Pannon Egyetem, Georgikon Kar, Keszthely

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

Festetics Doktori Iskola

Doktori iskola vezető: Dr. Anda Angéla

A stresszválasz és a fejlődés redox szabályozása búzában és lúdfűben

DOI:10.18136/PE.2017.649

Témavezető: Dr. Kocsy Gábor tudományos tanácsadó

Készítette:

Gulyás Zsolt

Keszthely, 2017.

Magyar Tudományos Akadémia, Agrártudományi Kutatóközpont, Mezőgazdasági Intézet

A STRESSZVÁLASZ ÉS A FEJLŐDÉS REDOX SZABÁLYOZÁSA BÚZÁBAN ÉS LÚDFŰBEN

Értekezés doktori (PhD) fokozat elnyerése érdekében

Írta:

Gulyás Zsolt

Készült a Pannon Egyetem Georgikon Kar Festetics Doktori Iskolája keretében.

Témavezető: Dr. Kocsy Gábor tudományos tanácsadó

Elfogadásra javaslom: igen/nem

Aláírás

A jelölt a doktori szigorlaton%-ot ért el,

Az értekezést bírálóként elfogadásra javaslom:

Bíráló neve:	igen/nem	
		Aláírás
Bíráló neve:	igen/nem	

Aláírás

***Bíráló neve:	igen/nem	
		Aláírás

A jelölt az értekezés nyilvános vitáján%-ot ért el.

Keszthely, 2017.

a Bíráló Bizottság elnöke

A doktori (PhD) oklevél minősítése:

.....

az EDTH elnöke

TARTALOMJEGYZÉK

1. RÖVIDÍT	ÉSJEGYZÉK	4
2. ABSZTRA	٨KT	6
3. ABSTRAC	CT	7
4. AUSZUG		8
5. BEVEZET	ÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK	9
6. IRODALN	1I ÁTTEKINTÉS	11
6.1. A rec	lox homeosztázis fenntartása növényekben	11
6.1.1. Rea	aktív oxigénformák	11
6.1.2. A r	növényi antioxidáns rendszer	12
6.1.3. A k	edvezőtlen környezeti viszonyok hatására kialakuló oxidatív stressz	16
6.2. A hie	leg akklimatizáció és a virágzás redox szabályozása	17
6.2.1. Az	alacsony hőmérsékleti stressz és a hideg akklimatizáció	17
6.2.2. A v	vernalizáció molekuláris háttere	18
6.2.3. A r	edox szabályozás szerepe a fagytűrésben és a virágzásban	19
6.3. A sz	abad aminosavak szerepe a stresszválaszban és kapcsolatuk a redox szabályozással	20
6.3.1. Az	aminosavak szerepe a növényekben	20
6.3.2. A r	edox rendszer és az aminosav anyagcsere kapcsolata	24
7. ANYAGO	K ÉS MÓDSZEREK	25
7.1. Növe	énynevelés és kezelések	25
7.2. Az a	szkorbinsav-tartalom meghatározása	27
7.3. A tio	lok mérése	27
7.4. A hie	drogén peroxid koncentrációjának meghatározása	28
7.5. Az io	onkiáramlás mérése	29
7.6. A sza	abad aminosav- és a fehérjetartalom meghatározása	29
7.7. A ha	jtáscsúcs fejlettségi állapotának vizsgálata	30
7.8. Totá	l ROS-ok detektálása hajtáscsúcsban	30
7.9. Géne	expressziós vizsgálatok kvantitatív valósidejű PCR-rel (qRT-PCR)	31
7.10. Stat	isztikai elemzés	31
8. EREDMÉ	NYEK	32
8.1. A rec	dox szabályozás szerepe a hideg akklimatizáció és a virág primordium kezdeti	
fejlődése	során búzában	32
8.1.1. A t	iolok mennyiségének és redukciós potenciáljának változásai	32

	8.1.2. A kezelések hatása a növények friss tömegére	35
	8.1.3. A fagytűrést befolyásoló gének redox szabályozása	36
	8.1.4. A virágkezdemény kezdeti fejlődését szabályozó gének expressziós változásai	38
	8.1.5. A kezelések hatása a fagytűrésre	40
	8.1.6. A kezelések hatása a virág primordium kezdeti fejlődésére és a hajtáscsúcsok totál ROS-ok akkumulációjára	42
	8.2. A szabad aminosavak mennyiségének redox szabályozása lúdfűben	44
	8.2.1. Az aszkorbát és a glutation mennyiségének és redox állapotának változásai	44
	8.2.2. A kezelések hatása a hidrogén-peroxid tartalomra	47
	8.2.3. A redox kezelések hatása az oldható fehérjetartalomra	48
	8.2.4. A redox kezelések hatása a szabad aminosav szintekre	49
	8.2.5. A prolin anyagcseréhez kötődő gének redox szabályozása	56
9. N	MEGVITATÁS ÉS KÖVETKEZTETÉSEK	58
	9.1. A fagytűrés és a virág primordium kezdeti fejlődésének redox szabályozása búzában	58
	9.1.1. A tiolok redox állapotának módosítása	58
	9.1.2. A fagytűrés redox szabályozása	60
	9.1.3. A virág primordium kezdeti fejlődésének redox szabályozása	64
	9.2. A szabad aminosavak mennyiségének redox szabályozása lúdfűben	66
	9.2.2. Az aszkorbát- és glutation-függő redox változások hatása a szabad aminosavakra	67
	9.2.3. A glutaminsav családba tartozó aminosavak redox szabályozása	69
10.	ÖSSZEFOGLALÁS	71
	10.1. A fagytűrés és a virágkezdemény kezdeti fejlődésének redox szabályozása búzában	71
	10.2. A szabad aminosavak redox szabályozása lúdfűben	72
11.	ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK (TÉZISEK)	73
12.	NEW RESULTS (THESES)	74
13.	IRODALOMJEGYZÉK	75
14.	PUBLIKÁCIÓS TEVÉKENYSÉGEK	87
15.	KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	92
16	MELLÉKLETEK	

1. RÖVIDÍTÉSJEGYZÉK

Aaa	α -aminoadipic acid (α -amino-adipinsav)
ABA	abscisic acid (abszcizinsav)
APSR	adenozin-5'-foszfoszulfát reduktáz
AsA	ascorbic acid (aszkorbinsav)
CAB	Ca-binding protein (kalcium-kötő fehérje)
CBF14	C-repeat binding transcription factor14 (C-ismétlődés kötő transzkripciós faktor 14)
Ch	Triticum ae. ssp. aestivum cv. Cheyenne
COR14b	Cold-Regulated 14B (hideg indukálható gén)
CyS	cisztein
CySS	cisztin
Cysta	cisztation
Cys-Gly	ciszteinil-glicin
CySS-Gly	cisztinil-glicin
DHA	dehidro-aszkorbinsav
DTT	ditiotreitol
E _{Cys/CySS}	cisztein/cisztin redukciós potenciálja
$E_{hmGSH/hmGSSG}$	hidroximetil-glutation/hidroximetil-glutation diszulfid redukciós potenciálja
E _{GSH/GSSG}	glutation/glutation-diszulfid redukciós potenciálja
FKF1	FLAVIN-BINDING KELCH-REPEAT-BOX1 (Flavin-kötő Kelch- ismétlődés-Box1) fehérje
hmGSH	hidroximetil-glutation
hmGSSG	hidroximetil-glutation-diszulfid
γ-EC	γ-glutamil-cisztein
γ-ESSE	γ-glutamil-cisztin
GSH	glutation
GSSG	glutation-diszulfid
NCED1	9-cisz-epoxikarotenoid dioxigenáz 1

NF-YB	Nuclear factor YB (Sejtmagi faktor YB)
NPAAs	Non-Protein Amino Acids (fehérjét nem kódoló aminosavak)
OAT	ornitin-aminotranszferáz
OXS2	OXIDATÍV STRESSZ 2 fehérje
PDH	prolin dehidrogenáz
P5CR	Δ-1-pirrolin-5-karboxilát reduktáz
P5CDH	Δ-1-pirrolin-5-karboxilát dehidrogenáz
P5CS1	Δ-1-pirrolin-5-karboxilát szintáz 1
P5CS2	Δ-1-pirrolin-5-karboxilát szintáz 2
PEG	polietilén glikol
ROS	Reactive Oxygen Species (reaktív oxigénszármazék)
sAPX1	sztróma aszkorbát-peroxidáz 1
Tsp	Triticum aestivum ssp. spelta
VRN1	vernalizációs gén 1
ZCCT	ZINC-FINGER/CONSTANS (Cink-ujj/Konstans), CONSTANS-LIKE, TOC1 domén virágzás gátló fehérje

2. ABSZTRAKT

Kísérleteink célja a stresszválasz és fejlődés redox szabályozásának vizsgálata volt búzában és lúdfűben. Az egyik kísérleti rendszerben a redox és az ozmotikus kezelések fagytűrésre és a virágprimordium kezdeti fejlődésére gyakorolt hatását hasonlítottuk össze őszi (Triticum aestivum ssp. aestivum L. cv. Cheyenne, Ch) és tavaszi (Triticum aestivum L. ssp. spelta; Tsp) búzában. A fagytűrő Ch esetében a vizsgált tiolok oxidált formáinak mennyisége és redukciós potenciálja megnövekedett a 3 napig tartó vegyszeres kezelést követően 20/17°C-on, míg Tsp-nél ezt csak a kombinált (vegyszer+hideg) kezelés után tapasztaltuk. Az alkalmazott kezelések hatására a Ch hajtások és gyökerek friss tömege nem változott, míg a fagytűrésük növekedett 4 nap hidegkezelést követően (5°C). Ezzel szemben a Tsp hajtások friss tömege növekedett, míg fagytűrése nem változott. A különböző redox és ozmotikus kezelések a virágzásgátló ZCCT2 gén kifejeződését eltérően befolyásolták az őszi (Ch) és a tavaszi (Tsp) genotípusban. Eredményeink alapján feltételezzük, hogy a magasabb ZCCT2 expresszió Ch-ben a hideg indukálható gének (COR14b, CBF14, sAPX1) aktiválásával, míg az alacsonyabb kifejeződése Tsp-ben a virágprimordium kezdeti fejlődését szabályozó gének (VRN1, ZCCT2, FKF1) indukciójával függ össze.

A másik kísérleti rendszerben pedig a stresszválaszban és az anyagcserében fontos szerepet játszó szabad aminosavak mennyiségének redox szabályozását tanulmányoztuk vad típusú (Columbia, Col-0), glutation- (*pad2-1*) és aszkorbinsav-hiányos (*vtc2-1*) lúdfű mutánsokban (*Arabidopsis thaliana* L.). Az összes szabad aminosav mennyiségét jelentősen megnövelte az AsA-, a GSH- és a H₂O₂-kezelés mindhárom genotípusban. Ezek közül kiemelkedő hatása volt a GSH kezelésnek a *pad2-1* mutánsban a kezeletlen vadtípushoz képest, mely az aminosav anyagcsere enzimeit érintő tiol/diszulfid konverzióval vagy a (de)glutationálással magyarázható. Az aminosav koncentráció jelentős növekedése főleg a fehérjét nem kódoló aminosavak közé tartozó α -amino-adipinsav koncentrációjának a többszörös megemelkedésével magyarázható. A legtöbb kezelés növelte a szabad prolin mennyiségét, amit a szintézisében illetve lebontásában szerepet játszó fontos gének kifejeződésének változása eredményezett.

3. ABSTRACT

Redox regulation of stress response and development in wheat and Arabidopsis

In our study, redox regulation of stress response and development was investigated in wheat and Arabidopsis. The effect of redox and osmotic treatments on freezing tolerance and on initial development of flower primordia was compared in winter (Ch) and spring (Tsp) wheat. The treatments induced different adaptation strategies in the two genotypes: growth of the freezing tolerant Ch slowed down and its freezing tolerance increased while growth and initial development of the flower primordia sped up in the freezing sensitive Tsp. In another experiment, redox regulation of free amino acid accumulation was studied in wild type plants, glutathione- (*pad2-1*) and ascorbate-deficient (*vtc2-1*) mutants. AsA, GSH and H_2O_2 treatments have major/considerable effect on the investigated 28 amino acids in all genotypes. Based on our results, a GSH-mediated redox regulation of free amino acid levels can be supposed in Arabidopsis.

4. AUSZUG

Die Entwicklung und die Stress-Reaktion von der Redox Regulierung in Weizen und in Arabidopsis

Die Entwicklung und die Stress-Reaktion von der Redox Regulierung wurden in Weizen und in Arabidopsis untersucht. Die Wirkung der Behandlungen auf die Frosttoleranz und die frühe Ausbildung der Blumenanlage wurden in Winter- und Sommerweizen verglichen. Das Wachstum von der frosttoleranten Ch hat sich verlangsamt und die Frosttoleranz ist gewachsen. Das Wachstum und die frühe Ausbildung von der Blumenanlage der frostempfindlichen Tsp haben sich aber beschleunigt. In dem anderen Experiment wurden die Redox-Regulierung der Menge der freien Aminosäuren im Wildtypus von Arabidopsis, im glutation- und askorbinsäure-defitienten Arabidopsis Mutanten studiert. Die AsA-, GSH- und H₂O₂. Behandlungen haben grosse Wirkung auf die untersuchten 28 Aminosäuren in allen Genotypen ausgeübt. Auf Grund unserer Ergebnissen kann die GSH vermittelte Redox-Reguliering von freien Aminosäuren in Arabidopsis vorausgesetzt werden.

5. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK

A termesztett növények nélkülözhetetlenek az emberiség számára az élelmezésben és az iparban betöltött szerepük miatt. Az éghajlatváltozás következtében egyre inkább ki vannak téve a különböző stresszhatásoknak, különösen a szélsőséges hőmérsékletnek és vízellátásnak, melyek a közép-európai térségben is előfordulnak. Az abiotikus stresszhatások különféle fiziológiai, morfológiai, biokémiai és molekuláris változásokat idéznek elő a növényekben, amelyek kedvezőtlenül hatnak a növekedésre és a fejlődésre. Ennek következtében csökken a termés. Ez a veszteség a gabonafélék esetében, melyek a legfőbb élelmiszer-, takarmány- és nyersanyagforrások világszerte, több millió kilogramm évente. Így világszerte kiemelkedő szerepet kap a különféle környezeti stresszek növényekre gyakorolt hatásának teljes körű megismerése a jövő élelmiszerbiztonságának megteremtése szempontjából.

A búza, mely a mérsékelt égöv fő gabonaféléje, több ezer éve az emberiség egyik legfontosabb élelmiszerforrása. Géncentruma a Fekete-tenger medencéje és Elő-Ázsia, de nagyfokú adaptációs képessége miatt a világon igen széles körben elterjedt. Hazánkban a kukorica mellett a legjelentősebb gabonaféle, amely nagyjából 1,1 millió ha-t foglal el termőterületeinkből minden évben. A termőterületek döntő részén őszi búzát termesztenek, mivel 15-25%-kal nagyobb hozamot képesek elérni a tavaszi búzához képest. Az őszi búza esetében kiemelkedően fontos a megfelelő szintű fagytűrés és a vegetatív/generatív átmenet időzítése, hiszen az átmenet után a fagytűrés szintje csökken és a virágkezdemények különösen érzékenyek. Az alacsony hőmérsékleti stressz túléléséhez és a megfelelő mértékű fagytűrés eléréséhez a búzának szüksége van egy hosszabb alacsony hőmérsékletű fázisra, a hidegedzés időszakára, melyet ősszel a hőmérséklet fokozatos csökkenése biztosít.

Az alacsonyabbá váló hőmérséklet következtében változhat a növények belső redox környezete. A kismértékű, kontrollált változás a redox jelátviteli utakon hozzájárulhat az anyagcsere, növekedés és fejlődés új környezeti feltételekhez történő alkalmazkodást biztosító módosításához. A gyors, nagymértékű hőmérsékletcsökkenés azonban a redox felborulásához homeosztázis és reaktív oxigénformák mennyiségének a megnövekedéséhez vezethet. Ezek károsítják a membránokat és a makromolekulákat. A reaktív oxigénformáknak a közömbösítését az antioxidáns hatású vegyületek

9

(aszkorbinsav, glutation) és enzimek (kataláz, glutation-reduktáz, aszkorbát-peroxidáz) végzik.

A búzával végzett kísérleteink mellett a modellnövényként ismert közönséges lúdfű (*Arabidopsis thaliana* L.) jó lehetőséget nyújtott az oxidatív stressz és a redox szabályozás tanulmányozására. A káposztafélék családjába tartozó lúdfű Európában, Ázsiában és Afrikában őshonos apró virágos növény. Rövid generációs ideje és kicsi genomja miatt, előszeretettel használják növénybiológiai és genetikai kutatásokban. Ebből következett, hogy 2000-ben a növények közül elsőként szekvenálták meg a teljes genomját. Habár mezőgazdasági szereppel nem rendelkezik, de a lúdfűvel végzett kutatások rengeteg információt szolgáltatnak a mezőgazdasági növényekkel végzett vizsgálatokhoz. Kísérleteinkben a lúdfüvet használtunk modellnövényként, hogy a redox szabályozás stresszválaszban, fejlődésben és aminosav anyagcserében betöltött szerepét vizsgáljuk.

Az értekezés fő célkitűzései:

- A fagytűrés és a virágkezdemény-fejlődés redox szabályozásának összehasonlítása egy őszi (Ch) és egy tavaszi (Tsp) búza genotípusban.
- 2. A hidegedződést és a virágzást befolyásoló gének redox érzékenységének összevetése a két genotípusban.
- 3. A szabad aminosav szintek feltételezett redox szabályozásának igazolása lúdfűben.
- 4. A prolin bioszintézisben és lebontásban résztvevő gének redox szabályozásának kimutatása lúdfűben.

6. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

6.1. A redox homeosztázis fenntartása növényekben

6.1.1. Reaktív oxigénformák

A növények az állatokhoz hasonlóan aerob szervezetek és oxigénre van szükségük a mitokondriális energiatermeléshez. Mindemellett a fotoszintézis során oxigén képződik, így a növényi sejteknek nagyobb oxigénkoncentrációval kell megbirkózniuk, mint az állati sejteknek. A növények fotoszintetizáló szöveteiben az oxigén koncentráció 260-280 µM, míg egy állati sejtben ez csupán 20-30 µM (Vanderkooi és mtsai. 1991). A molekuláris oxigén könnyen átalakulhat különféle toxikus, igen reaktív oxigénformákká (Reactive Oxygen Species, ROS), mint például szuperoxid-anion, szinglet oxigén, hidrogén-peroxid és hidroxil-gyök. Az egyik jelentős ROS forrás a sejtekben a mitokondrium, melyekben az elektronszállítási lánc bizonyos pontjaiban ROS-ok képződhetnek. A növényekben lévő mitokondriumok által termelt ROS-ok mennyisége jóval alacsonyabb, mint a másik útvonalon, a fotoszintézis során keletkező reaktív oxigénformák mennyisége (Foyer & Noctor 2009; Foyer & Noctor 2016). Ezeken a ROS-t termelő útvonalakon kívül, a peroxiszómákban is képződik hidrogén-peroxid a zsírsavak β-oxidációja során és a sejtfalban a NADPH-oxidáz tevékenysége révén keletkező szuperoxid-gyökből. A folyamatosan termelődő ROS-ok nagyon rövid életűek és agresszívek párosítatlan elektronjuknak köszönhetően. Elektronszerzés céljából reakcióba lépnek különféle molekulákkal, miközben a célmolekulák szerkezetében és funkciójában változásokat idéznek elő. A ROS-ok indukálhatják a nukleinsavak oxidációját és depolimerizációját, a peptid kötések hidrolízisét, karbonil- és szulfhidril-csoportok oxidációját a fehérjékben, csak úgy mint a membrán lipidek és poliszacharidok oxidációját (Halliwell 2006). A ROSok többféle folyamaton keresztül módosíthatják a fehérjéket alkotó aminosavakat, mely következtében a fehérjék konformációja és aktivitása megváltozhat. A fehérjék oxidációs átalakulása lehet reverzibilis vagy irreverzibilis folyamat. A leggyakrabban módosított aminosavak a fehérjékben, a kéntartalmú cisztein és metionin. A cisztein szulfhidril csoportja többféle átalakuláson mehet keresztül. Diszulfid hidakat alakíthatnak ki az SH csoportok egymással és más molekulákkal történő reakcióban. Ezek közül kiemelkedő a reverzibilis S-glutationiláció, amikor glutationnal kapcsolódik. Ugyancsak reverzibilis

folyamat a NO és a fehérjék SH csoportja közötti reakció, az S-nitroziláció. Ezen kívül lehetséges a tiolcsoportok irreverzibilis oxidációja szulfon- és szulfinsavvá. A másik kéntartalmú aminosav, a metionin oxidációja során metionin szulfoxid keletkezik, amelyet a metionin szulfoxid reduktáz képes visszaalakítani metioninná (Boguszewska-Mankowska és mtsai. 2015).

A ROS-ok sejtalkotókra gyakorolt kedvezőtlen tulajdonsága mellett egyre több bizonyíték van az anyagcserében jelátvivő molekulaként betöltött pozitív szerepükre (Dietz és mtsai. 2016; Gilroy és mtsai. 2014). Képesek aktiválni a védelmi útvonalakat és szabályozni a különböző fejlődési fázisokat a növények életében (Desikan és mtsai. 2005; Mittler és mtsai. 2004). Emellett kulcsszerepük van a programozott sejthalál indukálásában, amely egy genetikailag szabályozott folyamat a prokarióta és eukarióta szervezetekben egyaránt (De Pinto és mtsai. 2012).

6.1.2. A növényi antioxidáns rendszer

Kis molekulatömegű antioxidánsok

A ROS-ok mennyiségét és előfordulását a növények antioxidáns rendszere szabályozza, mely egy dinamikus belső egyensúlyt, az ún. redox homeosztázist tart fenn a növényi sejtekben. A reaktív oxigénformák közömbösítése történhet enzimatikus úton, illetve kis molekulatömegű, nem-enzimatikus antioxidánsok révén. Az antioxidánsok közül a gyakran a redox szabályozás "szíveként" emlegetett glutationnak és az aszkorbátnak (AsA) kiemelkedő szerepe van (Foyer & Noctor 2011; Jing és mtsai. 2016).

A glutation egy multifunkcionális metabolit, amely számos molekulával képes interakcióba lépni tiol/diszulfid átalakulás és (de)glutationálás révén. Ezen tulajdonságának köszönhetően részt vesz anyagcsere, jelátviteli és detoxifikáló folyamatokban, illetve a transzkripció és a fehérjék aktivitásának szabályozásában (Noctor és mtsai. 2012). A tiol/diszulfid átalakuláson alapuló interakciókban a redukált glutation (GSH) oxidálódik és glutation-diszulfid (GSSG) képződik, melyet a NADPH-függő glutation reduktáz (GR) alakít vissza redukált formává. A GSH és a GSSG mennyiségének és arányának változása befolyásolja a sejt redukálóképességét és a redox potenciált. A GSH/GSSG redoxpár redox potenciáljának változása jelzi az életképesség módosulását, ezért gyakran alkalmazzák

stresszmarkerként (Schafer & Buettner 2001). A glutation elektrondonorként szolgál a Sasszimilációban résztvevő adenozin-foszfoszulfát reduktáz (APSR) számára. A glutaredoxinok, melyek a redox jelátvitelben fontos szerepet töltenek be, szubsztrátként használják a glutationt (Rouhier és mtsai. 2008). Létfontosságú szerepét bizonyítja, hogy a nagymértékű glutationhiány embrió elhalást okoz lúdfűben (Cairns és mtsai. 2006). Mindemellett a glutation esszenciális a sejtosztódás során. Megfigyelték, hogy az alacsony glutation szint következtében a sejtciklus a G1 fázisban megállt lúdfű mutánsok gyökerében (Vernoux és mtsai. 2000). Diaz-Vivancos és munkatársai (2010) lúdfű sejtekkel végzett kutatásaik során bebizonyították, hogy a sejtosztódás korai fázisában (G₁ fázis) a citoplazmában lévő glutation nagy része a nukleuszba szállítódik. Feltételezhető, hogy az osztódó sejtek sejtmagjában lévő glutationnak fontos szerepe van az osztódó DNS védelmében, a sejtmagban lévő fehérjék aktivitásának szabályozásában tiol-diszuldid konverzió vagy glutationálás révén (García-Giménez és mtsai. 2013). A glutation egy tripeptid, melynek szintézise két ATP-függő lépésben valósul meg cisztein (Cys), glicin és glutamát felhasználásával (Rennenberg 1980). A szintézisben résztvevő enzimek közül az első lépést katalizáló y-glutamil-cisztein (y-EC) szintetázt a GSH1, a második lépést katalizáló glutation szintetázt pedig a GSH2 gén kódolja (May & Leaver 1994; Ullmann és mtsai. 1996). Hicks és mtsai (2007) bebizonyították, hogy a glutation bioszintézis első lépésében résztvevő glutamát-cisztein-ligáz redoxérzékeny. Egyes növényfajokban találtak glutation homológokat is, melyekben glicin helyett más aminosav található. Ilyen homológ a gabonafélékben előforduló hidroximetil-glutation (hmGSH), amelyben szerin van a glicin helyett.

A növények antioxidáns rendszerének másik fontos tagja az AsA, amely a másik két jelentős redox molekulával, a glutationnal és a NADPH-val együtt egy ciklusban, az aszkorbát-glutation (AsA-GSH ciklus) útvonalon végzi a H₂O₂ közömbösítését (1. ábra) (Noctor & Foyer 1998). A ciklus során a H₂O₂-ot vízzé redukálja az aszkorbát-peroxidáz (APX) aszkorbátot használva elektrondonorként. A keletkező monodehidroaszkorbát (MDHA) gyors átalakuláson megy keresztül, és aszkorbát valamint dehidroaszkorbát (DHA) keletkezik. A DHA regenerálása aszkorbáttá a glutation segítségével történik, miközben glutation-diszulfid keletkezik. A GSSG redukálását a GR végzi NADPH-t használva elektron-donorként. A ciklus elemei egyaránt megtalálhatók a citoszolban, a mitokondriumban, a peroxiszómákban és a kloroplasztiszban, így az AsA-GSH ciklus

kulcsfontosságú szerepet tölt be a H₂O₂ közömbösítésében (Jimenez és mtsai. 1998; Mittler & Zilinskas 1994).



