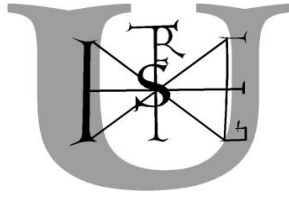


Doktori (PhD) értekezés tézisei

Bózváriné Juhász Zsófia Mária

Gödöllő

2014



SZENT ISTVÁN EGYETEM

**Genetikailag módosított burgonyavonalak metabolit analízise és
szárazságtűrő képességének vizsgálata**

Bózsvariné Juhász Zsófia Mária

Gödöllő

2014

A doktori iskola

megnevezése: Növénytudományi Doktori Iskola

vezetője: Dr. Helyes Lajos
egyetemi tanár,
Szent István Egyetem,
Mezőgazdasági és Környezettudományi Kar,
Kertészeti Technológiai Intézet

tudományterület: 4. Agrártudományok

tudományága: 4.1. Növénytermesztési és kertészeti
tudományok

Témavezető: Dr. Bánfalvi Zsófia
tudományos tanácsadó, az MTA doktora
Nemzeti Agrárkutatási és Innovációs Központ
Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóintézet

.....
Az iskolavezető jóváhagyása

.....
A témavezető jóváhagyása

A munka előzményei, kitűzött célok

Az emelkedő hőmérséklet következtében nő a szárazság és egyre nagyobb területeket foglal el, köztük a mezőgazdaságra alkalmas földeket is. A növekvő élelmiszerigény miatt viszont fontos, hogy a termesztett növények a szélsőségesé vált éghajlati körülmények között is a várt, vagy akár annál jobb termés hozamot adjanak.

A burgonya (*Solanum tuberosum*) a negyedik legnagyobb mennyiségben termesztett élelmiszernövény a világon, azonban igen érzékeny a szárazságra. Az elmúlt években a molekuláris biológiai eszközök fejlődésével és a transzformációs technológiáknak köszönhetően olyan transzgenikus növények létrehozására is lehetőség nyílt, amelyekben a stresszre adott különböző fiziológiai, biokémiai és molekuláris válaszokat génexpressziós szinten is befolyásolni tudjuk.

A trehalóz egy nem redukáló diszacharid, ami nagy mennyiségben megtalálható a sivatagi növényekben és szárazság során ozmoregulátor szerepet játszik (IORDACHESCU és IMAI 2008; JAIN és ROY, 2009). A trehalóz szintéziséért felelős gének bevitelével és expresszáltatásával fokozható a növények szárazság stressz toleranciája (YEO et al., 2000; CORTINA et al., 2005; KARIM et al., 2007; MIRANDA et al., 2007). STILLER és munkatársai (2008) az élesztő *TPSI* génjét juttatták be sikeresen marker mentes transzformációval Desirée burgonyafajtába. A *TPSI* transzgenikus növények szárazságtűrőbbek voltak, mint a kontroll növények, azonban növekedésük optimális körülmények között elmaradt a kontrollétól, alacsonyabb volt a széndioxid fixációs rátájuk és a sztómaszámuk is. De megváltozott a fotoszintézisben és a szénhidrát anyagcserében szerepet játszó gének expressziója is (KONDRÁK et al., 2011, 2012). A génexpressziós változások metabolikus változásokkal is járnak, ami módosíthatja a növény beltartalmi értékeit. Ezért dolgozatom első részének célja:

1. A *TPS1* gént expresszáló T1, T2 és a vad típusú vonalak leveleinek és gumóinak beltartalmi és metabolit szintű összehasonlítása öntözött és szárazság stressz körülmények között.

A növényeknél a „priming” jelensége megnövekedett védelmi kapacitást jelent. A megerősödött immunvédelem kiváltható nekrotizáló patogénekkal vagy egyes rizobaktériumokkal, de szerves és szervetlen vegyületekkel is (PRIME-A-PLANT GROUP, 2006). A „priming” során bekövetkező „immunvédelem” szorosan összefügg a „pathogen-related” (PR) fehérjékkel és az azokat kódoló *PR* génekkkel. A *PR* génekhez hasonló expresszióval rendelkeznek a *PRLIP* (patogenezishez köthető lipáz) gének is (JAKAB et al., 2003). Bizonyított, hogy a β -amino-vajsav (BABA) több növény fajban is képes a „priming” kiváltására (JAKAB et al., 2001). JAKAB és munkatársai (2005) *Arabidopsis*-on szárazság és sótűrés javítására is eredményesen alkalmazták a BABA kezelést. Megfigyelték, hogy többek között a *PRLIP1* és *PRLIP2* gének expressziója is megemelkedik a BABA, a szalicilsav valamint patogén fertőzés hatására (JAKAB et al., 2003). Mivel eddig még nem találtak a *PRLIP1*, vagy *PRLIP2* fehérjékhez hasonló szekvenciájú fehérjét burgonyában (JAKAB et al., 2003), arra gondoltunk, hogy a Dr. Jakab Gábor és munkatársai által előállított *PRLIP2* gént tartalmazó pPZP111 plazmidot felhasználva, a *PRLIP2* gént bevisszük a burgonyába, bízva abban, hogy a *PRLIP2* expresszáltatásával fokozni tudjuk a burgonya szárazságtűrő képességét. Ezért dolgozatom második részének célja:

- 1. A Desirée burgonyafajta *Agrobacterium tumefaciens*-szel történő transzformációs technikájának elsajátítása és az elkészített konstrukciókkal stabil transzgenikus burgonya vonalak előállítása.**
- 2. Az adott transzgén beépülésének és kifejeződésének bizonyítása molekuláris módszerekkel.**
- 3. *PRLIP2* transzgént expresszáló vonalak szárazságtűrő képességének vizsgálata üvegházi körülmények között.**

Anyag és módszer

Növényanyag

A *TPS1* gént expresszálo burgonyavonalak beltartalmi vizsgálatához a STILLER és munkatársai (2008) által létrehozott T1 és T2 transzgenikus vonalakat, valamint a *S. tuberosum* cv. White Lady magyar burgonyafajtát használtuk. A *PRLIP2* gén expresszáltatását *S. tuberosum* cv. Desirée holland burgonya fajtán végeztük.

Burgonyatranszformáció

A transzgenikus burgonya növényeket DIETZE és munkatársai (1995) módszere szerint, *Agrobacterium*-közvetítette levél transzformációval állítottuk elő. A transzformációhoz az *A. tumefaciens* ALG0 (HOOD et al., 1984) és C58C1(pGV2260) (DEBLAERE et al., 1985) törzseket használtuk.

Szárazság stressz hatásának vizsgálata

Az üvegházi kísérletekhez 6 hetes *in vitro* növényeket ültettünk ki cserepekbe. Négy hétig optimális körülmények között tartottuk őket, majd megkezdtük a periodikus szárazság stressz kezelést a növényeken. Az öntözött kontroll növényeket folyamatosan 70%-os talajnedvesség mellett neveltük. A többi növényt egészen addig nem öntöztük, amíg a vad típusú kontrollon a hervadás tünetei nem jelentkeztek. Ekkor visszalocsoltuk a stresszelt növényeket és optimális körülmények között tartottuk 1 héten keresztül, majd újra megvontuk tőlük a vizet. Egy tenyészidő alatt 4-7 száraz periódust éltek át a növények.

