a legjelentősebb ingadozást az APX aktivitásában okozták, melyre komoly hatással volt a növények ET státusza. A VT növények leveleiben a szubletális sókezelés 6 óra után több mint 50%-os esést eredményezett az APX specifikus aktivitásában (5. ábra, D), mely az *Nr* levelekben sokkal drasztikusabb mértékben, már 1 óra múltán megfigyelhető volt. Ennek ellenére, a 6 óránál tapasztalt, 100 mM-os NaCl általi gátlás kisebb mértékű volt az *Nr* mutánsban, még csekélyebb exogén ACC jelenlétében.

Letális sóstressz során azonban mind az *Nr* mutáns levelekben, mind az ACC expozícióban részesülő VT növények esetében elmaradt az APX aktivitás só-indukálta fokozódása az 1 órás mintavételi időpontban. Ezzel szemben az exogén ACC jelenléte serkentő hatásának bizonyult az APX működésére a megfelelő sókezelésben részesített, VT levelekhez viszonyítva.

Az antioxidáns enzimek egyes izoenzimeinek expresszió változása is mutat ET függést (2. táblázat). Az *SIFeSOD* és az *SIKAT3* expresszióját az ACC növeli, míg az *Nr* mutáció nem okoz jelentős emelkedést a megfelelő sókezelt kontrollhoz képest, ezt tekinthető ET státusztól függő expresszióknak. Az *SICu/ZnSOD* esetén a NaCl-indukált expresszió növekedést mind az ACC, mind az *Nr* mutáció mérsékelte, ami nem specifikus szabályozó hatásra utal. Az *SIKAT2* expressziója jelentősen megemelkedik az *Nr* mutánsokban mindkét sókezelésnél, ami arra utal, hogy a funkcionális ET jelátvitel a gén expresszióját blokkolja. Az *SIAPX1* esetében mindkét sókoncentrációnál alig változó vagy csökkent expressziót találtunk a megfelelő stresszmentes kontrollhoz képest, mind az ACC-kezelt VT, mind az *Nr* növényekben. Itt elsősorban a

sóstressz szabályozza a génextpressziót, aminek gátló hatása csak mérséklődik az eltérő ET státuszú növényekben. Megállapítható, hogy egy-egy izoenzim expresszióváltozása nincs közvetlen kapcsolatban az összes enzimaktivitással.



**5. ábra:** SOD (A), KAT (B), POD (C), illetve APX (D) specifikus aktivitás VT (fekete oszlopok) és *Nr* mutáns (ferdecsíkos, oszlopok) (0 μM ACC), valamint 10 μM ACC-vel kezelt VT (narancssárga oszlopok) paradicsomnövények leveleiben, a 100 mM, ill. 250 mM NaCl hozzáadását követő 1, 6, ill. 24 óra elteltével. A többi azonos a 4. ábrával [34].

**2. táblázat:** SOD, KAT és APX izoenzimeket kódoló gének relatív expressziós szintjeinek ( $\log_2$  értékek) változása VT és *Nr* mutáns, valamint 10  $\mu$ M ACC-vel előkezelt VT paradicsomnövények leveleiben az expresszió maximumának időpontjában, 100, ill. 250 mM-os NaCl expozíciót követően. A -1 és annál kisebb értékek az adott gén represszióját, a +1 és az annál nagyobb értékek az adott gén expressziójának indukcióját jelentik.