1. ábra. Az aszkorbát-glutation ciklus. ASC: aszkorbát, GSH: redukált glutation, GSSG: oxidált glutation, APX: aszkorbát-peroxidáz, MDHA: monodehidroaszkorbát, MDHAR: monodehidroaszkorbát reduktáz, DHAR: dehidroaszkorbát, GR: glutation reduktáz (Locato és mtsai. 2013.).

Az AsA antioxidáns szerepén kívül olyan esszenciális enzimek kofaktora, melyek az abszcizinsav (Qin & Zeevaart 1999), a gibberelin (Arrigoni & De Tullio 2000) és az antociánok (Britsch és mtsai. 1993) szintézisében vesznek részt. Hatással van a sejtek növekedésére és a sejciklusra is. Megfigyelték, hogy a sejtosztódás szempontjából inaktív nyugalmi központ sejtjeiben nagyon kevés aszkorbinsav található, ami a magasabb aszkorbát-oxidáz aktivitással magyarázható (Kerk & Feldman 1995). A külsőleg hozzáadott aszkorbinsav hatására a sejtciklus a G1 fázisból az S fázisba lép, míg dehidroaszkorbinsav hatására a sejtciklus megáll a G1 fázisban (Liso és mtsai. 1988). Transzgénikus dohányban kimutatták, hogy az aszkorbinsav szintjének csökkenése lassította a sejtosztódást (Kato & Esaka 1999). A növény fejlődésében és növekedésében szerepet játszó aszkorbinsav a virágzást is befolyásolja. Aszkorbát-hiányos lúdfű mutánsoknál korai virágzást figyeltek meg (Kotchoni és mtsai. 2009).

Antioxidáns enzimek

A ROS szintjének szabályozásában a kis molekulatömegű antioxidánsokon kívül számos enzim is részt vesz. Az antioxidáns enzimek közül a legfontosabbak a szuperoxiddiszmutáz (SOD), a kataláz (CAT) és a peroxidázok (Gill and Tuteja 2010), valamint az AsA-GSH ciklus korábban említett enzimei. A szuperoxid-diszmutáz a szuperoxid közömbösítését végzi, miközben H₂O₂ és oxigén keletkezik. A CAT a H₂O₂-ot bontja vízre és oxigénre. A peroxidázok a H₂O₂-ot redukálják vízzé különféle elektron donorok használatával. A glutation peroxidázok jellemzően minden élőlényben előfordulnak és elektron donorként glutationt használnak, míg a fotoszintetizáló szervezetekben az egyik jelentősebb peroxidáz az APX (Margis és mtsai. 2008). Mindezeken túl a redox homeosztázis fenntartásában és a ROS-ok közömbösítésében más fehérjék is részt vesznek, mint például a peroxiredoxinok, a glutaredoxinok és a tioredoxinok (Kalinina és mtsai. 2008; Dietz és mtsai. 2006).

A glutaredoxinok elsősorban fehérjék diszulfid kötéseit redukáljak miközben 2 GSH molekulából egy GSSG keletkezik. Ezen kívül néhany glutaredoxin képes katalizálni a fehérjék S-(de)glutationilációját. A szárazföldi növényekben igen nagyszámú glutaredoxin található, melyeket három osztályba sorolnak be, attól függően, hogy milyen aminosav motívumok találhatók az aktív részén (Rouhier 2010). A peroxiredoxinok központi elemei az antioxidáns rendszernek, hiszen képesek közömbösíteni a hidrogénperoxidot, a peroxinitritet és az alkil-peroxidot növényekben. A redukciós lépést követően thioredoxinokat, glutaredoxinokat, glutationt és aszkorbinsavat használnak elektrondonorként a regenerálódásukhoz (Dietz 2011). Egy másik fontos antioxidáns enzimcsoport a tioredoxinok, melyek tiol-diszulfid átalakulásokon keresztül vesznek részt a sejtek redox homeosztázisának fenntartásában. Növényekben a tioredoxin rendszer komplexitását jelzi, hogy lúdfűben 20 izoformáját azonosították (Meyer és mtsai. 2002). Mindezentúl a "klasszikus" tioredoxinokon kívül számos fehérjében találtak tioredoxinokra jellemző doméneket.

15



2. ábra. A redox homeosztázis és jelátvitel. A nem-enzimatikus komponensek redox potenciálja az ábra jobb oldalán látható. Optimális körülmények között a glutation és aszkorbát redukált formáinak aránya igen magas, amelyek képesek pufferelni az oxidázok és az elektron transzportban részt vevő komponensek által termelt ROS-ok mennyiségét. TRX: tioredoxin, GRX: Glutaredoxin. (Foyer és mtsai. 2005. nyomán újrarajzolva).

A redox homeosztázis fenntartása növényekben a ROS-ok és antioxidánsok folyamatos interakcióján alapszik, amelyben a folyamatosan képződő reaktív szabadgyökök, kis molekulatömegű redox pufferek és enzimek is részt vesznek (2. ábra). A ROS-antioxidáns rendszer a redoxállapot szabályozása révén részt vesz a környezetből és az anyagcsere folyamatokból érkező információk feldolgozásában, továbbításában és a növény fejlődésének szabályozásában (Foyer & Noctor 2005).

6.1.3. A kedvezőtlen környezeti viszonyok hatására kialakuló oxidatív stressz

A növényeket életük során számos különböző stresszhatás éri. A növényeknél a stressz fogalmát először Larcher (1987) határozta meg. Az ő meghatározásában a stressz egy olyan terheléses állapot, amelyben a növények fokozott terhelése az ellenállóság növekedéséhez vezet, majd a tűréshatár túllépésekor tartós károsodást okoz vagy akár letális is lehet. A stresszt különféle stressztényezők (stresszorok) okozzák, melyeket abiotikus és biotikus stresszként, illetve természetes tényezőkként és antropogén faktorokként csoportosíthatunk (Szigeti 1998). Az abiotikus stressztényezők közé tartozik a nagy fényintenzitás, UV-sugárzás, az extrém alacsony illetve magas hőmérséklet, a tápanyag- és vízhiány és a magas sókoncentráció (Boldizsár és mtsai. 2013; Jing és mtsai. 2016; Colling és mtsai. 2016; Kocsy és mtsai. 2001). Ezek oxidatív stresszt idéznek elő, mely egy komplex kémiai és fiziológiai jelenség, amely során különféle abiotikus és biotikus stresszhatások következtében a ROS-ok mennyisége megnő, a redox homeosztázis felborul és a sejtekben az oxidált formák kerülnek túlsúlyba (Bartosz 1997). A stressz hatására lényeges anyagcsere változások következnek be a növényekben, melyek indukálják a növény redox rendszerének dinamikus válaszreakcióját, ilyen módon alkalmazkodva a kialakult kedvezőtlen környezethez.

6.2. A hideg akklimatizáció és a virágzás redox szabályozása

6.2.1. Az alacsony hőmérsékleti stressz és a hideg akklimatizáció

Az abiotikus stresszhatások jelentős terméskiesést okoznak a világ mezőgazdaságában minden évben. A hőmérséklet az egyik legmeghatározóbb környezeti tényező a mérsékelt öv gabonatermesztésében, mely nagymértékben befolyásolja a fejlődést és a termés mennyiségét (Kosová és mtsai. 2011). A legjelentősebb mérsékelt éghajlaton termesztett gabona az őszi búza, amely képes a téli és korai tavaszi fagyok túlélésére. A genetikailag meghatározott fagyállóságot a hideg akklimatizáció révén éri el. Ez egy viszonylag lassú, adaptációs folyamat ősszel, amikor a hőmérséklet, a nappalhossz és a fényintenzitás fokozatosan csökken (Sandve és mtsai. 2011). A hideg akklimatizáció során az anyagcsere "átprogramozását" az abszcizinsav (ABA)-függő és -független jelátviteli útvonalak biztosítják lúdfűben (Zhang és mtsai. 2004). Az ABA-független útvonalon kiemelkedő szerepet játszik a C-REPEAT BINDING FACTOR/DEHYDRATION-RESPONSIVE ELEMENT BINDING FACTOR (CBF/DREB1) regulon lúdfűben és gazdasági növényekben, köztük búzában (*Triticum aestivum* L.) és árpában (*Hordeum vulgare* L.) is

(Nakashima és mtsai. 2009). Búzában eddig 11 *CBF* gént térképeztek az 5A kromoszóma *Fr-2* lókuszán. Ezek közül a *CBF14* transzkripciós faktornak van a legnagyobb hatása a búza és árpa fagytűrésére (Dhillon & Stockinger 2013; Soltész és mtsai. 2013; Vágújfalvi és mtsai. 2005; Novák és mtsai. 2016). A CBF fehérjékben található egy növényspecifikus APETALA2/ETHYLENE-RESPONSIVE ELEMENT BINDING domén (AP2/ERF), amely a célgének promóterében lévő C-repeat motívummal lép interakcióba (Stockinger és mtsai. 1997). A CBF-ek hideg indukálható géneket (COR) szabályoznak, melyek aktiválásával a fagytűrés növekszik. A *COR* gének közül a búzában és az árpában található *COR14b* különböző szinten fejeződik ki fagyérzékeny és fagytűrő genotípusokban (Rapacz és mtsai. 2008; Vágújfalvi és mtsai. 2000).

6.2.2. A vernalizáció molekuláris háttere

Az őszi gabonák vernalizációs igényét az őszi, fokozatosan csökkenő hőmérséklet és nappalhossz elégíti ki. A vernalizáció biztosítja a vegetatív/generatív átmenet megfelelő időzítését, hogy a virágzás a tél elmúltával történjen meg és ne károsodjanak a fagyra érzékeny reproduktív szervek (Distelfeld és mtsai. 2009). Ezzel ellentétben a tavaszi gabonák virágzása nem igényel hideghatást. A vegetatív/generatív átmenet időzítését a búza vernalizációs génjeinek (VRN1, VRN2, VRN3) allélikus különbségei és kombinációi határozzák meg. A VRN1 egy MADS-box transzkripciós faktor, amely a virágzást segíti elő a VRN2 lókuszon lévő gének gátlásával (Chen & Dubcovsky 2012; Yan és mtsai. 2003). A VRN2 lókuszon 2 gén, a ZCCT1 és ZCCT2 (ZINC-FINGER /CONSTANS, CONSTANS-LIKE, TOC1/2 transzkripciós faktorokat kódolnak) található, melyek a virágzás gátlásában játszanak szerepet (Distelfeld és mtsai. 2009). A VRN3 egy RAF kináz inhibitor fehérjét kódol a búzában, mely nagy szekvencia hasonlóságot mutat a lúdfűben található FLOWERING LOCUS T (FT) fehérjével (Yan és mtsai. 2006). A VRN2 gátló hatása alól felszabadulva, a VRN3 indukálja a vegetatív/generatív átmenetet és így a virágzást. A VRN3 a levelekben szintetizálódik, majd a floémen keresztül jut el a hajtáscsúcsba (Tamaki és mtsai. 2007). A vernalizációs gének közötti interakciókat az alábbi egyszerűsített ábra szemlélteti (3. ábra).



3. ábra. A vernalizációs gének szerepe a virágzás szabályozásában (Chen és Dubcovsky 2012. nyomán újrarajzolva).

A vernalizáció és a hideg adaptációs folyamatok összehangolt szabályozását búzában már igazolták, mivel a *VRN1* allélikus variánsainak eltérő előfordulása esetén a hideg indukálható gének különböző mértékben expresszáltak (Dhillon és mtsai. 2010). Magas *VRN1* expresszió mellett a *COR* gének expressziója és ebből kifolyólag a fagytűrés lecsökken (Galiba és mtsai. 2009). Egy másik kapcsolódási pont a vernalizáció szabályozása és a stresszválasz között a három alegységből álló (A, B, C) NUCLEAR FACTOR Y komplex (NF-Y). Az NF-YB és VRN2 fehérjék közötti interakciót bizonyítottak búzában (Li és mtsai. 2011), míg lúdfűben az NF-Y stresszválaszban betöltött szerepét igazolták (Leyva-González és mtsai. 2012). Lúdfűben a bZIP fehérjékkel lép kölcsönhatásba szabályozva ezzel az ABA jelátvitelt stressz körülmények között (Kumimoto és mtsai. 2013).