A növények fenotipizálása

Figyeltük a biomassza változását, a növények- és a levelek alakját, méretét, a vízmegvonás alatt a levelek hervadását, cserepenként mértük a gumóhozamot (a felszedett gumók súlyának [g] átlaga/cserép), szemrevételeztük a gumók színét és alakját, a tárolás során a csírázási képességet és a csírázás kezdetének időpontját.

Analitikai módszerek

A metabolit kivonatok készítését és származékolását burgonya levélből és gumóból SCHAUER és munkatársai (2004) módszere szerint végeztük. A kivonatok metabolit összetételét gázkromatográfiás tömegspektrometriával (GC-MS) vizsgáltuk. A metabolitok azonosítása a NIST 11 tömegspektrometriás szoftverrel illetve az interneten szabadon elérhető Golm Metabolome Database segítségével történt a vegyületek tömegspektruma és jellemző retenciós ideje alapján.

A trehalóz-6-foszfát (T6P) mennyiségi meghatározása LUNN és munkatársai (2006) módszere szerint történt, némi mennyiségi változtatással. A növények keményítő tartalmát YU és munkatársai (2001) nyomán mértük. A burgonyagumókból az összfehérjét BRADFORD (1976) módszere alapján határoztuk meg. A szárazanyagtartalom meghatározásához a megmosott és meghámozott gumókat univerzális aprítóval ledaráltuk és 80°C-on szárítottuk 24 órán keresztül.

Az adatok főkomponens analízisét (PCA) a Multibase Add-Ins program segítségével végeztük (www.numericaldynamics.com). A MANOVA (Multivariate ANOVA) statisztikai értékeléshez az IBM SPSS Statistics 19 programját használtuk.

Molekuláris biológiai módszerek

A bakteriális plazmidok tisztítását SAMBROOK (1989) alkalikus lízis módszere alapján végeztük. A plazmidokat 30 µl reakció térfogatban, a gyártó (Fermentas) által leírt pufferrel és hőmérsékleten *Bam*HI restrikciós enzimmel emésztettük. A megfelelő fragmentumokat a gélből szikével kivágtuk, és QIAEX II Gel Extraction Kittel vagy MinElute Gel Extraction Kittel (QIAGEN) tisztítottuk. Az izolált fragmentumokat a *Bam*HI restrikciós hasító helyen emésztett pBluescript II KS klónozó vektorba építettük. Az *E. coli* sejtek transzformálását INOUE et al. (1990) módszere alapján végeztük.

A növények leveleiből a genomi DNS izolálását SHURE és munkatársai (1983) módszere alapján, az összRNS-t pedig STIEKEMA és munkatársai

(1988) nyomán izoláltuk. A PCR reakció elegyet 50 µl végtérfogattal készítettük, kb. 100 ng DNS templáttal, 1.5 mM MgCl₂-dal, 0.3-0.5 µM primerrel, 0.2 mM dNTP keverékkel (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), 1xPCR Taq pufferrel és 1 U Taq polimeráz enzimmal. A denaturálás 95°C-on történt (5 perc), majd a reakció elegyet 40 cikluson át 95°C-on 30 s-ig, 60°C-on 30 s-ig és 72°C-on 45 s-ig inkubáltuk. A keletkezett terméket 10 percig elongáltuk 72°C-on. Az RT-PCR-hez 400 ng összRNS-ből cDNS-t szintetizáltattunk a High Capacity cDNA Reverse Transcription Kittel (Applied Biosystems), amiből 40 ng-nyit használtunk fel a PCR-hez.

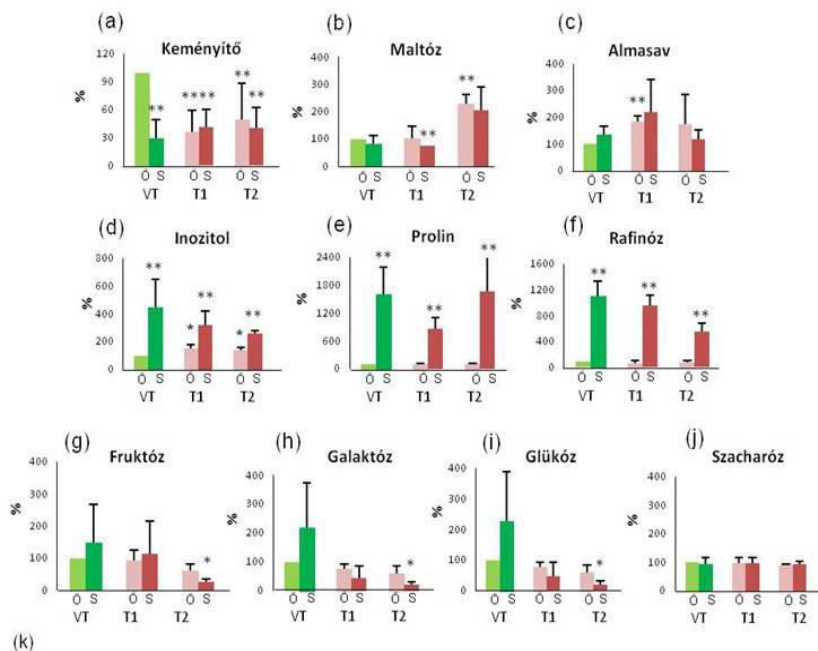
Eredmények

A *TPSI* transzgenikus burgonya vonalak összfehérje, keményítő és metabolit analízise

Levélanalízis

A vegetatívan szaporított *S. tuberosum* cv. White Lady és a *TPSI* génnel transzformált T1 és T2 vonalakat (STILLER et al., 2008) *in vitro* tenyészetből cserepekbe ültettük és hosszú nappalos, természetes fényviszonyok mellett, optimális körülmények között üvegházban neveltük. Négy héttel a kiültetést követően a növényeket két csoportba osztottuk. Vonalanként három növényt optimális talajnedvesség mellett neveltünk tovább, míg három növényt szárazság stressznek tettünk ki. Két héttel a vízmegvonást követően, négy órával napfelkelte után a növényekről levettük az összes asszimiláló levelet. A teljes kísérletet háromszor megismételtük, és így három független kísérletből származó három biológiai mintasorozatot kaptunk.

Öntözött körülmények között a vad típusú (VT) növények leveleinek keményítő tartalma jóval magasabb volt, mint a T1 és T2 vonalaké. Szárazság stressz hatására a VT keményítőtartalma 65%-kal csökkent az optimális körülményekhez képest, míg a transzgenikus vonalaké alig változott (1. ábra/a).



Kísélet	Keményítő h. ekv. g ⁻¹	Maltóz μmol g ⁻¹	Almasav μmol g ⁻¹	Inozitol μmol g ⁻¹	Prolin μmol g ⁻¹	Rafinóz nmol g ⁻¹	Fruktóz μmol g ⁻¹	Galaktóz μmol g ⁻¹	Glükóz μmol g ⁻¹	Szacharóz μmol g ⁻¹
1	49	0.04	90.18	7.34	3.1	3.2	240	84	14.4	106
2	18.5	0.02	108.44	9.95	3	3	156	95	17	101
3	5.4	0.02	62.91	9.45	2.6	4.7	139	104	18.3	82

1. ábra: A vad típus (VT) és a *TPS1* transzgenikus vonalak (T1, T2) leveleiben mért keményítő és metabolit változások. A szórási értékek három független biológiai ismétlésből származnak. A három független kísérletben az öntözött VT-ben mért koncentrációkat az ábra (k) részében tüntettük fel. Ezeket az értékeket tekintettük 100%-nak. A két csillag a $P \leq 0.01$, az egy csillag a $P \leq 0.05$ (*t*-próba) szintű szignifikáns eltérést jelöli az öntözött VT kontrollhoz képest. Ö, öntözött; S, stresszelt; h.ekv., hexóz ekvivalens

A növények leveleiben összesen 22 vegyületet tudtunk azonosítani GC-MS-sel.