	0 mM NaCl			100 mM NaCl			250 mM NaCl		
	VT	VT + 10 $\mu$ M ACC	<i>Nr</i>	VT	VT + 10 $\mu$ M ACC	<i>Nr</i>	VT	VT + 10 $\mu$ M ACC	<i>Nr</i>
<i>SIFeSOD</i>	0,00 $\pm 0,00$	1,71 $\pm 0,10$	0,44 $\pm 0,00$	0,64 $\pm 0,00$	1,65 $\pm 0,10$	0,78 $\pm 0,00$	0,77 $\pm 0,00$	1,63 $\pm 0,10$	1,01 $\pm 0,80$
<i>SIMnSOD</i>	0,00 $\pm 0,00$	1,00 $\pm 0,00$	-0,56 0,1 $\pm$	0,15 $\pm 0,00$	0,27 $\pm 0,00$	0,53 $\pm 0,00$	0,15 $\pm 0,10$	0,35 $\pm 0,10$	0,27 $\pm 0,20$
<i>SICu/ZnSOD</i>	0,00 $\pm 0,00$	0,12 $\pm 0,10$	-0,33 $\pm 0,10$	1,10 $\pm 0,00$	-0,78 $\pm 0,00$	0,42 $\pm 0,00$	3,07 $\pm 0,01$	1,05 $\pm 0,00$	0,46 $\pm 0,10$
<i>SIKAT1</i>	0,00 $\pm 0,00$	1,00 $\pm 0,00$	-1,58 $\pm 0,10$	1,62 $\pm 0,10$	0,61 $\pm 0,10$	-1,47 $\pm 0,00$	1,15 $\pm 0,10$	1,29 $\pm 0,10$	0,89 $\pm 0,00$
<i>SIKAT2</i>	0,00 $\pm 0,00$	-1,25 $\pm 0,00$	0,66 $\pm 0,10$	0,23 $\pm 0,10$	-1,48 $\pm 0,00$	1,65 $\pm 0,00$	-0,78 $\pm 0,00$	-2,97 $\pm 0,00$	1,06 $\pm 0,01$
<i>SIKAT3</i>	0,00 $\pm 0,01$	0,51 $\pm 0,00$	0,31 $\pm 0,00$	0,74 $\pm 0,10$	1,69 $\pm 0,00$	0,70 $\pm 0,00$	0,70 $\pm 0,00$	1,42 $\pm 0,10$	1,18 $\pm 0,10$
<i>SIAPX1</i>	0,00 $\pm 0,00$	1,14 $\pm 0,00$	1,20 $\pm 0,00$	-1,06 $\pm 0,00$	-0,09 $\pm 0,00$	0,27 $\pm 0,00$	0,66 $\pm 0,10$	0,68 $\pm 0,00$	-0,15 $\pm 0,10$
<i>SIAPX2</i>	0,00 $\pm 0,01$	0,96 $\pm 0,10$	-0,22 $\pm 0,00$	0,60 $\pm 0,10$	0,61 $\pm 0,00$	0,53 $\pm 0,00$	0,26 $\pm 0,20$	0,34 $\pm 0,20$	-0,19 $\pm 0,10$

A kísérlet kezdő időpontja a VT növények ACC kezelése 1. órájától számítva. Átlag  $\pm$  SE, n = 3. Mivel az expresszió kinetikája minden izoenzimmél eltérő, ezért a génexpressziós értékeket az 1, 6 és 24 órás mintavételeknél kapott maximális expresszióval mutatjuk be. Ezek: *SIFeSOD*: 1 h; *SIMnSOD*: 1 h; *SICu/ZnSOD*: 6 h; *SIKAT1*: 1 h; *SIKAT2*: 24 h; *SIKAT3*: 6 h; *SIAPX1*: 6 h; *SIAPX2*: 1 h [34].

## Összefoglalás

Megállapítható, hogy a paradicsomnövények ET státusza meghatározza a növények sóstresszre adott válaszreakcióit, ami jelentősen eltér a tolerálható és a növények pusztulását okozó, letális sókoncentráció esetén. A megemelt ET-szinttel jellemzett, ACC-kezelt növényekben mérséklődik a sóstressz ozmotikus hatása, míg az ET jelátvitel blokkolása (látszólagos ET hiány) fokozza az ionikus stresszt.

Az oxidatív stresszválaszok is sókoncentráció függőek. A sóstressz erősségétől függően megemelte a ROS és RNS akkumulációját a levelekben, amelynek maximuma eltért az idő függvényében a különböző ET státuszú szövetekben. Összességében megállapítható, hogy a magas sókoncentrációnál a szövetek ET-szintjének megemelése csökkenti a ROS akkumulációt, míg az ET inszenzivitás inkább növeli azt. Ezzel szemben a NO-szint szöveti emelkedése inkább az akklimatizációnak kedvez.

Az oxidatív stresszt szabályozó antioxidáns enzimek izoenzimeinek expressziójában és összes aktivitásában is megfigyelhető ET-függés. Míg a letális sókoncentráció hatására 24 órás sókezelés után mind az ACC-előkezelés, mind az *Nr* mutáció csökkenti az összes SOD és POD aktivitást, az APX aktivitását szignifikánsan emeli az exogén ACC, míg a KAT-ét az ET jelátvitel blokkolása. Mindez jó összhangban van azzal a megfigyeléssel, hogy míg szubletális sóstressznél a fotoszintetikus aktivitás ET státuszfüggő, letális sókoncentrációnál a nettó CO<sub>2</sub> fixációt mind az exogén ACC-kezelés, mind az *Nr* mutáció javítja [34].