6.2.3. A redox szabályozás szerepe a fagytűrésben és a virágzásban

A redox szabályozás számos adaptációs és fejlődési folyamathoz hasonlóan a hidegedződés és a virágkezdemény kialakulását is befolyásolja növényekben (Kocsy és mtsai. 2013). A redox homeosztázis fenntartásában központi szerepet betöltő glutation bioszintézise felgyorsul alacsony hőmérsékleten búzában. Ez a jelenség a fagytűrő genotípusokban nagyobb mértékben jelentkezett a fagyérzékeny genotípusokhoz képest (Kocsy és mtsai. 2000). A 3 hetes hidegkezelést követően korrelációt mutattak ki a H₂O₂, az aszkorbinsav és a glutation tartalom, az AsA/DHA és GSH/GSSG arány, a redukciós

potenciál és fagytűrés mértéke között (Soltész és mtsai. 2011). Az aszkorbát és a glutation a hideg akklimatizációban betöltött szerepe mellett részt vesz a vernalizáció szabályozásában is. Az AsA-hiányos mutáns lúdfűben a virágzás ideje lényegesen eltolódik (Dowdle és mtsai. 2007). A glutation bioszintézis első enzimének túltermeltetése korábbi virágzást eredményezett és a GSSG szint is növekedett már optimális hőmérsékleten is (Hatano-Iwasaki & Ogawa 2012). Hasonló változást tapasztaltak vadtípusú lúdfűben 4°C-on. Ezek alapján megállapították, hogy a GSSG tartalom növekedése vagy a glutation redukciós potenciáljának változása részben helyettesítette a magok vernalizációs kezelését (Hatano-Iwasaki & Ogawa 2012). A redox szabályozás és virágzás másik lehetséges kapcsolódási pontja az *OXS2* transzkripciós faktor, amelyen keresztül a GSSG mennyiségének változásai befolyásolhatják a virágzási időt (Blanvillain és mtsai. 2011).

6.3. A szabad aminosavak szerepe a stresszválaszban és kapcsolatuk a redox szabályozással

6.3.1. Az aminosavak szerepe a növényekben

Az aminosavakra jellemző, hogy ugyanahhoz a szénatomhoz egy aminocsoport (-NH₂) és egy karboxilcsoport (-COOH) kapcsolódik. Az élő szervezetekben nélkülözhetetlenek, mivel a fehérjemolekulák építőkövei. Ezen kívül sokféle más metabolit szintézisében vesznek részt kiindulási anyagként. Jelentőségüket tovább növeli, hogy számos egyéb funkciójukat is leírták növényekben. Szabályozó és jelátvivő molekulák a stresszválaszban és a növény fejlődésében, katalitikus hatásúak az enzimekben és prekurzorok különféle anyagcsere folyamatokban. A szintézisük alapján az aminosavakat 5 családba lehet sorolni úgy, mint a glutaminsav család, aszparaginsav család, szerin család, piruvátok és aromás aminosavak. Néhány olyan aminosavat, amely a kísérletünk szempontjából fontos kiemelnék az alábbiakban.

A fehérjeépítő aminosavak közül a szerin az egyik legjelentősebb és legsokoldalúbb aminosav a növényekben, és elengedhetetlen a növények fejlődéséhez és anyagcseréjéhez (Ros és mtsai. 2014). A bioszintézisében résztvevő enzimek érzékenyen reagálnak a különféle abiotikus stresszhatásokra lúdfűben (Ho & Saito 2001). A szerin

katalitikus funkciót lát el a szerin-proteázokban (Di Cera 2009) és számos fontos molekula, így egyéb aminosavak, a foszfolipidek és a szfingolipidek bioszintézisében is részt vesz. Ezeknek a metabolitoknak a hiánya drasztikus következményekkel jár. A foszfatidil-szerin hiány mikrospóra fejlődési rendellenességhez és embrió elhaláshoz vezet lúdfűben (Yamaoka és mtsai. 2011). A szfingolipid bioszintézisben szereplő Ser-palmitoiltranszferáz hiánya letális az ivarsejtekre (Chen és mtsai. 2006), míg kifejlett lúdfűben az alacsony szfingolipid tartalom az ásványi anyag háztartás felborulását eredményezi (Chao és mtsai. 2011).

A szerin családba tartozó cisztein számos funkcióval rendelkezik. Tiol csoportja révén igen reakcióképes, így a fehérjék szerkezetének és funkciójának kilalakításában fontos szerepet tölt be. Számos olyan esszenciális molekula prekurzora, mint a vitaminok, kofaktorok (Droux 2004; Wirtz & Droux 2005), antioxidánsok (Meyer & Hell 2005), glükozinolátok és fitoalexinek (Rausch & Wachter 2005). Fontos megemlítenünk, hogy a cisztein a redox szabályozásban központi szerepet játszó glutation előanyaga is. Jelentőségét a növényekben hangsúlyozza, hogy a szulfátredukció során a szulfát szulfiddá redukálódik, mely szerves vegyületekbe, elsődlegesen ciszteinbe épül be (Takahashi és mtsai. 2011).

A glutaminsav egy másik létfontosságú aminosav, amely központi szerepet játszik a növények aminosav anyagcseréjében, mivel számos más aminosav prekurzora. A Glu α amino csoportja könnyen átkerülhet más aminosavakra különféle multispecifikus aminotranszferázok segítségével és a szénváza kiindulási pontja a prolin (Pro), arginin és γ -amino-vajsav szintézisnek (Forde & Lea 2007). A Glu jelátvivő szerepét lúdfű gyökérben mutatták ki (Singh és mtsai. 2016; Forde 2014). Mindemellett az abiotikus stressz válaszban betöltött szerepét igazolja, hogy több növényfajban is megemelkedik a szintje stressz körülmények között (Yang és mtsai. 2000; Martinelli és mtsai. 2007; Boldizsár és mtsai. 2013).

A prolin számtalan fontos funkciót lát el a növényekben. Amellett, hogy fehérjeépítő aminosav, részt vesz a növények fejlődésének és a virágzásának szabályozásában, valamint az abiotikus és biotikus stresszválaszban és jelátvitelben (Trovato és mtsai. 2008; Hayat és mtsai. 2012). Először angol perjében írták le, hogy stressz hatására a prolin tartalom megemelkedik (Kemble & Macpherson 1954). Azóta számtalan kísérlettel bizonyították, hogy a növényekben Pro halmozódik fel különböző

21

kedvezőtlen körülmények, mint például szárazság, magas sótartalom, nehézfémek, ozmotikus és oxidatív stressz hatására (Verbruggen & Hermans 2008).



4. ábra. A prolin funkciói növényekben. A prolin részt vesz a fehérjék építésében, a redox egyensúly fenntartásában, a jelátvitelben és a stresszválaszban. Emellett hatással van a növény fejlődésére és az anyagcsere folyamataira (Szabados és Savouré 2010. nyomán újrarajzolva). Rövidítések: PCD: programozott sejthalál; ROS: reaktív oxigénszármazék; KAT: kataláz; APX: aszkorbát peroxidáz; GST: glutation-S-transzferáz; PDH: prolin dehidrogenáz; P5CDH: Δ-1-pirrolin-5-karboxil-dehidrogenáz

Ezen eredmények ellenére az abiotikus stressztolerancia és a megemelkedett prolin szint kapcsolata nem minden esetben egyértelmű. Magas prolintartalmat mértek szárazságtűrő rizs genotípusokban (Choudhary és mtsai. 2005), de árpában nem találtak kapcsolatot a sótűrőképesség és a Pro koncentráció között (Chen és mtsai. 2007). A Pro akkumuláció számos útvonalon képes a stressztoleranciát befolyásolni (4. ábra). Az ozmoprotektánsként is leírt prolin semlegesíti a reaktív szabad gyököket, így a redox egyensúly fenntartásában is aktívan részt vesz. A redox homeosztázis kialakításában betöltött szerepét erősíti, hogy a prolin bioszintézis egy alternatív forrása lehet az elektron akceptor NADP⁺-nak stressz körülmények között, ezáltal megakadályozza a ROS-ok képződését a fotoszintetikus elektrontranszport során (Szabados & Savouré 2010). A Pro bioszintézise két reakcióúton történik a növényekben. A fő útvonalon glutaminsavból kiindulva először glutamil-szemialdehid (GSA) keletkezik egy redukciós folyamatban. A reakciót a Δ -1-pirrolin-5-karboxilát szintetáz (P5CS) katalizálja, majd a keletkező GSA-ból spontán Δ -1-pirrolin-5-karboxilát (P5C) képződik, amit a folyamat végén a Δ -1-pirrolin-5-karboxilát reduktáz prolinná alakít (Delauney & Verma 1993). A másik lehetséges útvonalon, a prolin bioszintézis kiindulási anyaga az ornitin (Orn). Az ornitinből ornitin aminotranszferáz (OAT) segítségével GSA keletkezik, ami P5C-n keresztül prolinná alakul át. A Pro lebontása a mitokondriumokban történik, ahol a prolin dehidrogenáz (PDH) segítségével oxidálódik, miközben P5C keletkezik (Elthon & Stewart 1981). A P5C-t a Δ -1-pirrolin-5-karboxilát dehidrogenáz (P5CDH) glutaminsavvá alakítja át.

A fehérjeépítő aminosavak mellett számos olyan aminosavat mutattak ki növényekben, melyek nem alkotói a fehérjéknek. Ezek a fehérjét nem építő aminosavak (NPAAs) jelentős szerves nitrogénforrásnak számítanak az élő szervezetekben, de nagyon keveset tudunk még róluk. A növényekben fontos szerepet játszanak a különböző stresszhatások kivédésében és a jelátvitelben (Vranova és mtsai. 2010). Mindemellett az NPAAs toxinként is funkcionálnak allokemikális és antimikrobiális aktivitásuk révén és mérgező hatást gyakorolnak számos növényevő kártevőre (Bell 2003). Az NPAAs csoportjába tartozó ornitin az argininből képződik az argináz közreműködésével. Az argináz a mitokondriumban található (Catoni és mtsai. 2003), de az ornitin képződhet a plasztiszokban is, ahol átalakulhat argininné (Funck és mtsai. 2008). Mindemellett részt vesz a prolin bioszintézisben is, ahol az ornitin-Δ-aminotranszferáz P5C-tá alakítja (Funck és mtsai. 2008).

Egy másik érdekes fehérjét nem építő aminosav az α-amino-adipinsav (Aaa) a lizin katabolizmus egyik köztes terméke állatokban és növényekben egyaránt (Zhu és mtsai. 2000). Míg állati rendszerekben kimutatták, hogy az Aaa gátolja a Glu transzportot (Haugstad & Langmoen 1997), növényeknél ezt a funciót nem bizonyították még be.

6.3.2. A redox rendszer és az aminosav anyagcsere kapcsolata

Az aminosav anyagcsere és a redox homeosztázis számos ponton kapcsolódik össze a növényekben. A redox homeosztázis egyik kulcsfontosságú szereplője a glutation. A glutation és az aminosav anyagcsere közötti kapcsolatot nyárfában bizonyították, a glutation szintézisben résztvevő egyik enzim a γ-Glu-Cys szintetáz túltermeltetésével (Noctor 1998). A transzformáció hatására a glutation szint mellett néhány aminosav koncentrációja is megnövekedett. Ezenkívül szójában az intenzívebb prolin szintézis alacsonyabb GSH szintet eredményezett (Kocsy és mtsai. 2005). Ez a megfigyelés azzal magyarázható, hogy a közös prekurzor, a Glu nagyobb arányban használódott fel a prolin bioszintézisben. Az aminosavak szintjének redox szabályozását az is alátámasztja, hogy a kataláz hiányos lúdfű mutánsokban a megnövekedett H₂O₂ tartalommal párhuzamosan számos aminosav koncentrációja is megemelkedett (Noctor és mtsai. 2015). Mindezek ellenére kevés tudományos munkát találni az irodalomban, amely a redox homeosztázis és az aminosav anyagcsere kapcsolatát vizsgálja.

7. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

7.1. Növénynevelés és kezelések

A búzával végzett kísérleteinkben a fagyérzékeny *Triticum aestivum* (L.) *ssp. spelta* (Tsp) tavaszi és a fagytűrő *Triticum ae.* (L.) *ssp. aestivum Cheyenne* (Ch) őszi búzát vizsgáltuk. A kiválasztott genotípusok magjait nedves szűrőpapíron Petri csészékben csíráztattuk (1 nap 25°C, 3 nap 5°C, 2 nap 25°C). A csíráztatást követően a fiatal csíranövényeket ½-es Hoagland-tápoldaton neveltük tovább növénynevelő klímakamrában (Conviron, Kanada) 16 órás, 260 µmol m⁻²s⁻¹ fényintenzitású megvilágítás, 75% relatív páratartalom, 20°C nappali és 17°C éjszakai hőmérséklet alkalmazásával (5. ábra).



5. ábra. Növénynevelő klímakamrák (**A**) és a tápoldaton lévő *Triticum aestivum ssp. spelta* tavaszi és a *Triticum ae. ssp. aestivum* Cheyenne őszi genotípus 7 napos növényei (**B**).

20 csíranövényt helyeztünk a műanyag edényekbe (500 ml), amelyekben a tápoldatot hetente cseréltük a kísérlet alatt. A 7 napos kontroll körülmények között történő növénynevelés után, előkezelés gyanánt különböző koncentrációjú redukálószereket (GSH, AsA: 1 mM, 2 mM) oxidálószereket (GSSG: 0,5 mM, 1 mM; H₂O₂: 1 mM, 2 mM) és ozmotikumokat (polietilén-glikol: 15%; NaCl: 100 mM) adtunk a növények tápoldatához. A különböző vegyületeknél alkalmazott koncentrációkat előzetes kísérletek eredményeire és irodalmi adatokra támaszkodva határoztuk meg. A 3 napos 20/17°C-on történő redox kezelést a 3 hetes 5°C-on történő hidegedzés első 4 napján is folytattuk. Így lehetőség volt a kezelések hatását

20/17°C-on és 5°C-on is megvizsgálni. A 3 hetes hidegedzést egy 3 hetes regenerációs fázis követte 20/17°C hőmérsékleten. A redox kezelések 3. és 7. napján megmértük a gyökerek és hajtások friss tömegét, és elvégeztük a mintavételt a biokémiai és a génexpressziós vizsgálatokra. A fejlődési állapot meghatározása céljából a regenerációs fázis végén hajtáscsúcsot izoláltunk a növények bokrosodási csomójából.