A VT növények levelében a stressz hatására az inozitol szint mintegy 4.4-szeres emelkedést mutatott (1. ábra/d), míg a T1 és T2 vonalakban ez az emelkedés kisebb volt (T1: 3.2-szeres, T2: 2.6-szoros). A magas inozitol szint az alacsony keményítő szinttel összhangban változott (1. ábra/a,d).

Stressz hatására minden vonal levelében ugrásszerűen megemelkedett a prolin szint (1. ábra/e). Mivel a VT-ben és a *TPSI* növények levelében egyaránt megnőtt a prolin mennyisége, viszont a VT növények kevésbé tűrték a szárazságot, mint a *TPSI* növények, arra a következtetésre jutottunk, hogy a prolin nem játszik közvetlen szerepet a növények szárazságtűrő képességében.

A raffinózt csak nagyon kis mennyiségben tudtuk detektálni a levelekben öntözött körülmények között, viszont nagyon erős mennyiségi emelkedést tapasztaltunk szárazság stressz hatására (5.5-11-szeres különbség), és ez a VT növények levelében még kifejezettebb volt, mint a *TPSI* növények levelében (1. ábra/f). Habár mind az inozitol, mind a raffinóz mennyisége megemelkedett szárazság hatására, valószínűleg más szerepet tölt be ez a két vegyület a növényben a stressz során. Míg az inozitol tartalmat a szárazság illetve a *TPSI* gén által okozott esetleges transzkripció/biokémiai változások is befolyásolhatják (KONDRÁK et al., 2011, 2012), addig a raffinóz felhalmozódását inkább a vízhiány okozhatja a növényekben. LEGAY és munkatársai (2011) szintén azt tapasztalták, hogy szárazság stressz hatására megemelkedik a raffinóz koncentrációja a szárazsággal szemben toleráns burgonyaklónok leveleiben.

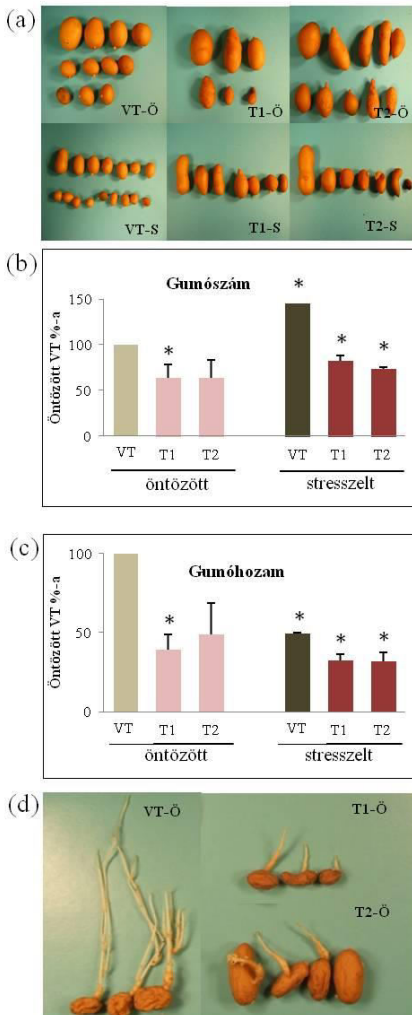
A szacharóz szint egyik vonalban sem, még a kezelések ellenére sem változott (1. ábra/j). Azt feltételezzük, hogy az állandó szacharóz koncentráció fenntartása érdekében a növény a keményítő szintézist visszafogja és inkább a szacharóz szintézishez juttatja a megkötött szént és az energiát.

Gumóanalízis

A gumók vizsgálatához új növényi tesztet indítottunk. Az *in vitro* szaporított növényeket egy hónapon keresztül optimális körülmények között neveltük, majd két csoportra osztva a növényeket megkezdtük a szárazság stressz kezelést. Egy tenyészidő alatt (kb. 4 hónap) hét száraz periódust éltek át a növények. A tenyészidő végén a gumókat felszedtük a növények alól, és két csoportra osztottuk. Az első csoportot megmostuk, meghámoztuk, majd ledaráltuk, folyékony nitrogénben lefagyasztottuk és -70°C -ra tettük felhasználásig. A másik csoport gumóit szobahőmérsékleten, sötétben tároltuk 12 hétig és csak azután dolgoztuk fel őket. Az egész növényi tesztet kétszer, egymástól függetlenül megismételtük.

A gumók felszedése után az első megfigyelésünk az volt, hogy a *TPS1* vonalak gumói hosszúkásak, ellentétben a VT gumók ovális/gömbölyű alakjával (2. ábra/a). Optimális körülmények között a transzgenikus vonalak gumószáma (2. ábra/b) és tömege is kb. 50-60%-kal kisebb volt, mint a VT kontrollé (2. ábra/c). A stressz következtében a VT növényeken sok, kisméretű gumó képződött (2. ábra/a,b) és a gumóhozam a felére csökkent (2. ábra/c). A transzgenikus vonalagnál a stressz az optimális körülményhez képest nem emelte meg a gumószámot és a gumóhozamban sem okozott akkora csökkenést (20-40%), mint a VT-ben (2. ábra/b,c).

A VT vonalak gumói 12 hét után elkezdtek csírázni, a transzgenikus vonalak gumóin viszont még nem volt csírakezdemény (2. ábra/a). Hat hónapos tárolás után ez a csírázási időbeli különbség még szembetűnőbb volt (2. ábra/d).



2. ábra: A vad típusú (VT) és *TPS1* (T1, T2) vonalak gumószáma, gumóhozama öntözött (Ö) és szárazság stressz (S) körülmények között. (a) 12 hétig tárolt gumók (b) a növények gumószáma az öntözött VT %-ához viszonyítva (c) a növények gumóhozama az öntözött VT %-ához viszonyítva (d) 6 hónapig, sötétben tárolt gumók. A szórásokat két független növényi tesztből származó adatok átlagából számoltuk. Mindkét kísérletben hét öntözött és nyolc stresszelt növény volt. Az öntözött VT növények átlagos gumószáma az első kísérletben 3.9 a másodikban 4.0, míg a gumóhozam 11.8 és 17.6 g volt. A csillag a $P \leq 0.01$ (*t*-próba) szintű szignifikáns eltérést jelöli az öntözött VT kontrollhoz képest.