## Köszönetnyilvánítás

Ezt a munkát a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alap pályázata (OTKA K 101243 és OTKA PD112855) és a Magyarország-Szerbia IPA Határon Átnyúló Kooperációs Program [HUSRB/1203/221/173] finanszírozta, amiért a szerzők hálás köszönetüket fejezik ki.

## Irodalom

- [1] *Bleecker, A.B., Kende, H.*: Ethylene: A gaseous signal molecule in plants. *Ann. Rev. Cell Develop. Biol.*, 2000, *16*, 1-18.
- [2] *Argueso, C.T., Hansen, M., Kieber, J.J.*: Regulation of ethylene biosynthesis. *J. Plant Growth Regul.*, 2007, *26*, 92-105.
- [3] *Ruduś, I., Sasiak, M., Kepczyński, J.*: Regulation of ethylene biosynthesis at the level of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase (ACO) gene. *Acta Physiol. Plant.*, 2013, *35*, 295-307.
- [4] *Achard, P., Chen, H., De Grauwe, I. et al.*: Integration of plant responses to environmentally activated phytohormonal signals. *Science*, 2006, *311*, 91-94.
- [5] *Liu, M., Pirrello, J., Chervin, C. et al.*: Ethylene control of fruit ripening: revisiting the complex network of transcriptional regulation. *Plant Physiol.*, 2015, *169*, 2380-2390.
- [6] *Zhong, S., Lin, Z., Grierson, D.*: Tomato ethylene receptors-CTR interactions: visualization of NEVER-RIPE interactions with multiple CTRs at the endoplasmatic reticulum. *J. Exp. Bot.*, 2008, *59*, 965-972.
- [7] *Klee, H.J., Giovannoni, J.J.*: Genetics and control of tomato fruit ripening and quality attributes. *Annu. Rev. Genet.*, 2011, *45*, 41-59.
- [8] *Zhang, Z., Zhang, H., Quan, R. et al.*: Transcriptional regulation of the ethylene response factor LeERF2 in the expression of ethylene biosynthesis genes controls ethylene production in tomato and tobacco. *Plant Physiol.*, 2009, *150*, 365-377.
- [9] *Lanahan, M.B., Yen, H.C., Giovannoni, J.J. et al.*: The never ripe mutation blocks ethylene perception in tomato. *Plant Cell*, 1994, *6*, 521-53.
- [10] *Mata, C.I., Fabre, B., Parsons, H.T. et al.*: Ethylene receptors, CTRs and EIN2 target protein identification and quantification through parallel reaction monitoring during tomato fruit ripening. *Front. Plant Sci.* 2018, *9*, 1626. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01626>
- [11] *Tieman, D.M., Taylor, M.G., Ciardi, J.A. et al.*: The tomato ethylene receptors NR and LeETR4 are negative regulators of ethylene response and exhibit functional compensation within a multigene family. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2000, *97*, 5663-5668.
- [12] *Barry, C.S., McQuinn, R.P., Thompson, A.J. et al.*: Ethylene insensitivity conferred by the *Green-ripe* and *Never-ripe 2* ripening mutants of tomato. *Plant Physiol.*, 2005, *138*, 267-275.
- [13] *Osorio, S., Alba, R., Damasceo, C.M.B. et al.*: System biology of tomato fruit development: combined transcript, protein, and metabolite analysis of tomato transcription factor (*nor*, *rin*) and ethylene receptor (*Nr*) mutants reveal novel regulatory interactions. *Plant Physiol.*, 2011, *157*, 405-425.
- [14] *Szepesi, Á., Csiszár, J., Gémes, K. et al.*: Salicylic acid improves acclimation to salt stress by stimulating abscisic aldehyde oxidase activity and abscisic acid accumulation, and increases Na<sup>+</sup> content in leaves without toxicity symptoms in *Solanum lycopersicum* L. *J. Plant Physiol.* 2009, *166*, 914-925.
- [15] *Poór, P., Szopkó, D., Tari, I.*: Ionic homeostasis disturbance is involved in tomato cell death induced by NaCl and salicylic acid. *In Vitro Cell. Develop. Biol. - Plant*, 2012, *48*, 377-382.
- [16] *Munns R.*: Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell Environ.*, 2002, *25*, 239-250.