A lúdfűvel (*Arabidopsis thaliana* L.) végzett kísérletünkben a Columbia (Col-0) ökotípust, a glutation-hiányos (*pad2-1*) és az aszkorbinsav-hiányos (*vtc2-1*) mutánst tanulmányoztuk (Parisy és mtsai. 2007; Conklin és mtsai. 2000). A magokat 3 nap hidegszinkronizálás után föld-perlit 3:1 arányú keverékén csíráztattuk. A 10 napos növényeket átültettük tőzegkockákba (Jiffy, Jiffy Products S.L. Ltd.), és 4 hétig napi 8 órás, 100 µmol m⁻² s⁻¹ fényintenzitáson, 23/22°C hőmérsékleten és 70/75%-os páratartalmon neveltük klímakamrában (Sanyo). Az 5 és fél hetes növényeket ¹/₂ Hoagland-tápoldatra helyeztük és 5 napig neveltük kontroll körülmények között (6. ábra).



6. ábra. A lúdfű növényneveléshez használt klímakamrák (A) és a tápoldaton nevelt lúdfű növények (B).

Az 5 napos adaptációs fázist követően a növényeket a tápoldatukhoz adott 4 mM-os koncentrációjú redukálószerekkel (GSH: glutation, AsA: aszkorbinsav, DTT: ditiotreitol) és egy oxidálószerrel, 10 mM-os hidrogén-peroxiddal kezeltük 3 napig. A kezelést követően biokémiai és génexpressziós vizsgálatokra gyűjtöttünk mintát.

Mindkét kísérletünket háromszor ismételtük meg, mintánként 3 párhuzamost alkalmazva.

7.2. Az aszkorbinsav-tartalom meghatározása

A meghatározáshoz 500 mg friss növényi mintát (levél) dörzsöltünk el folyékony N₂-ben, 3 ml 5%-os meta-foszforsav jelenlétében. Ezután 4°C-on centrifugáltuk a mintákat 10 000 *g*-vel 10 percen keresztül. A redukált aszkorbinsav méréséhez 380 µl-t pipettáztunk ki a felülúszóból, amihez 20 µl ultratisztaságú vizet adtunk. A teljes aszkorbát tartalom méréséhez 380 µl felülúszóhoz 20 µl 40 mg/ml-es koncentrációjú ditiotreitol (DTT) oldatot adtunk a dehidro-aszkorbinsav (DHA) redukálásának a céljából. A mintákban lévő redukált és teljes aszkorbinsav tartalmat fordított fázisú nagy hatékonyságú folyadék kromatográffal (Waters 2690, Milford, MA, USA) mértük meg. Az aszkorbinsav detektálásához diódasoros UV/VIS detektort (Waters 996) használtunk 248 nm-en. Az oxidált aszkorbinsav mennyiségét a teljes aszkorbinsavtartalom és a redukált forma mennyiségének a különbségeként számoltuk ki (Soltész és mtsai. 2011). Az aszkorbinsav koncentrációt µg-ban adtuk meg 1g friss növényi tömegre vonatkoztatva.

7.3. A tiolok mérése

A GSH, a cisztein, a γ -glutamil-cisztein (γ -EC), a hmGSH és a ciszteinil-glicin (Cys-Gly) mennyiségének a meghatározásánál 200 mg növényi anyagból (levél) indultunk ki, melyet folyékony nitrogénnel porrá törtünk és 1 ml térfogatú 1 mM Na₂EDTA (Na-etilén-diamintetraecetsav) tartalmazó 0,1 M HCl-dal tártuk fel. A feltárást követően a mintákat centrifugáltuk (15 000 x g, 10 perc, 4°C). A teljes tioltartalom meghatározása során 120 µl felülúszóhoz 200 µl 0,2 M 2-(ciklohexilamino)-etánszulfonsavat (CHES, pH 9,3) adtunk, majd a redukciót 10 µl 9 mM ditiotreitol hozzáadásával végeztük. Ezután a mintákat 20 percig jégen tartottuk, majd 20 µl monobromobimánt adtunk az elegyünkhöz fluoreszcens származékképzés céljából. A 15 perces sötétben történő inkubációt (25°C) követően a reakciót 250 µl 0,25%-os metilszulfonsav (MSA) hozzáadásával állítottuk le. Az oxidált tiolok koncentrációjának mérése során 200 µl felülúszóhoz 300 µl 0,2 M CHES-t (pH 9,3) adtunk, és a szabad tiolokat 30 µl 50 mM N-etilmaleimiddel blokkoltuk (Kranner & Grill 1996). A feleslegben lévő N-etilmaleimidet háromszori toluolos extrakcióval távolítottuk el. Ezt követően 300 µl kivonatot redukáltunk 20 µl 9 mM-os ditiotreitollal. A származékképzés és a reakció leállítása az összes tioltartalom mérésénél leírtak szerint történt. A származékképzést követően a mintákban a tiolok mennyiségét fordított fázisú nagy hatékonyságú folyadék-kromatográffal határoztuk meg (Waters, Milford, MA, USA). A mérés során W474 szkenning fluoreszcens detektort használtunk (Waters). A redukált tiolok mennyiségét az összes és az oxidált tioltartalomból számoltuk ki. A redukciós potenciálok kiszámítása Schafer és Buettner (2001) szerint történt a Nernst egyenlet segítségével:

$$\begin{split} E_{reduk\acute{a}lt/oxid\acute{a}lt}[mV] &= E^{0} - \frac{RT}{nF} \ln \left(\frac{\left(\frac{reduk\acute{a}lt \ [nmol]}{10^{6}}\right)^{2}}{\left(\frac{oxid\acute{a}lt \ [nmol]}{10^{6}}\right)^{2}} \right) \\ &= E^{0} - \frac{8,314 \ \left[\frac{C \ V}{mol \ K}\right] * 298,15 \ [K]}{2 * 96485,34 \ [C \ mol]} \ln \left(\frac{(reduk\acute{a}lt \ [mmol])^{2}}{(oxid\acute{a}lt \ [mmol])^{2}}\right) \\ &= E^{0} - 29,58 \ [mV] \log_{10} \left(\frac{(reduk\acute{a}lt \ [mmol])^{2}}{(oxid\acute{a}lt \ [mmol])^{2}}\right) \end{split}$$

ahol: pH=7,0; T=25 °C=298,15 K; n=2, mert 2 elektron vesz rész a folyamatban:

$$GSSG + 2H^+ + 2e^- \rightarrow 2GSH$$

A vizsgált tiolok standard redukciós potenciálja (E^0) különböző 25°C-on és pH 7-nél, ezért minden tiolnál a megfelelő E^0 értékekkel számoltunk irodalmi adatok alapján.

7.4. A hidrogén peroxid koncentrációjának meghatározása

A H_2O_2 mennyiségének a meghatározásához FOX1 (Ferrous ion oxidation-xylenol orange) módszert használtunk. 200 mg növényi mintát (levél) dörzsöltünk porrá folyékony nitrogén segítségével, majd 1 ml 10%-os ortofoszforsavat (H_3PO_4) adtunk hozzá. A H_2O_2 reakcióelegy összetétele: 100 μ M xilenol-orange, 250 μ M ammónium-ferro-szulfát, 100 mM szorbit, 25 mM H_2SO_4 és 50 µl kivonat 1 ml végtérfogatban (Wolff 1994). A minták abszorbanciáját 560 nm hullámhosszon mértük (Carry100 UV-Vis spektrofotométer, Agilent, USA). A kalibrációhoz H_2O_2 hígítási sort használtunk (Kocsy és mtsai. 2005).

7.5. Az ionkiáramlás mérése

A növények fagytűrésének meghatározásához relatív konduktancia mérést végeztünk a 3 hetes hidegedzés végén. Az egyenlő hosszúságú (1 cm) és egyenlő tömegű levéldarabokat alumínium fóliával csomagoltuk be, és üvegcsövekben lévő homokba helyeztük. A hőmérsékletet fokozatosan csökkentettük a fagyasztási hőmérsékletre (2°C-ra 6 óra alatt,-2°C-ra 15 óra alatt, majd két óránként 2 fokkal csökkent a hőmérséklet). Az egyórás fagyasztás -11, -13 és -15°C-on történt, majd a mintákat 2 óra hosszat 2°C-on tartottuk. Ezt követően a levél darabokat 10 ml szűrt vizet (Millipore, Milli-Q50 víztisztító rendszer, Watford, Egyesült Királyság) tartalmazó fiolákba tettük, és egy éjszakán át rázattuk szobahőmérsékleten. A rázatás során a sérült sejtekből kiáramló ionok hatására a víz vezetőképessége növekedett, amit MultiSample konduktométerrel (Mikro Kft., Magyarország) mértünk meg. Mintáinkat ezután 20 percen át főztük, és újabb konduktancia mérés után meghatároztuk a 100%-os ionkiáramlást. Az ionkiáramlás kiszámítása során a kapott adatainkat az ultradesztillált víz értékeivel normalizáltuk és a 100%-os ionkiáramlás százalékos arányában fejeztük ki a relatív konduktanciát (Szalai és mtsai. 1996).

7.6. A szabad aminosav- és a fehérjetartalom meghatározása

500 mg friss levélmintát folyékony nitrogén segítségével porrá dörzsöltünk, és 2 ml hideg 10%-os triklórecetsav hozzáadásával extraháltunk 1 órán át enyhén rázatva (100 rpm). Az extrahált mintákat először redős szűrőn, majd 0,2 μm-es membránszűrőn (Sartorius AG, Németország) szűrtük át. Az előkészített mintákat a mérés időpontjáig -20°C-on tároltuk. A szabad aminosav tartalom meghatározást egy Ionex Ostion LCP5020 kationcserélő oszloppal (22 cm x 0,37 cm) felszerelt AAA 400 típusú Automatikus Aminosav Analizátorral (Ingos Kft., Csehország) végeztük. A szabad aminosavak elválasztása

lépcsős gradiens elúcióval történt. A kolorimetriás detektálást 570 nm-en és 440 nm-en végeztük. Az eredményeket a CHROMULAN V 0.82 (PIKRON, Csehország) programmal értékeltük.

A fehérjetartalom mérését Bradford (Bradford 1976) módszerrel végeztük marha szérum albumint (BSA) használva standardként. 200 mg levélmintát folyékony nitrogénnel porrá dörzsöltünk, majd 1 ml 0,2 mM dietiléntriamin-pentaecetsavat (DTPA) tartalmazó 0,1 M Na-K-foszfát pufferrel (pH 7,5) tártunk fel. Centrifugálás (15 000 x g, 1 perc, 4°C) után a felülúszóból 5 µl növényi kivonatot tettünk a reakcióelegybe, amely 975 µl 5-szörösére hígított BioRad (Hemel, UK) fehérje meghatározó reagenst tartalmazott 1 ml össztérfogatban. Az abszorbanciát 578 nm-en mértük (Carry100 UV-Vis spektrofotométer, Agilent, USA).

7.7. A hajtáscsúcs fejlettségi állapotának vizsgálata

A 3 hetes regenerációs fázis végén a növények bokrosodási csomójából hajtáscsúcsot (apex) izoláltunk Zeiss Stemi 2000-C típusú sztereo mikroszkóp (Carl Zeiss Mikroskopie, Jena, Németország) segítségével. A hajtáscsúcsot szike és ékszerész csipesz segítségével bontottuk ki a bokrosodási csomóból. Az izolált hajtáscsúcsokat még a kiszáradás előtt lefényképeztük, és meghatároztuk az apexek fejlettségi állapotát a Gardner és mtsai által készített skála szerint (1985).

7.8. Totál ROS-ok detektálása hajtáscsúcsban

Az összes ROS detektálásánál a hajtáscsúcsot 2',7'-dihidro-diklórfluoreszcein-diacetáttal (H₂DCFDA) festettük 0,1 M Na-K foszfátpuffer (ph 8,0) jelenlétében 30 percig (Darkó és mtsai. 2004). A 2',7'-dihidro-diklórfluoreszcein-diacetát festék a peroxidok és az egyéb reaktív oxigénformák jelenlétét jelzi. A ROS-ok jelenlétében a nem fluoreszkáló H₂DCFDA oxidálódik, az acetát csoportok lehasadnak és erősen fluoreszkáló 2',7'-dihidro-diklórfluoreszcein keletkezik. A megfestett hajtáscsúcsokat egy Olympos BX 51 típusú mikroszkóppal (Olympos Optical Co. Ltd., Tokió, Japán) vizsgáltuk, és egy Camedia digitális géppel fényképeztük le.