A tárolás során körülbelül 20%-kal emelkedett a gumók szárazanyagtartalma a vízvesztés következtében. Sem a keményítő, sem az összfehérje mennyiségében nem találtunk különbséget az optimális körülmények között nevelt növényekről származó VT és *TPS1* gumók között. A stressz viszont csökkentette a gumók keményítő szintjét, illetve növelte összfehérje tartalmukat. A tárolás viszont mindkét anyagnak emelte a szintjét, ami arra utal, hogy a gumók még a tárolás alatt is metabolikusan aktívak voltak. Kíváncsiak voltunk arra is, hogyan változik az egyes metabolitok koncentrációja a tárolás alatt. Ezért a frissen felszedett és tárolt gumókat megvizsgáltuk GC-MS-sel is. A gumókban 33 metabolitot tudtunk detektálni. Tizenhárom olyan anyagot találtunk, amelyek mennyiségi különbséget mutattak a *TPS1* gumókban a VT gumókhoz képest. Ezek közül az aszparagin mennyisége mind öntözött, mind stresszelt körülmények között magasabb volt a *TPS1*-, mint a VT gumókban, de a tárolás során csak az optimális körülmények között fejlődött gumókban emelkedett meg a szintje. A tárolás hatására a fenilalanin szintje az öntözött növények gumóiban emelkedett, viszont a stresszelt gumókban nem változott, vagy talán még csökkent is. A vízhiányban fejlődött gumók prolin

tartalma erősen megnőtt az optimális körülmények között fejlődött gumók prolin tartalmához képest. Ezt a jelenséget már mások is kimutatták burgonya gumóban, és nemcsak szárazság, hanem só- és szelén stressz esetén is (TEIXEIRA és PEREIRA, 2007; MAGGIO et al., 2008; JEZEK et al., 2011). A prolin mellett a gumók glutamin és glutaminsav tartalma is a kétszeresére emelkedett a stressz hatására. A glutamin-szintetáznak fontos szerepe van a nitrogén metabolizmusban, de a prolin szintézissel kapcsolatban is találtak összefüggéseket a glutamin-szintetáz aktivitás és a prolin mennyisége között növényben (BRUGIERE et al., 1999). MAGGIO és munkatársai (2008) szántóföldi kísérletekben mutattak ki jelentős növekedést a glutamin és glutaminsav mennyiségében a különböző kezelések hatására.

Megvizsgáltuk azt is, hogy a transzgen befolyásolja-e a gumók T6P tartalmát, illetve hogy az összefüggésben áll-e a nyugalmi idő hosszával, de azt a választ kaptuk, hogy nem, mert a *TPS1* expresszió nem emelte meg a gumók T6P koncentrációját.

***PRLIP2* gént expresszáló transzgenikus burgonyavonalak előállítása és jellemzése**

***PRLIP2* gént expresszáló transzgenikus burgonyavonalak előállítása**

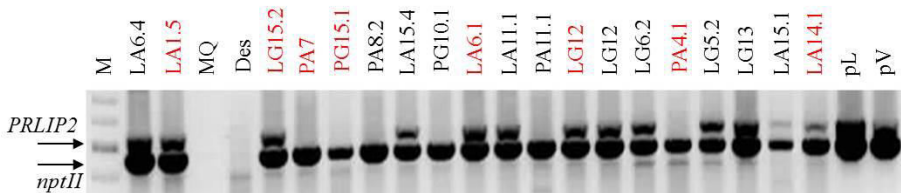
A *PRLIP2* gént a pPZP111 növényi transzformációra alkalmas bináris vektorba klónozva a Pécsi Tudományegyetemről kaptuk Dr. Jakab Gábortól. A plazmid inszertjét ellenőrzés céljából áttettük pBluescript vektorba és megszekvenáltattuk. A pPZP111::*PRLIP2* plazmidot háromszülős keresztezéssel *E. coli*-ből *A. tumefaciens* ALG0 és C58C1(pGV2260) törzsekbe vittük át. Az *Agrobacterium*-okkal két napig fertőztük a Desirée leveleket, majd kalluszképző és hajtás regeneráló táptalajra tettük. A hajtásokat levágtuk és szelektív táptalajban gyökerezettük (3. ábra).



3. ábra: Levéltranszformáció (a) *Agrobacterium*-mal transzformált levelek kalluszindukáló (CIM) és (b) hajtásindukáló (SIM) táptalajon. (c) szelekciós táptalajon gyökeresedő feltételezhetően transzgenikus növények

A *PRLIP2* gén bevitele mellett kontroll transzformációt is végeztünk az „üres” pPZP111 vektorral.

A transzformáció igazolására DNS-t izoláltunk az *in vitro* növényekből és *PRLIP2* illetve *nptII* génre tervezett primer párokkal ellenőriztük, hogy sikeresen beépült-e a célgén. A transzgén(ek) expressziós szintjének meghatározására azokból az *in vitro* növényekből, amelyekből PCR-rel ki tudtuk mutatni az *nptII* illetve a *PRLIP2* gének jelenlétét, RNS-t izoláltunk és RT-PCR analízist végeztünk.

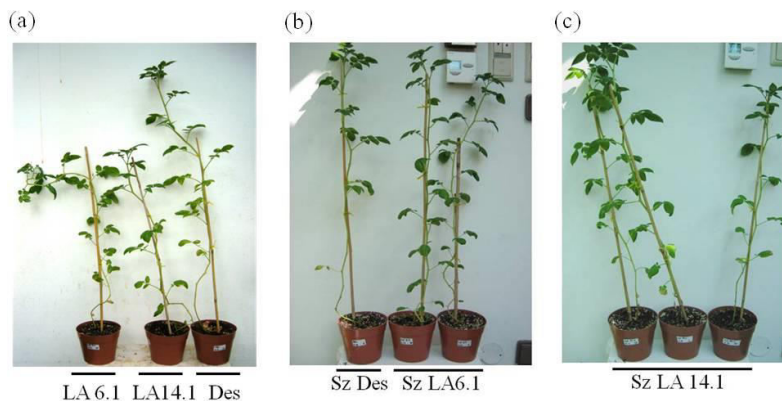


4. ábra: *PRLIP2* és *nptII* gén expressziós szintjének kimutatása *in vitro* növényekből RT-PCR-rel. M: 100 bp DNS méret marker, LA, LG: *nptII* és *PRLIP2* transzgént tartalmazó vonalak, PA, PG: *nptII* transzgént tartalmazó vonalak, pL: pPZP111::LIP2, pV: pPZP111, Des: nem transzformált *Desirée* kontroll, MQ: distilled water. Pirossal jelöltük a további kísérletekhez kiválasztott vonalakat.

A 4. ábrán pirossal kiemelt öt *PRLIP2* transzgenikus, és három „üres” vektorral transzformált kontroll vonalat választottuk ki - alacsony, közepes, és erős expressziós szinttel - a további kísérletekre.