- [17] Park, H. J., Kim, W.Y., Yun, D.J.: A new insight of salt stress signaling in plant. *Molecules, Cells*, 2016, 39, 447-459.
- [18] Isayenkov, S.V., Maathuis, F.J.M.: Plant salinity stress: Many unanswered questions remain. *Front. Plant Sci.*, 2019, 10, 80. doi:10.3389/fpls.2019.00080
- [19] Bhattacharjee, S.: The language of reactive oxygen species signaling in plants. *J. Bot.*, 2012, Article ID 985298, 22 pages, <http://dx.doi.org/10.1155/2012/985298>
- [20] Waszczak, C., Carmody, M., Kangasjärvi, J.: Reactive oxygen species in plant signaling. *Ann. Rev. Plant Biol.*, 2018, 69, 209-236.
- [21] Noctor, G., Reichheld, J.P., Foyer, C.H.: ROS-related redox regulation and signaling in plants. In *Seminars in Cell & Developmental Biology*, Academic Press, 2018, 80, 3-12.
- [22] Corpas, F., Palma, J.: Assessing nitric oxide (NO) in higher plants: an outline. *Nitrogen*, 2018, 1, 12-20.
- [23] Zhang, M., Smith, J.A.C., Harberd, N.P. et al.: The regulatory roles of ethylene and reactive oxygen species (ROS) in plant salt stress responses. *Plant Mol. Biol.*, 2016, 91, 651-659.
- [24] Jiang, C., Belfield, E.J., Mithani, A. et al.: ROS-mediated vascular homeostatic control of root-to-shoot soil Na delivery in *Arabidopsis*. *EMBO J.*, 2012, 31, 4359-4370.
- [25] Corpas, F.J., Carreras, A., Valderrama, R. et al.: Reactive nitrogen species and nitrosative stress in plants. *Plant Stress*, 2007, 1, 37-41.
- [26] Zeng, C.L., Liu, L., Wang, B.R. et al.: Physiological effects of exogenous nitric oxide on *Brassica juncea* seedlings under NaCl stress. *Biol. Plant.*, 2011, 55, 45-348.
- [27] Demidchik, V., Cuin, T.A., Svistunenko, D. et al.: *Arabidopsis* root K<sup>+</sup>-efflux conductance activated by hydroxyl radicals, single-channel properties genetic basis and involvement in stress induced cell death. *J. Cell Sci.*, 2010, 123, 1468-1479.
- [28] Torre-González, A., Navarro-León, E., Albacete, A. et al.: Study of phytohormone pROSile and oxidative metabolism as key process to identification of salinity response in tomato commercial genotypes. *J. Plant Physiol.*, 2017, 216, 164-173.
- [29] Feng, K., Yu, J., Cheng, Y. et al.: The SOD gene family in tomato: identification, phylogenetic relationship and expression patterns. *Front. Plant. Sci.*, 2016, 30, 1279. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01279>
- [30] Podgórska, A., Burian, M., Szal, B.: Extra-cellular but extra-ordinarily important for cells: Apoplastic reactive oxygen species metabolism. *Front. Plant Sci.*, 2017, 8, 1353. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01353>
- [31] Najami, N., Janda, T., Barriah, W. et al.: Ascorbate peroxidase gene family in tomato: Its identification and characterization. *Mol. Genet. Genomics*, 2008, 279, 171-182.
- [32] Panchuk, I.I., Zentgraf, U., Volkov, R.A.: Expression of the Apx gene family during leaf senescence of *Arabidopsis thaliana*. *Planta*. 2005, 222, 926-932.
- [33] Lindermayr, C.: Crosstalk between reactive oxygen species and nitric oxide in plants: key role of S-nitrosoglutathione reductase. *Free Radical Bio. Med.*, 2018, 122, 110-115.
- [34] Borbély, P.G.: Az etilén státusz szerepe paradicsom sóstressz akklimatizációjában. Doktori Disszertáció, 2019, Biológia Doktori Iskola, Szegedi Tudományegyetem, <http://doktori.bibl.u-szeged.hu/view/divisions/doc=5Fbio/>