7.9. Génexpressziós vizsgálatok kvantitatív valósidejű PCR-rel (qRT-PCR)

A génexpressziós vizsgálatokhoz az RNS-t Direct-zolTM RNA Miniprep (Zymo Research) kittel tártuk fel levélmintáinkból a gyártó protokollja alapján. A reverz transzkripcióhoz M-MLV reverz transzkriptázt és Oligo (dT)₁₈ primert (Oligo) használtunk gyártói utasítás szerint. Az 1 μ g RNS-ből írt cDNS-t qRT-PCR-rel végzett expressziós vizsgálatokban használtuk fel, amit CFX96 típusú (Bio-Rad) készülékkel végeztünk. A real-time PCR-hez SYBR Green (KAPA) reagenst alkalmaztunk. A vizsgált génekhez tartozó primerpárok az 1. mellékletben találhatók. Mintánként 3 párhuzamost vizsgáltunk, párhuzamosonként 3 technikai ismétlést készítve. A relatív expressziós szinteket a Δ Ct módszerrel állapítottuk meg a búzával végzett kísérletünkben, míg lúdfűben $\Delta\Delta$ Ct módszerrel számoltuk ki (Livak & Schmittgen 2001). A normalizáláshoz endogén kontrollként lúdfű esetében az *Actin2* (Wang és mtsai. 2014), míg a búzával végzett kísérleteknél a *Ta30797* gént használtuk (Paolacci és mtsai. 2009).

7.10. Statisztikai elemzés

A statisztikai elemzés SPSS 16.0.1 program segítségével történt. Az előfeltételek ellenőrzése után, az adatsorokat egytényezős ANOVA-val hasonlítottuk össze, majd Tukey-féle *post hoc* tesztet vagy LSD (legkisebb szignifikáns differencia) tesztet alkalmaztunk (P<0,05%). A korreláció elemzéseket az Excel (Microsoft Office 2010) program segítségével végeztük.

8. EREDMÉNYEK

8.1. A redox szabályozás szerepe a hideg akklimatizáció és a virág primordium kezdeti fejlődése során búzában

8.1.1. A tiolok mennyiségének és redukciós potenciáljának változásai

12 napos búzanövényeket kezeltünk különböző redukálószerekkel (1 mM, 2 mM GSH és AsA), oxidálószerekkel (0,5 mM, 1 mM GSSG; 2 mM H₂O₂) és ozmotikumokkal (100 mM NaCl, 15% PEG) 3 napig 20/17°C-on. Ezzel az előkezeléssel módosítani kívántuk a tiolok redukált és oxidált formáinak koncentrációját és arányát. A vegyszeres kezeléseket 4 napon át 5°C-on is folytattuk, hogy összehasonlíthassuk a hatásukat optimális és alacsony hőmérsékleten. A redox környezet változásait a tiolok koncentrációjának és redukciós potenciáljának a meghatározásával jellemeztük a bokrosodási csomóban, melynek speciális szerepe van a vernalizációban és hideg akklimatizációban. Az őszi búzafajtákat érő fagykár után ebből a szervből regenerálódik a növény és itt található a stressz hatásokra nagyon érzékeny virágkezdemény.

A vizsgált tiolok közül a glutation prekurzorának, a ciszteinnek mennyisége lecsökkent GSH (1, 2 mM), GSSG (1 mM) és AsA (2 mM) kezelés hatására 20/17°C-on az őszi búzafajtában (7A. ábra). Ezzel párhuzamosan ezek a kezelések növelték a CySS mennyiségét és a cisztein/cisztin redoxpár redukciós potenciálját ($E_{Cys/CySS}$) ebben a genotípusban (7C. ábra). A tavaszi búzafajtánál (Tsp) viszont ellentétes változások zajlottak le, hiszen a Cys koncentráció megemelkedett. A CySS tartalom és az $E_{Cys/CySS}$ lecsökkent a legtöbb kezelés hatására (7B, C. ábra). A 4 napos alacsony hőmérsékletet (5°C) követően csak a 2 mM GSH kezelésnek volt szignifikáns hatása, amely során a Cys tartalom lecsökkent, a CySS koncentráció és az $E_{Cys/CySS}$ érték megnövekedett Ch-ben (7D. ábra). A Tsp-ben a legtöbb kezelés hatására kevesebb volt a Cys mennyisége alacsony hőmérsékleten. A CySS tartalom és az $E_{Cys/CySS}$ érték magasabb lett (7E, F. ábra).

A glutation homológ hmGSH mennyisége lecsökkent a GSSG (2 mM), az AsA (2 mM) és NaCl kezelések hatására 20/17°C-on Ch-ben. A hmGSSG mennyisége ezeknél a kezeléseknél szignifikánsan megnőtt a kontroll mintákban mérthez képest (8A. ábra).



7. ábra. A redox és ozmotikus kezelések hatása a Cys (fehér) és a CySS (csíkozott) koncentrációjára és ezen redoxpár redukciós potenciáljára (C, F) Ch, (A, D) és Tsp (B, E) genotípusokban 20/17°C és 5°C-on. A vizsgált csoportok összehasonlítása egyutas ANOVA-val, majd LSD-teszt analízis alapján történt (P<0,05%). A kezeletlen kontroll mintáktól szignifikánsan eltérő értékeket csillaggal jelöltük.</p>

A legtöbb kezelés hatására a hmGSH/hmGSSG redoxpár redukciós potenciálja ($E_{hmGSH/hmGSSG}$) növekedett a kontroll mintához képest 20/17°C-on Ch-ben (8C. ábra). A Tsp-ben a hmGSH tartalom emelkedett, az $E_{hmGSH/hmGSSG}$ csökkent több kezelés hatására (8B, C. ábra). A GSH kezelések kivételével a hmGSH koncentráció jelentősen lecsökkent alacsony hőmérsékleten Ch-ben (8D. ábra). Ezzel párhuzamosan a hmGSSG koncentrációk és a $E_{hmGSH/hmGSSG}$ értékek megemelkedtek (8F. ábra). A tavaszi búzában is a redukált forma mennyiségének csökkenését és a redukciós potenciál értékek növekedését figyeltük meg a legtöbb kezelés esetében 5°C-on (8E. ábra).



8. ábra. A redox és ozmotikus kezelések hatása a hmGSH (fehér) és hmGSSG (csíkozott) koncentrációjára és ezen redoxpár redukciós potenciáljára (C, F), Ch (A, D) és Tsp (B, E) genotípusokban 20/17°C és 5°C-on. A vizsgált csoportok összehasonlítása egyutas ANOVA-val, majd LSD-teszt analízis alapján történt (P<0,05%). A kezeletlen kontroll mintáktól szignifikánsan eltérő értékeket csillaggal jelöltük.</p>

A GSH tartalom jelentős csökkenést mutatott 2 mM GSH, 0,5 és1 mM GSSG és NaCl kezelés után 20/17°C-on Ch-ben (9A. ábra). A legtöbb kezelés hatására a GSSG koncentráció és $E_{GSH/GSSG}$ értékek magasabbak voltak ebben a genotípusban (9C. ábra). Ezzel ellentétben a Tsp-ben a kezelések csak kis mértékben hatottak a glutation mennyiségére és redox állapotára (9B. ábra). Alacsony hőmérsékleten a GSSG koncentráció a kontroll mintákban is igen magas volt Ch-ben (9D. ábra). Hasonló magas GSSG mennyiséget tapasztaltunk 2 mM GSH, és mindkét GSSG kezelés után. A GSSG koncentrációja a legtöbb kezelés hatására emelkedett Tsp-ben 5°C-on (9E. ábra.) Az $E_{GSH/GSSG}$ értékek csak néhány helyen mutattak eltérést a kontroll mintákhoz képest mindkét genotípusban (9F ábra.).



9. ábra. A redox és ozmotikus kezelések hatása a GSH (fehér) és GSSG (csíkozott) koncentrációjára és ezen redoxpár redukciós potenciáljára (C, F), Ch (A, D) és Tsp (B, E) genotípusokban 5°C-on. A vizsgált csoportok összehasonlítása egyutas ANOVA-val, majd LSD-teszt analízis alapján történt (P<0,05%). A kezeletlen kontroll mintáktól szignifikánsan eltérő értékeket csillaggal jelöltük.

8.1.2. A kezelések hatása a növények friss tömegére

A tiol mérésekkel párhuzamosan friss tömeget is mértünk a vegyszeres kezelés 3. (20/17°C) és 7. napján (4 nap 5°C-on). A kezelések nagy része nem okozott szignifikáns változást a friss tömegben 3 nap után (20/17°C) (10A, B. ábra). Alacsony hőmérsékleten a hajtások friss tömege többnyire nem változott Ch-ben (10C. ábra). A gyökerek friss tömegét az 1 mM GSH és GSSG (mindkét koncentráció) kivételével minden kezelés csökkentette.


10. ábra. A redox és ozmotikus kezelések hatása a Ch (A, C) és Tsp (B, D) hajtásainak és gyökereinek a friss tömegére $20/17^{\circ}$ C-on és alacsony hőmérsékleten (5°C). A vizsgált csoportok összehasonlítása egyutas ANOVA-val, majd LSD-teszt analízis alapján történt (P<0,05%). A kezeletlen kontroll mintáktól szignifikánsan eltérő értékeket csillaggal jelöltük.

A Ch-ben mért értékekkel ellentétben, a Tsp hajtásainak friss tömege szignifikánsan növekedett minden kezelés esetében 5°C-on, míg a gyökereknél csak néhány esetben volt megfigyelhető a növekedés (10D. ábra.).

8.1.3. A fagytűrést befolyásoló gének redox szabályozása

Az alkalmazott kezelések hatására számos, fagytűrést és a virágkezdemény kezdeti fejlődését befolyásoló gén expressziója megváltozott. A génexpressziós változásokat a vegyszeres kezelés 7. napján vizsgáltuk (3 nap 20/17°C majd 4 nap 5°C után) a bokrosodási csomóban. A fagytűrést szabályozó gének közül olyanokat választottunk ki, melyek szerepet játszanak a hideg akklimatizációban és kísérletesen igazolták ezen funkciójukat.

A *CBF14* transzkripciós faktor expressziója a kezelések hatására nem mutatott jelentős változást Ch-ben (11A. ábra). A tavaszi búzában viszont a legtöbb kezelés csökkentette az expresszióját. Összehasonlítva a két genotípust megállapíthatjuk, hogy a

CBF14 expressziója a legtöbb esetben alacsonyabb volt Tsp-ben, mint Ch-ben. A COR14b kifejeződésére a kezelések többsége nem volt hatással Ch-ben (11B. ábra). Ezzel ellentétben a Tsp-ben alacsonyabb expressziót mutatott a kezelések után a kontrollhoz képest. Habár kontroll körülmények között a COR14b expressziója nem mutatott különbséget a genotípusok között, a kezelések hatására a Ch-ben mért transzkripciós szint a Tsp-ben mértnek a többszöröse lett. Az adenozin-5'-foszfoszulfát reduktáz (APSR, a Cys szintézis kulcsenzime) transzkripciójára a kezelések nem voltak hatással Ch-ben. A másik genotípusban a 0,5 mM GSSG és 2 mM AsA kezelések növelték az expresszióját a kontrollhoz képest (11C. ábra). Mindemellett fontos megemlítenünk, hogy Ch-ben az APSR transzkripciós szintje 10-szer nagyobb volt a tavaszi genotípushoz képest. Alacsony hőmérsékleten a növényekben megemelkedik a reaktív oxigén gyökök, köztük a H₂O₂ mennyisége. A H₂O₂ közömbösítésében résztvevő sztróma-aszkorbát-peroxidáz-1 (sAPX1) enzimet kódoló gén expressziós mintázatát is megvizsgáltuk kísérletünkben. A Ch-ban az sAPX1 transzkripciós szintje az AsA és NaCl kezelések hatására növekedett, míg Tsp-ben a 2 mM GSH, GSSG (0,5 és 1 mM) és H₂O₂ kezelések fokozták a kifejeződését (11D. ábra). A hideg indukálható Ca-kötő fehérjét (CAB) kódoló gén kifejeződését az 1 mM GSH, 2 mM AsA és PEG kezelések redukálták Ch-ben (11B. ábra). A CAB expressziós szintje a Tsp-ben kontroll körülmények között alacsonyabb szinten volt, mint a Ch-ben. Mindezen túl egyes kezelések, mint az AsA (1 és 2 mM), H₂O₂ és ozmotikumok tovább csökkentették az expresszióját (11E. ábra). Azon célból, hogy megállapítsuk, milyen hatással voltak a kezelések az ABA indukált fagytűrés kialakítására, a 9-cisz-epoxikarotenoid-dioxigenázt (NCED1) kódoló gén expressziós változásait is megvizsgáltuk. Az NCED1 az ABA szintézis egyik szabályozó enzime. Az NCED1 expressziója nem változott jelentősen Ch-ben. Tsp-ben a kezeletlen kontroll növényekben 2-szer magasabb szinten volt az expressziója a Ch-hez képest. A kezelések közül a 2 mM GSH, az 1 mM GSSG és a PEG növelte a kifejeződését (11F. ábra).