***PRLIP2* gént expresszáló transzgenikus burgonyavonalak jellemzése**

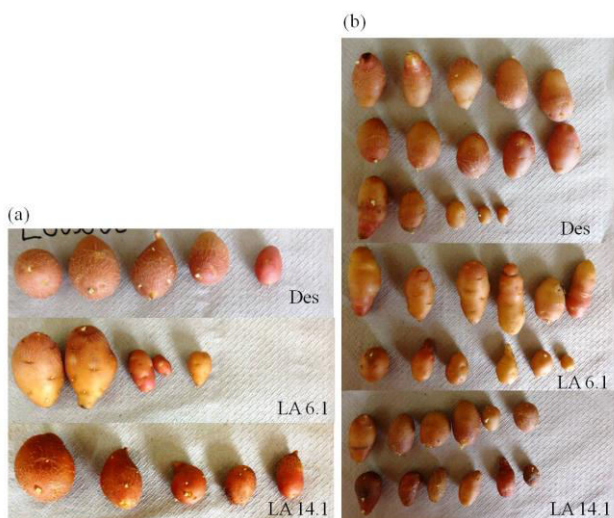
A *PRLIP2* transzgént expresszáló vonalak fenotípusos vizsgálatát és szárazsággal szembeni ellenálló képességét üvegházi körülmények között teszteltük. Az LA6.1 és LA14.1 vonalak optimális körülmények között kisebbre nőttek, mint a kontroll (5. ábra/a) viszont kevésbé viselte meg őket a vízmegvonás, nem kopaszodtak úgy fel, mint a nem transzformált Desirée (5. ábra/b,c).



5. ábra: Növényházban nevelt növények optimális (a) és szárazság stressz körülmények között (b,c).

A tenyészdő végén a növények alatt sok, apró méretű gumót találtunk. A stresszelt növények gumóhozama átlagban minden vonal esetében alacsonyabb volt, mint az öntözött növényeké.

Az első kísérlet során megfigyelt fenotípusos változások után újabb növényi tesztet indítottunk, nagyobb növény számmal. Szárazság stressz hatására minden vonalnak szignifikánsan csökkent a relatív víztartalma (RWC) az öntözött Desiréehez képest, ami arra utal, hogy a *PRLIP2* gén expressziója nem tudja megvédeni a növények levelét a vízmegvonás okozta vízvesztéstől. Az LA6.1 vonalnak nemcsak stresszelt körülmények között, hanem öntözött állapotban is alacsonyabb volt az RWC-je, mint a nem transzformált kontrollé. A tenyészdő végén ismét felszedtük a gumókat. A második kísérletben az LA6.1 transzgenikus vonal gumóhozama szignifikánsan (t -próba, $P \leq 0.01$)



6. ábra: Öntözött (a) és stresszelt (b) növények gumói 14 hét szobahőmérsékleten történt tárolás után

alacsonyabb volt, mint az öntözött Desirée kontrollé (6. ábra/a). Akárcsak az első kísérletben, most is apróbb gumók voltak a stresszelt, mint az öntözött növények alatt (6. ábra/b). Az LA6.1 és LA14.1 vonalak csírázó gumóit a Desirée kontrollal együtt cserepekbe ültettük.

Az LA14.1, de főleg az LA6.1 növények fejlődése optimális körülmények között elmaradt a kontroll Desirée-től (7. ábra). Mivel az LA6.1 vonalban volt a legerősebb *PRLIP2* expresszió (4. ábra), feltételezhetnénk, hogy a *PRLIP2* miatt növekszik lassabban a növény. Voltak azonban olyan vonalak is, mint pl., az LA1.5, LG12, LG15.2, amelyekben az RT-PCR alapján erősebben expresszálódott a *PRLIP2*, mint a LA14.1 vonalban (4. ábra) mégsem mutattak növekedésbeli különbséget. Ezért tehát egyelőre nem tudjuk biztosan, hogy a *PRLIP2* okozta-e a megfigyelt fenotípusos változásokat.



7. ábra: Az öntözött LA6.1 (a) LA14.1 (b) és Desirée (c) növények

Új tudományos eredmények

1. Megállapítottuk, hogy a *TPSI* transzgén expresszió javítja a burgonya szárazságtűrését, de fenotipikus, gumóhozam, metabolit és nyugalmi állapot változást okoz.
2. A metabolit analízis, az alkalmazott statisztikai módszerek segítségével, egyértelműen rámutatott arra, hogy az anyagcsere folyamatokat a legkisebb genetikai változások, a környezet és az élettani folyamatok előrehaladása egyaránt nagymértékben befolyásolja.
3. Burgonyában sikeresen expresszáztattuk az *Arabidopsis*-ban „priming” hatására expresszázó *PRLIP2* gént.
4. Kimutattuk, hogy a *PRPLIP2* gént a burgonyában megnyilvánítva kaphatunk olyan vonalakat, amelyek szárazság stressz körülmények között tovább megtartják leveleiket, de gumóhozamuk nem jobb, mint a kontrollé.
5. A *PRLIP2* gént erősen expresszázó gumókban feltételezhetően metabolikus és/vagy hormonális változások is vannak, mivel az ilyen gumókból kihajtott növények fejlődése elmarad a vad típusú növényekétől.

Következtetések és javaslatok

A *TPS1* expresszió hatása a burgonyára

1. A szárazság stressz nem teljesen egyformán befolyásolja a vad típusú és a *TPS1* gént expresszáló T1 és T2 transzgenikus növények leveleinek metabolit tartalmát:

- A VT növények leveleinek keményítő tartalma jóval magasabb volt optimális körülmények között, mint a T1 és T2 vonalaké.
- Szárazság hatására a VT növények leveleiben nagyon lecsökkent a keményítő mennyisége, míg a T1 és T2 vonalakban nem tapasztaltunk ilyen erős változást.
- A fruktóz, galaktóz és glükóz mennyisége csak a VT növények leveleiben nőtt szárazság hatására.

2. A szárazság stressz nem teljesen egyformán befolyásolja a vad típusú és a *TPS1* gént expresszáló T1 és T2 transzgenikus növények gumófejlődését és a gumók metabolit tartalmát

- A *TPS1* vonalak gumóhozama kisebb volt, de a szárazság hatására kevésbé csökkent, mint a VT-é.
- A *TPS1* vonalak gumói morfológiailag eltértek a VT növények gumóitól.
- A gumókban 33 metabolitot tudtunk detektálni. MANOVA statisztikai vizsgálat eredménye alapján a *TPS1* transzgen jelenléte következtében 13 vegyület mennyisége változott meg a gumókban.

3. A tárolás szinte teljesen egyforma hatással van a vad típusú és a *TPS1* gént expresszáló T1 és T2 transzgenikus növények gumóinak metabolit tartalmára

- A tárolás hatására a VT és *TPS1* transzgenikus gumókban egyaránt megemelkedett az aszparagin szint.
- Az optimális körülmények között fejlődött gumók mannóz és fenilalanin tartalma, a VT és *TPS1* transzgenikus gumókban egyaránt, megemelkedett a tárolás hatására, míg a stresszelt növények gumóiban

nem változott, vagy ellenkezőleg, inkább csökkent. A jelenség okát egyelőre nem ismerjük.

4. A *TPS1* gén expressziója befolyásolja a növények nyugalmi állapotát

- A *TPS1* vonalak gumói később kezdtek el csírázni, mint a VT gumók.
- A változások nagy része, tendenciáját tekintve, hasonló volt a tárolt *TPS1* és VT gumókban. Mivel a *TPS1* gumók jóval később kezdtek el csírázni, mint a VT gumók, úgy gondoljuk, hogy ezek a változások inkább a gumók „öregedésével”, és nem a csírázással hozhatók összefüggésbe.
- A gumók T6P tartalma nem mutatott szoros összefüggést a *TPS1* expresszióval.

DEBAST és munkatársai (2011) az erős, gumóspecifikus *B33* promóter segítségével nyilvánították meg az *E. coli* trehalóz-foszfát-szintáz génjét, az *OtsA*-t, a burgonyában. Ezek a *B33-OtsA* burgonyagumók is később csíráztak, mint a vad típus, viszont az *OtsA* expresszió szintje korrelált a gumók T6P tartalmával, amiből arra következtettek, hogy a T6P közvetlenül vagy közvetve, de befolyásolja a nyugalmi periódus hosszát. A mi kísérletünk eredményéből viszont az következik, hogy nincs szerepe a T6P-nak a gumók nyugalmi állapotának fenntartásában és a femotípusos változások nem a T6P szinttel, hanem magával a *TPS1*-gyel hozhatók összefüggésbe. Erre utalnak ANTAL és munkatársai (2013) eredményei is, melyek közvetett módon azt mutatják, hogy a *TPS1* kapcsolatba tud lépni az StubSNF1 protein kináz komplex StubGAL83 alegységével. Az SNF1 komplex a szén és nitrogén anyagcsere központi szabályozója (COELLO et al., 2011), egyensúlyának felborulása az anyagcsere, és ezzel összefüggésben, a fejlődés megváltozásához vezet. Ha tehát a jövőben biotechnológiai módszerekkel szeretnénk javítani a burgonya szárazságtűrő képességét, olyan gént kell választanunk, ami nem változtatja meg alapvetően az anyagcsere folyamatokat.

A *PRLIP2* expresszió hatása a burgonyára

- A *PRLIP2* gén expressziója nem tudja megvédeni a növények levelét a vízmegvonás okozta vízvesztéstől.
- A *PRLIP2* expresszió nem tudja megakadályozni a gumóhozam csökkenését stressz körülmények között.
- A *PRLIP2* expresszió a gumók nyugalmi állapotának hosszát nem befolyásolja.
- Öt kiültetett transzgenikus vonal közül kettő optimális körülmények között kisebbre nő, mint a kontroll, de kevésbé viseli meg a vízmegvonás, kevésbé kopaszodik fel, mint a kontroll.

Az RT-PCR vizsgálatok alapján azonban nem találtunk egyértelmű összefüggést a transzgén expresszió és a megváltozott fenotípus között. Mégis úgy gondoljuk, hogy az észlelt elváltozásokat a *PRLIP2* expresszió okozza, mivel annak valószínűsége, hogy öt megvizsgált, független transzgenikus vonalból kettő azonos, vagy legalább is nagyon hasonló fenotípust mutasson, rendkívül kicsi. Ezért az expressziós vizsgálatokat kvantitatív RT-PCR-rel számszerűsíteni kellene. Az is nagyon sokat segítené a kapott fenotípus megértésében, ha ki tudnánk mutatni, hogy a *PRLIP2*-nek lipáz aktivitása van, és ez korrelál valami módon a fenotípussal. Ez azért is érdekes lenne, mert *Arabidopsis*-ban a lipáz expressziót sok esetben kapcsolatba lehetett hozni a morfogenezissel (MATSUI et al., 2004; HONG et al., 2005), de megfigyelték aktivitásukat biotikus és abiotikus stressz-, valamint patogén fertőzés, etilén és szalicilsav kezelés során is (JAKAB et al., 2003; NARUSAKA et al., 2003; LO et al., 2004).

A mi munkánk újszerűsége abban áll, hogy a lipáz génekhez tartozó *PRLIP2* gént bevittük és megnyilvánítottuk burgonyában, és az így kapott transzgenikus növényeket üvegházi körülmények között teszteltük öntözött és szárazság stressznek kitett állapotban. Megállapítottuk, hogy két vonal, a levelek megtartását tekintve, ellenállóbbá vált a szárazsággal szemben, ami hasonló eredmény ahhoz, mint amit HONG és munkatársai (2008) kaptak a *CaGLIP1*

megnyilvánításával *Arabidopsis*-ban. A levelek megtartása a szárazság okozta korai szenescencia megakadályozására utal. Mivel ennek a két vonalnak a vegetatív fejlődése is lelassult, további vizsgálatuk érdekes összefüggések felismeréséhez vezethet a növekedés/fejlődés és a szenescencia tekintetében.

Irodalomjegyzék

ANTAL F, KONDRÁK M, KOVÁCS G, BÁNFALVI Z (2013): Influence of the StubSNF1 kinase complex and the expression of the yeast TPS1 gene on growth and tuber yield in potato. *Plant Growth Regul.*, 69, 51-61.p.

BRADFORD, M.M. (1976): A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72, 248-254. p.

BRUGIERE, N., DUBOIS, F., LIMAMI, A. M., LELANDAIS, M., ROUX, Y., SANGWAN, R. S., HIREL, B. (1999): Glutamine synthetase in the phloem plays a major role in controlling proline production. *The Plant Cell*, 11, 1995–2012. p.

COELLO, P., HEY, S.J., HALFORD, N.G. (2011): The sucrose non-fermenting-1-related (SnRK) family of protein kinases: potential for manipulation to improve stress tolerance and increase yield. *J. Exp. Bot.*, 62, 883-893. p.

CORTINA, C., CULIÁÑEZ-MACIÀ, F.A. (2005): Tomato abiotic stress enhanced tolerance by trehalose biosynthesis. *Plant Sci.*, 169, 75-82. p.

DEBAST, S., NUNES-NESE, A., HAJIREZAEI, M.R., HOFMANN, J., SONNEWALD, U., FERNIE, A.R., BÖRNKE, F. (2011): Altering Trehalose-6-Phosphate Content in Transgenic Potato Tubers Affects Tuber Growth and Alters Responsiveness to Hormones during Sprouting. *Plant Physiology*, Vol. 156, 1754–1771. p.

DEBLAERE, R., BYTEBIER, B., DE GREVE, H., DEBROEK, F., SCHELL, J., VAN MONTAGU, M., LEEMANS, J. (1985): Efficient octopine Ti plasmid derived vectors of *Agrobacterium* mediated gene transfer to plants. *Nucl. Acids Res.*, 13, 4777-4788. p.

DIETZE, J., BLAU, A. AND WILLMITZER, L. (1995) Agrobacterium-mediated transformation of potato (*Solanum tuberosum*). In *Gene Transfer to Plants* (Potrykus, I. és Spangenberg, G. szerk.). Berlin: Springer-Verlag, 24–29. p.

HONG, J.K., CHOI, H.W., HWANG, I.S., KIM, D.S., KIM, N.H., CHOI, D.U. S., KIM, Y.J., HWANG, B.K. (2008): Function of a novel GDSL-type pepper lipase gene, CaGLIP1, in disease susceptibility and abiotic stress tolerance. *Planta*, 227(3):539-558. p.

HONG, J.K., HWANG, B.K. (2005): Induction of enhanced disease resistance and oxidative stress tolerance by overexpression of pepper basic PR-1 gene in *Arabidopsis*. *Physiol Plant.*, 124:267–277. p.

HOOD, E.E., CHILTON, W.S., CHILTON, M.D., FRALEY, R.T. (1984): T-DNA and opine synthetic loci in tumors incited by *Agrobacterium tumefaciens* A281 on soybean and alfalfa plants. *J Bacteriol.*, 168(3):1283–1290. p.

INOUE, H., NOJIMA, H., OKAYAMA, H. (1990): High efficiency transformation of *Escherichia coli* with plasmids. *Gene*, 96, 23-28. p.