11. ábra. A redox és ozmotikum kezelések hatása a hideg akklimatizációban szerepet játszó gének expressziójára alacsony hőmérsékleten. A *CBF14* (*C-repeat binding transcription factor14*) (A), a *COR14b* (*Cold-Regulated 14B*) (B), az *APSR (adenozin-5'-foszfoszulfát reduktáz*) (C), az *sAPX1 (sztróma aszkorbát-peroxidáz 1*) (D), a *CAB (Ca-binding protein)* (E) és az *NCED1* (9-cis-epoxikarotenoid dioxigenáz1) (F) gének expressziós mintázatát vizsgáltuk a bokrosodási csomóban 7 nap (3 nap 20/17°C, 4 nap 5°C) kezelés után. A normalizáláshoz endogén kontrollként a Ta30797 gént használtuk (Paolacci és mtsai. 2009). A vizsgált csoportok összehasonlítása egyutas ANOVA-val, majd Tukey-féle *post hoc* teszt analízis alapján történt (P<0,05%). A különböző betűvel jelölt értékek szignifikánsan különböznek.

8.1.4. A virágkezdemény kezdeti fejlődését szabályozó gének expressziós változásai

A virágkezdemény kezdeti fejlődését befolyásoló gének közül hatnak vizsgáltuk meg az expressziós mintázatát bokrosodási csomóban 7 nap vegyszeres kezelés után (3 nap 20/17°C, 4 nap 5°C). A virágzást represszáló *ZCCT1* expressziójára a GSH (1 mM és 2 mM), a GSSG és a PEG kezelések nem voltak hatással, de a többi kezelés csökkentette az

expresszióját Ch-ban. A Tsp-ben a gén kifejeződése viszont a legtöbb kezelés hatására alacsonyabb lett (12A. ábra). A ZCCT2 expresszióját néhány kezelés csökkentette Ch-ban (12B. ábra), míg Tsp-ben az összes kezelés csökkentette a ZCCT2 kifejeződését. A ZCCT1-nél tapasztaltakkal ellentétben, a ZCCT2 expressziója nagyobb különbségeket mutatott a genotípusok között a kezelések után. Általánosságban elmondható, hogy Ch-ben a ZCCT2 kifejeződése legalább kétszer nagyobb volt a Tsp-ben mértnél, kivéve az ozmotikumokkal (NaCl és PEG) történő kezelések esetében.

A VRN1 transzkripcióra nem voltak hatással a GSH (1 mM és 2 mM) és GSSG (0,5 mM és 1mM) kezelések Ch-ben. A többi kezelés jelentős növekedést indukált az expressziójában (12C. ábra). Az alkalmazott kezelések döntő többsége növelte a VRN1 kifejeződését Tsp-ben. A Tsp-ben mért VRN1 transzkripciós szint 2-10-szer nagyobb volt, mint a Ch-ben. A virágzás szabályozásában résztvevő gének közül a VRN3 expressziós változásait is vizsgáltuk kísérletünkben, de bokrosodási csomóban nem volt detektálható a kifejeződése. A stressz-indukált virágzás egyik szabályozó génjének, az OXIDATIVE STRESS2-nek (OXS2) a kifejeződése megnövekedett több kezelés (1 és 2 mM AsA, NaCl, H₂O₂ és PEG) hatására Ch-ben. Ugyanilyen hatással voltak az expressziójára a GSH (2 mM), az AsA (2 mM) és NaCl kezelések Tsp-ben (12D. ábra). Az OXS2 expressziója több kezelés hatására is magasabb szintet mutatott Tsp-ben, mint Ch-ben. Az FKF1 expressziójának mintázatát is megvizsgáltuk, mivel jelentős szerepe van a virágzás idejének szabályozásában. Transzkripcióját az 1 mM AsA, és az ozmotikus kezelések indukálták Ch-ben, míg Tsp-ben csak a nagyobb koncentrációban alkalmazott GSH emelte meg a kifejeződését (12E. ábra). A stressz indukálható Nuclear Factor YB2 (NF-YB2) expresszióját a legtöbb kezelés indukálta Ch-ben (12F. ábra). A másik genotípusban (Tsp) a 2 mM GSH és a GSSG emelte az NF-YB2 expresszióját.



12. ábra. A redox és az ozmotikum kezelések hatása a virágzást befolyásoló gének expressziójára alacsony hőmérsékleten. A ZCCT1 (ZINC-FINGER/CONSTANS, CONSTANS-LIKE 1) (A), ZCCT2 (B), VRN1 (vernalizációs gén) (C), OXS2 (oxidatív stressz 2) (D), FKF1 (FLAVIN-BINDING KELCH-REPEAT-BOX1) (E) és NF-YB2 (Nuclear factor YB2) (F) gének expressziós mintázatát vizsgáltuk bokrosodási csomóban 7 nap (3 nap 20/17°C, 4 nap 5°C) kezelés után. A normalizáláshoz endogén kontrollként a Ta30797 gént használtuk (Paolacci és mtsai. 2009). A vizsgált csoportok összehasonlítása egyutas ANOVA-val, majd Tukey-féle post hoc teszt analízis alapján történt (P<0,05 %). A különböző betűvel jelölt értékek szignifikánsan különböznek.

8.1.5. A kezelések hatása a fagytűrésre

A kezelések fagytűrésre gyakorolt hatását a membránok sérülésének relatív konduktancia méréssel történő meghatározásával vizsgáltuk levél szegmentumokban. A 3 hetes 5°C-os hidegkezelést követően 3 fagyasztási hőmérsékletet (-11°C, -13°C és -15°C) alkalmaztunk, melyeket előzetes eredményeink alapján választottunk ki.



13. ábra. A redox és az ozmotikus kezelések hatása a Ch (A) és Tsp (B) levélszegmensek relatív konduktanciájára a 3 hetes (5°C) hidegedzést és a -11°C és -13°C-os fagyasztást követően. A 12 napos Ch és Tsp növényeket 3 napig 20/17°C-on, majd még 4 napig 5°C-on kezeltük. A nagyobb relatív konduktancia értékek a sejtmembránok jelentős károsodására és nagyfokú fagyérzékenységre utalnak. A vizsgált csoportok összehasonlítása egyutas ANOVA-val, majd LSD-teszt analízis alapján történt (P<0,05 %). A kezeletlen kontroll mintáktól szignifikánsan eltérő értékeket csillaggal jelöltük.

Az alkalmazott kezelések döntő többsége fokozta a fagytűrést -11 és -13°C-on a fagytűrő Ch-ben (13A. ábra). A relatív konduktancia értékek növekedtek a 2 mM GSH, a 0,5 mM GSSG, mindkét AsA koncentráció és a 15% PEG kezelés után -11°C-on a fagyérzékeny Tsp-ben, ami a fagytűrőképesség csökkenését jelzi (13B. ábra). A többi kezelés nem okozott szignifikáns változásokat a konduktanciában. A Ch-val ellentétben a -13°C-os fagyasztás letális volt a Tsp-re mind kontroll körülmények között, mind a vegyszeres kezeléseket követően. -15°C-on is végeztünk fagytesztet, de ezen a hőmérsékleten az ionkiáramlás már mindkét genotípusban 100%-os volt, ami a sejtmembránok letális károsodására utal.

8.1.6. A kezelések hatása a virág primordium kezdeti fejlődésére és a hajtáscsúcsok totál ROS-ok akkumulációjára

A virág primordium kezdeti fejlődését a hajtáscsúcsok (apexek) morfológiájának a vizsgálatával követtük nyomon a 3 hetes regenerációs periódust követően. A fejlődési habitusnak megfelelően az őszi búza, Ch apexek csak az elongációs szakasz kezdetén (1. fejlődési fázis), míg a tavaszi Tsp esetében már a növekvő kalászkezdemény fázisban (4. fázis) voltak ekkor a Gardner féle skála (1985) szerint (14. ábra, 2. melléklet). A Ch-ben az apex fejlődését nem befolyásolták a kezelések (0, 1 fejlődési fázis), de a Tsp-ben a kezelések többsége (kivéve a 0,5 mM GSSG) felgyorsította azt (kontroll: 4, kezelt: 5, 6). Az izolált apexeket zöld fluoreszcens festékkel (H₂DCFDA) festettük meg, hogy detektáljuk az a totál ROS-ok mennyiségét a 3 hetes regenerációs fázis végén. Az AsA (1 mM és 2 mM), a GSH (1 mM és 2 mM) és az 1 mM GSSG kezelések hatására enyhén megnövekedett a ROS-ok mennyisége Ch-ben, míg Tsp-ben jelentős változást nem tapasztaltunk.



14. ábra. A redox és ozmotikus kezelések hatása a hajtáscsúcs morfológiájára és a totál ROS tartalomra. A 3 hetes regenerációs fázis végén hajtáscsúcsot izoláltunk, hogy megvizsgáljuk a kezelések hatását az apexek fejlődésére (1. és 3. sor) és detektáljuk a peroxidok mennyiségét (2. és 4. sor). A többi kezeléshez tartozó fotókat a 2. melléklet tartalmazza. A natív fotók jobb sarkában lévő számok a fejlődési fázisokra utalnak. 0: vegetatív apex; 1: az elongációs szakasz kezdete; 2: egyszeres befűződés, 3: kettős befűződés, vegetatív/generatív átmenet; 4: növekvő kalászkezdemény; 5: pelyvalevél kezdemény. A vonal 200 μm-t jelez.

8.2. A szabad aminosavak mennyiségének redox szabályozása lúdfűben

8.2.1. Az aszkorbát és a glutation mennyiségének és redox állapotának változásai

Kísérletünkben a redox kezelések szabad aminosavakra gyakorolt hatását vizsgáltuk vadtípusú lúdfűben és glutation-, illetve aszkorbát-hiányos mutánsokban. A kezelések hatására megváltozott a sejtek redox állapota, mely változást a glutation és az aszkorbinsav redukált és oxidált formáinak mérésével követtük nyomon. Ezen kívül a glutation egyik prekurzora (γ-glutamil-cisztein) és bomlásterméke (ciszteinil-glicin) esetében a redukált és oxidált formáinak mennyiségét és arányát is vizsgáltuk a 3 napos kezelés után.

Várakozásunknak megfelelően a redukált aszkorbát tartalom az AsA-hiányos *vtc2-1* mutánsokban 75%-kal volt alacsonyabb a vadtípusú növényekben mért AsA koncentrációhoz képest kontroll körülmények között (15A. ábra). Érdekes módon az AsA kezelés nem emelte az AsA koncentrációját, de a GSH kezelés hatására elérte a vadtípusban mért szintet a *vtc2-1* mutáns növényekben. Mindezen túl a GSH kezelés hatására szignifikánsan megnőtt az AsA mennyisége a Col-0 és *pad2-1* mutánsokban is. A többi kezelés közül csupán a H₂O₂ emelte meg az AsA szintjét *pad2-1* mutánsokban a kontroll Col-0 növényekben mért értékhez képest. A DHA koncentrációban a kezelések nem okoztak szignifikáns változást (15B. ábra). A *vtc2-1* növényekben az AsA/DHA arány minden kezelés esetében alacsonyabb volt a kontroll Col-0 növények AsA/DHA arányához képest (15C. ábra). Az aszkorbát oxidált és redukált formáinak arányára a kezelések nem hatottak, kivéve a GSH kezelést a Col-0 genotípusban, ahol ez az érték lecsökkent.

A kontroll Col-0-hoz képest a *pad2-1* növényekben 82%-kal kevesebb GSH-t mértünk (15D. ábra). Ez az igen alacsony GSH tartalom minden kezelés hatására növekedett a glutation-hiányos növényekben. Az AsA, DTT és H₂O₂ kezelések csak kis mértékben növelték a GSH koncentrációját, míg a GSH kezelés hatására a *pad2-1* növényekben elérte a Col-0 növények GSH szintjét. A GSH mennyisége a H₂O₂ kezelést kivéve, minden kezelés hatására lecsökkent a vadtípusú növényekben a kontrollhoz képest.



15. ábra. A redox kezelések hatása a glutation és aszkorbát mennyiségére és redox állapotára. Az 5 hetes Col-0 (vadtípus), a *vtc2-1* (aszkorbát-hiányos mutáns) és a *pad2-1* (glutation-hiányos mutáns) növényeket különböző redukálószerekkel (GSH: glutation, AsA: aszkorbát, DTT: ditiotreitol; mindegyik 4 mM) és egy oxidálószerrel (10 mM H_2O_2) kezeltük 3 napig. A: aszkorbinsav (AsA); B: dehidro-aszkorbinsav (DHA); C: AsA/DHA arány; D: glutation (GSH); E: glutation-diszulfid (GSSG); F: GSH/GSSG arány. A vizsgált csoportok összehasonlítása egyutas ANOVA-val, majd LSD-teszt analízis alapján történt (P<0,05%). A kezeletlen kontroll (Col-0) mintáktól szignifikánsan eltérő értékeket csillaggal jelöltük.

A *vtc2-1* mutánsokban a GSH kezelés megemelte, az AsA pedig csökkentette a GSHszintjét. A GSSG mennyisége mindhárom genotípusban megnövekedett a GSH kezelés hatására. Emellett még szignifikáns emelkedést tapasztaltunk AsA kezelés után vadtípusú növényekben (15E. ábra). A GSH/GSSG arány kontroll körülmények között a *pad2-1* mutánsokban kisebb, míg a *vtc2-1* növényekben nagyobb volt a vadtípushoz képest (15F. ábra).