IORDACHESCU, M., IMAI, R. (2008): Trehalose biosynthesis in response to abiotic stresses. *Integr Plant Biol.*, 50: 1223–1229. p.

JAIN, N.K., ROY, I. (2009): Effect of trehalose on protein structure. *Protein Sci.*, 18: 24–36. p.

JAKAB, G., COTTIER, V., TOQUIN, V., RIGOLI, G., ZIMMERLI, L., MÉTRAUX, J.P., MAUCH-MANI, B. (2001): Beta-aminobutyric acid-induced resistance in plants. *Eur. J. Plant Pathol.*, 107:29-37. p.

JAKAB, G., MANRIQUE, A., ZIMMERLI, L., MÉTRAUX, J.P., MAUCH-MANI, B. (2003): Molecular characterization of a novel lipase-like pathogen-inducible gene family of *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 132:2230–2239. p.

JAKAB, G., TON, J., FLORS, V., ZIMMERLI, L., MÉTRAUX, J.P., MAUCH-MANI, B. (2005): Enhancing *Arabidopsis* salt and drought stress tolerance by chemical priming for its abscisic acid responses. *Plant Physiology*, 139, 267–274. p.

JEZEK, P., HLUSEK, J., LOSAK, T., JUZL, M., ELZNER, P., KRACMAR, S., MARTENSSON, A. (2011): Effect of foliar application of selenium on the content of selected amino acids in potato tubers (*Solanum tuberosum* L.). *Plant, Soil & Environment*, 57, 315-320. p.

KARIM, S., ARONSSON, H., ERICSON, H., PIRHONEN, M., LEYMAN, B., WELIN, B., MÄNTYLÄ, E., PALVA, E.T., VAN DIJCK, P., HOLMSTRÖM, K.O. (2007): Improved drought tolerance without undesired side effects in transgenic plants producing trehalose. *Plant Mol Biol*;64(4):371-86. p.

KONDRÁK, M., MARINCS, F., ANTAL, F., JUHÁSZ, Z., BÁNFALVI, Z. (2012): Effects of yeast trehalose-6-phosphate synthase 1 on gene expression and carbohydrate contents of potato leaves under drought stress conditions. *BMC Plant Biol.*, 30;12:74. p.

KONDRÁK, M., MARINCS, F., KALAPOŠ, B., JUHÁSZ, Z., BÁNFALVI, Z. (2011): Transcriptome analysis of potato leaves expressing the trehalose-6-phosphate synthase 1 gene of yeast. *PLoS One*. 6(8):e23466

LEGAY, S., LEFÈVRE, I., LAMOUREUX, D., BARREDA, C., LUZ, R.T., GUTIERREZ, R., QUIROZ, R., HOFFMANN, L., HAUSMAN, J.F., BONIERBALE, M., EVERS, D., SCHAFLEITNER, R. (2011): Carbohydrate metabolism and cell protection mechanisms differentiate drought tolerance and sensitivity in advanced potato clones (*Solanum tuberosum* L.). *Funct Integr Genomics*, 11:275–291. p.

LUNN, J.E., FEIL, R., HENDRIKS, J.H., GIBON, Y., MORCUENDE, R., OSUNA, D., SCHEIBLE, W.R., CARILLO, P., HAJIREZAEI, M.R., STITT, M. (2006): Sugar-induced increases in trehalose 6-phosphate are correlated with redox activation of ADPglucose pyrophosphorylase and higher rates of starch synthesis in *Arabidopsis thaliana*. *Biochemical Journal*, 397, 139-148. p.

MAGGIO, A., CARILLO, P., BULMETTI, G.S., FUGGI, A., BARBIERI, G., DE PASCALE, S. (2008): Potato yield and metabolic profiling under conventional and organic farming. *Europ. J. Agronomy*, 28, 343–350. p.

MATSUI, K., FUKUTOMI, S., ISHII, M., KAJIWARA, T. (2004): A tomato lipase homologous to *DAD1* (*LeLID1*) is induced in post-germinative growing stage and encodes a triacylglycerol lipase. *FEBS Lett.*, 569:195–200. p.

MIRANDA, J.A., AVONCE, N., SUÁREZ, R., THEVELEIN, J.M., VAN DIJCK, P., ITURRIAGA, G. (2007): A bifunctional TPS-TPP enzyme from yeast confers tolerance to multiple and extreme abiotic-stress conditions in transgenic *Arabidopsis*. *Planta*, 226, 1411-1421. p.

NARUSAKA, Y., NARUSAKA, M., SEKI, M., FUJITA, M., ISHIDA, J., NAKASHIMA, M., ENJU, A., SAKURAI, T., SATOU, M., KAMIYA, A., PARK, P., KOBAYASHI, M., SHINOZAKI, K. (2003): Expression Profiles of

Arabidopsis Phospholipase A IIA Gene in Response to Biotic and Abiotic Stresses. *Plant Cell Physiol.* (11):1246-52. p.

PRIME-A-PLANT GROUP: CONRATH, U., BECKERS, G.J.M., FLORS, V., GARCÍA-AGUSTÍN, P., JAKAB, G., MAUCH, F., NEWMAN, M.A., PIETERSE, C.M.J., POINSSOT, B., POZO, M.J., PUGIN, A., SCHAFFRATH, U., TON, J., WENDEHENNE, D., ZIMMERLI, L., MAUCH-MANI, B. (2006): Priming: Getting Ready for Battle, *The American Phytopathological Society*, Vol. 19, No. 10, 1062–1071. p.

SAMBROOK, J., FRITCH, E.F., MANIATIS, T. (1989): *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd ed., Cold Spring Harbor, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

SCHAUER, N., ZAMIR, D., FERNIE, A.R. (2004): Metabolic profiling of leaves and fruit of wild species tomato: a survey of the *Solanum lycopersicum* complex. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 56, No. 410.

SHURE, M ., WESSLER, S ., AND FEDOROFF, N . (1983): Molecular identification and isolation of the Waxy locus in maize, *Cell*, 35, 225-233. p.

STIEKEMA, W.J., HEIDKAMP, F., DIRKSE, W.G., VAN BECKUM, J., DE HAAN, P., BOSH, T., LAUWERSE, J.D. (1988): Molecular cloning and analysis of four tuber specific mRNAs. *Plant Mol. Biol.*, 11, 255-269. p.

STILLER, I., DULAI, S., KONDRÁK, M., TARNAI, R., SZABÓ, L., TOLDI, O., BÁNFALVI, Z. (2008): Effects of drought on water content and photosynthetic parameters in potato plants expressing the trehalose-6-phosphate synthase gene of *Saccharomyces cerevisiae*. *Planta*, 227 299–308. p.

TEIXEIRA, J., PEREIRA, S. (2007): High salinity and drought act on an organ-dependent manner on potato glutamine synthetase expression and accumulation. *Environmental & Experimental Botany*, 60, 121-126. p.

YEO, E.T., KWON, H.B., HAN, S.E., LEE, J.T., RYU, J.C., BYUN, M.O. (2000): Genetic engineering of drought resistant potato plants by introduction of the trehalose-6-phosphate synthase (TPS1) gene from *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Cells*, 10, 263-268. p.

YU, T.S, KOFLER, H., HAUSLER, R.E, HILLE, D., FLÝGGGE, U.I., ZEEMAN, S.C., SMITH, A.M., KOSSMANN, J., LLOYD, J., RITTE, G., STEUPE, M., LUEA, W-L., CHEN, J., WEBER, A. (2001) The *Arabidopsis* *sex1* mutant is defective in the R1 protein, a general regulator of starch

degradation in plants, and not in the chloroplast hexose transporter. *Plant Cell*,13:1907-1918. p.

SAJÁT KÖZLEMÉNYEK

Publikációk referált folyóiratokban

1. Kondrák M, Marincs F, Kalapos B, **Juhász Z**, Bánfalvi Z (2011) Transcriptome analysis of potato leaves expressing the *trehalose-6-phosphate synthase 1* gene of yeast. PLoS ONE 6(8): e23466 doi: 10.1371/journal.pone.0023466

IF: 4.411, Cit: 9

2. Kondrák M, Marincs F, Antal F, **Juhász Z**, Bánfalvi Z (2012) Effects of yeast trehalose-6-phosphate synthase 1 on gene expression and carbohydrate contents of potato leaves under drought stress conditions. BMC Plant Biology 12:74 doi: 10.1186/1471-2229-12-74

IF: 4.09, Cit: 7

3. **Juhász Z**, Dancs G, Marincs F, Vossen M, Allefs S, Bánfalvi Z (2014) Vitamin C, B5, and B6 contents of segregating potato populations detected by GC-MS: a method facilitating breeding potatoes with improved vitamin content. Plant Breeding 133: 515-520 doi: 10.1111/pbr.12169)

IF: 1.338, Cit: 0

4. Uri C, **Juhász Z**, Polgár Z, Bánfalvi Z (2014) A GC-MS-based metabolomics study on the tubers of commercial potato cultivars upon storage. Food Chemistry 159: 287-292 doi: 10.1016/j.foodchem.2014.03.010

IF: 3.259, Cit: 1

5. **Juhász Z**, Balmer D, Sós-Hegedűs A, Vallat A, Mauch-Mani B, Bánfalvi Z (2014) Effects of drought stress and storage on the metabolite and hormone contents of potato tubers expressing the yeast *trehalose-6-phosphate synthase 1* gene. Journal of Agricultural Science 6: 142-166 doi: 10.5539/jas.v6n5p142

IF: 2.891, Cit: 0

6. Sós-Hegedűs A, **Juhász Z**, Poór P, Kondrák M, Antal F, Tari I, Mauch-Mani B, Bánfalvi Z (2014) Soil drench treatment with β -aminobutyric acid increases drought tolerance of potato. PLoS ONE 9(12): e114297. doi: 10.1371/journal.pone.0114297

IF: 3.534, Cit: 0

Konferencia kiadványok

1. **Juhász Z**, Kocsy G, Galiba G, Bánfalvi Z (2012) Metabolic changes in a *VRN-1* mutant wheat line. Proceedings of the 11th Alps-Adria Scientific Workshop, Smolenice, Slovakia, 26th-31st March, Harscsa M (ed), Növénytermelés Suppl. 5 pp. 443-446. doi: 10.1556/Novenyterm.61.2012.Suppl.5
2. **Juhász Zs**, Boldizsár Á, Kocsy G, Marincs F, Galiba G, Bánfalvi Zs (2014) A búza 5A kromoszómája által befolyásolt metabolit változások a hideghez való alkalmazkodás és a vegetatív/generatív átmenet idején. XX. Növénynevelési Tudományos Nap, Budapest, 2014. márc. 18., Növénynevelés a megújuló mezőgazdaságban c. könyv, szerk.: Veisz O., kiadó: MTA Agrártudományok Osztályának Növénynevelési Tudományos Bizottsága, 210-214. old.

Konferencia összefoglalók

1. **Juhász Z**, Kondrák M, Marincs F, Bánfalvi Z (2010) Transcriptional and metabolic changes in drought tolerant potato expressing the *TPS1* gene of yeast. Advances in Metabolic Profiling, Firenze, Italy, November 9-10, Abstract p. 119
2. **Juhász Zs**, Bánfalvi Zs (2011) A *TPS1* gént expresszáló, szárazságtűrő burgonya vonalak gumóinak metabolit vizsgálata. XVII. Növénynevelési Tudományos Napok, Budapest, április 27, Összefoglaló 106. old.

3. Kondrák M, Marincs F, **Juhász Zs**, Antal F, Bánfalvi Zs (2011) A *TPSI* gént expresszáló, szárazságtűrő burgonya vonalak leveleinek transzkripció és metabolikus jellemzése. XVII. Növénynevelési Tudományos Napok, Budapest, április 27, Összefoglaló 107. old.
4. Kondrák M, Marincs F, Antal F, **Juhász Z**, Bánfalvi Z (2012) Molecular changes elicited by drought stress in *TPSI*-expressing potato plants. Plant Abiotic Stress Tolerance, International Conference, Vienna, Austria, February 22-25, Abstract p. 63
5. **Juhász Zs**, Kocsy G, Galiba G, Bánfalvi Zs (2012) A búza *Vrn-1* génjének szerepe a vegetatív/reproduktív átmenet metabolikus folyamataiban. XVIII. Növénynevelési Tudományos Napok, Budapest, március 6, Összefoglaló 92. old.
6. **Juhász Z**, Balmer D, Mauch-Mani B, Bánfalvi Z (2012) Metabolic and hormonal changes in tubers of drought tolerant potato plants expressing the *TPSI* gene of yeast. Advances in Plant Breeding and Plant Biotechnology in Central Europe, Pannonian Plant Biotechnology Workshops, Debrecen, June 4-6, Abstract p. 45-46
7. Kondrák M, Marincs F, Antal F, **Juhász Z**, Bánfalvi Z (2012) Transcriptional and metabolic changes elicited by drought stress in *TPSI*-expressing potato leaves. Advances in Plant Breeding and Plant Biotechnology in Central Europe, Pannonian Plant Biotechnology Workshops, Debrecen, June 4-6, Abstract p. 47-48
8. Sós-Hegedűs A, **Juhász Z**, Antal F, Kondrák M, Mauch-Mani B, Bánfalvi Z (2012) Chemical priming for drought tolerance in potato. 9th Solanaceae Conference, Neuchatel, Switzerland, August 26-30, Abstract p. 185
9. Bánfalvi Z, **Juhász Z**, Dancs G, Marincs F, Vossen M, Allefs S (2012) Vitamin C, B5, and B6 contents of segregating diploid potato

populations. 9th Solanaceae Conference, Neuchatel, Switzerland, August 26-30, Abstract p. 210

10. Bánfalvi Z, Kondrák M, **Juhász Z**, Sós-Hegedűs A, Marincs F, Stiller I, Balmer D, Mauch-Mani B (2013) Improving drought tolerance of potato. The 17th Joint Meeting of EAPR Breeding and Varietal Assessment Section EUCARPIA Section Potatoes, Hévíz, Hungary, June 30-July 4, Abstract p. 12
11. **Juhász Z**, Uri C, Polgár Z, Bánfalvi Z (2013) Metabolomics study on stored potato tubers of Hungarian potato cultivars. The 17th Joint Meeting of EAPR Breeding and Varietal Assessment Section EUCARPIA Section Potatoes, Hévíz, Hungary, June 30-July 4, Abstract p. 21.