16. ábra. A redox kezelések hatása a γ-glutamilcisztein és ciszteinil-glicin mennyiségére és redox állapotára. Az 5 hetes Col-0 (vadtípus), *vtc2-1* (aszkorbát-hiányos mutáns) és *pad2-1* (glutation-hiányos mutáns) növényeket különböző koncentrációjú redukálószerekkel (GSH: glutation, AsA: aszkorbát, DTT: ditiotreitol; mindegyik 4 mM) és egy oxidálószerrel (10 mM H₂O₂) kezeltük 3 napig. A: γ-glutamilcisztein (γ-EC); B: γ-glutamilcisztin (γ-ESSE); C: γ-EC/γ-ESSE arány; D: ciszteinil-glicin (Cys-Gly); E: cisztinil-glicin (CySS-Gly); F: Cys-Gly/CySS-Gly. A vizsgált csoportok összehasonlítása egyutas ANOVA-val, majd LSD-teszt analízis alapján történt (P<0,05%). A kezeletlen kontroll mintáktól szignifikánsan eltérő értékeket csillaggal jelöltük.

A GSH és AsA kezelések csökkentették a GSH/GSSG arányt mindhárom genotípusban, míg a DTT és a H₂O₂ kezelések a Col-0 növényekben hatottak hasonlóan.

Ellentétben a GSH-val, perkurzorának, a γ -glutamil-ciszteinnek (γ -EC) a mennyiségére nem voltak nagy hatással a mutációk és a kezelések, hiszen csak a GSH kezelés növelte a szintjét a *pad2-1* mutánsban (16A. ábra). Az oxidált forma, a γ -glutamil-cisztin (γ -ESSE) esetében viszont a GSH mindhárom genotípusban, az AsA kezelés a vadtípusban és a DTT a *vtc2-1* mutánsban idézett elő növekedést a kontroll *Col-0* növényekhez képest. (16B. ábra). A γ -EC/ γ -ESSE arányra a GSH és ASA kezelések hatottak (16C. ábra). A H₂O₂ növelte az arányt a *vtc2-1*-ben. A GSH hatására kisebb lett Col-0 és *vtc2-1* esetében, míg az ASA a *pad2-1* és Col-0 növényekben csökkentette ezt a paramétert.

A glutation bomlástermékének, a ciszteinil-glicinnnek (Cys-Gly) a koncentrációja a *pad2-1* mutánsokban kontroll körülmények között is igen nagy volt a vadtípushoz képest. Ez a koncentráció a kezelések után is megfigyelhető volt, sőt a GSH kezelés tovább növelte. Ezen kívül a Col-0-ban a GSH és a DTT, a *vtc2-1*-ben pedig a DTT hatására volt nagyobb a kezeletlen Col-0-hoz képest (16D. ábra). A cisztinil-glicin (CySS-Gly) koncentrációjára a legerősebben a GSH kezelés hatott, hiszen mindhárom genotípusban megemelte a szintjét (16E. ábra). A DTT a Col-0 és a *vtc2-1* növényekben, a H₂O₂ pedig a *pad2-1* mutánsban idézett elő növekedést az oxidált forma mennyiségében. A Cys-Gly/CySS-Gly arányában a kezelések és a mutációk nem okoztak szignifikáns változást a kezeletlen Col-0-hoz képest (16F. ábra).

8.2.2. A kezelések hatása a hidrogén-peroxid tartalomra

Az AsA-GSH ciklusban lebomló H_2O_2 mennyiségét is vizsgáltuk a redox kezeléseket követően. A *pad2-1* mutánsban kontroll körülmények között nagyobb volt a koncentrációja, amit a Col-0-ban mért érték, és ez a különbség a kezelések után is megmaradt a DTT-t kivéve. A másik két genotípusban nem figyeltünk meg szignifikáns változást a H_2O_2 szintjében a kezeletlen Col-0-hoz képest (17. ábra).



17. ábra. A redox kezelések hatása a hidrogén-peroxid tartalomra. Az 5 hetes Col-0 (vadtípus), *vtc2-1* (aszkorbát-hiányos mutáns) és *pad2-1* (glutation-hiányos mutáns) növényeket különböző redukálószerekkel (GSH: glutation, AsA: aszkorbát, DTT: dithiotreitol; mindegyik 4 mM) és egy oxidálószerrel (10 mM H_2O_2) kezeltük 3 napig. A vizsgált csoportok összehasonlítása egyutas ANOVA-val, majd LSD-teszt analízis alapján történt (P<0,05%). A kezeletlen kontroll mintáktól szignifikánsan eltérő értékeket csillaggal jelöltük.

8.2.3. A redox kezelések hatása az oldható fehérjetartalomra

A vadtípushoz képest szignifikánsan nagyobb fehérjetartalmat mértünk a mutáns genotípusokban (*vtc2-1*, *pad2-1*) kontroll körülmények között (18. ábra). Ez a nagy fehérjeszint a *pad2-1* mutáns növényekben a kezelések hatására lecsökkent, míg az aszkorbinsav-hiányos növényekben az AsA és DTT kezelések tovább növelték. A H_2O_2 kezelés csökkentette a fehérjék mennyiségét *vtc2-1* növényekben. A vadtípusban a DTT kivételével a többi kezelés emelte a fehérjetartalmat.



18. ábra. A redox kezelések hatása a fehérjetartalomra. Az 5 hetes Col-0 (vadtípus), *vtc2-1* (aszkorbáthiányos mutáns) és *pad2-1* (glutation-hiányos mutáns) növényeket különböző redukálószerekkel (GSH: glutation, AsA: aszkorbát, DTT: dithiotreitol; mindegyik 4 mM) és egy oxidálószerrel (10 mM H_2O_2) kezeltük 3 napig. A vizsgált csoportok összehasonlítása egyutas ANOVA-val, majd LSD-teszt analízis alapján történt (P<0,05%). A kezeletlen kontroll mintáktól szignifikánsan eltérő értékeket csillaggal jelöltük.

8.2.4. A redox kezelések hatása a szabad aminosav szintekre

Kísérletünkben 28 aminosav koncentrációjának változásait vizsgáltuk a 3 napos redox kezelések után. Kontroll körülmények között az összes szabad aminosav tartalom magasabb volt a mutáns genotípusokban a vadtípushoz képest (19A. ábra). A GSH és a H₂O₂ növelte az aminosavak összmennyiségét mindhárom genotípusban, míg az AsA a két mutánsban. A DTT nem okozott szignifikáns változást. A legnagyobb hatást a GSH kezelés okozta a *pad2-1* növényekben, ahol 2-4 szer nagyobb szabad aminosav tartalmat mértünk a többi kezeléshez képest (19A. ábra). A különböző aminosav családok arányának változását is megfigyeltük a kísérletünkben (19B. ábra). A glutaminsav (~50%) és az aszparaginsav (~30%) családok arányai voltak többnyire a legnagyobbak. Viszont a GSH kezelés lecsökkentette az arányukat mindhárom genotípusban, és ezzel párhuzamosan az egyéb aminosavakat tartalmazó csoport néhány %-ról közel 40%-ra növekedett.



19. ábra. A redox kezelések hatása az összes szabad aminosav tartalomra (A) és az aminosav családok arányára (B). Az 5 hetes Col-0 (vadtípus), *vtc2-1* (aszkorbát-hiányos mutáns) és *pad2-1* (glutation-hiányos mutáns) növényeket különböző redukálószerekkel (GSH: glutation, AsA: aszkorbát, DTT: ditiotreitol; mindegyik 4 mM) és egy oxidálószerrel (10 mM H_2O_2) kezeltük 3 napig. A vizsgált csoportok összehasonlítása egyutas ANOVA-val, majd LSD-teszt analízis alapján történt (P<0,05 %). A kezeletlen kontroll (Col-0) mintáktól szignifikánsan eltérő értékeket csillaggal jelöltük.

A szerin család aránya a kezelések hatására nagyobb lett mindegyik vizsgált genotípusban, kivéve a GSH kezelést.

A kezelések és a mutációk szabad aminosavak koncentrációjára gyakorolt hatását egy hierarchikus klaszterezéssel készített hőtérképen is ábrázoltuk a nagy mennyiségű adat jobb áttekinthetősége végett (20. ábra). A szabad aminosav tartalmakat a kontroll Col-0 növényekben mért értékekhez hasonlítottuk. A kezelések közül a GSH hatása volt a legjelentősebb. A *pad2-1* mutánsban a legtöbb vizsgált aminosav koncentrációja megemelkedett a kezelés után. A másik két genotípusban is megfigyelhető volt ez a hatás, de jóval kisebb mértékben. Az AsA-GSH ciklus másik két résztvevője, az AsA és a H₂O₂ is számos szabad aminosav koncentrációjára volt hatással. A kezelések többnyire emelték az aminosavak szintjét, habár néhány esetben szignifikáns csökkenést idéztek elő. Érdekes

módon a szintetikus redukálószer, a DTT széleskörű hatása elmaradt, hiszen csak a cisztein koncentrációját növelte mindhárom genotípusban. A glutaminsav család több tagjának (Glu, Gln, Orn, Pro) is hasonlóképpen változott a koncentrációja kezelések után. A többi klaszterbe különböző családokba tartozó olyan aminosavak kerültek, melyek koncentrációja jelentős változásokat mutatott a kezeléseket követően. A NPAAs csoportból az Aaa, a Cysta (cisztation) és az Aba (α-amino vajsav) mennyisége nőtt meg kimagaslóan GSH kezelés hatására. Habár több más aminosav koncentrációnál is tapasztaltunk változást (főleg növekedést), de ezek az értékek nem voltak szignifikánsak a kontroll Col-0 szabad aminosav értékeihez képest. Az összes aminosav tartalomban bekövetkező változások hasonlóak voltak a glutaminsav család tagjainál mért változásokhoz. Ez a hasonlóság a glutaminsav család összes aminosav koncentrációban betöltött 50%-os arányával magyarázható.



20. ábra. A redox kezelések hatása a szabad aminosavak relatív mennyiségére a vizsgált genotípusokban (c: Col-0, p: pad2-1, v: vtc2-1). Az összes értéket a kontroll Col-0-ban mért értékkel normalizáltuk. Az 5 hetes Col-0 (vadtípus), vtc2-1 (aszkorbát-hiányos mutáns) és pad2-1 (glutation-hiányos mutáns) növényeket különböző redukálószerekkel (GSH: glutation, AsA: aszkorbát, DTT: dithiotreitol; mindegyik 4 mM) és egy oxidálószerrel (10 mM H2O2) kezeltük 3 napig. A vizsgált csoportok összehasonlítása egyutas ANOVA-val, majd LSD-teszt analízis alapján történt (P<0,05%). A mintáktól Col-0 kezeletlen kontroll szignifikánsan eltérő értékeket csillaggal jelöltük. A vizsgált, fehérjét nem építő aminosavak (NPAAs): Aaa: α-aminoadipinsav; Aba: α-amino-vajsav; Cit: citrullin; Baiba: 3-amino-izovajsav; Bala: βamino-propionsav; Cysta: cisztation; Gaba: y-amino-vajsav; Orn: ornitin;



21. ábra. A szabad aminosavak aránya (%) a glutaminsav családban (A) és a szerin családban (B). Az 5 hetes Col-0 (vadtípus), *vtc2-1* (aszkorbát-hiányos mutáns) és *pad2-1* (glutation-hiányos mutáns) növényeket különböző redukálószerekkel (GSH: glutation, AsA: aszkorbát, DTT: dithiotreitol; mindegyik 4 mM) és egy oxidálószerrel (10 mM H_2O_2) kezeltük 3 napig. Az Orn 1 %-nál kisebb arányban volt jelen a Glu családban, így nem került ábrázolásra.

A Pro aránya a glutaminsav családon belül a legtöbb kezelés hatására növekedett mindegyik genotípusban, míg a Gln és Glu aránya csökkent a kezeletlen Col-0 értékeihez képest (21A. ábra). Az AsA, GSH és H₂O₂ kezelés az Arg arányában is növekedést idéztek elő. A szerin családban 85-90%-os aránnyal a fő aminosav a Ser volt minden mintánál, kivéve a DTT kezelést, ahol a Cys 10-15%-os arányról 25-50%-osra nőtt (21B. ábra).

Az aszparaginsav családban az Asp, Asn és Thr együtt 90%-ot értek el, de arányuk csak kismértékben vagy nem változott a kezelések után (22A. ábra). A piruvát családban az Ala-nak 70-75% aránya volt kontroll körülmények között, ami a legtöbb kezelés hatására lecsökkent. Ezzel a változással párhuzamosan a Val és Leu arány növekedett a kezelések után (22B. ábra). Két aromás aminosav, a Tyr és a Phe is kimutatható

mennyiségben volt a mintáinkban (22C. ábra). Az aromás aminosavak családjában a Phe tartalom elérte a 65-75%-ot Col-0 és *vtc2-1* növényekben, míg 35% volt *pad2-1* esetében kontroll körülmények között. A *pad2-1* genotípusban a Phe aránya megemelkedett az összes kezelés hatására. A másik két genotípusban a DTT csökkentett az arányát. Mindezen az 5 aminosav családba tartozó aminosavakon kívül 8 másik aminosavat is kimutattunk (a His és 7 fehérjét nem kódoló aminosav, 22D. ábra). Közülük kiemelkedő növekedést mutatott az Aaa, amelynek aránya ezen a csoporton belül 15-20%-ról 85-90%-ra ugrott GSH kezelést követően mindhárom genotípusban. Az Aaa szintjében kisebb növekedést tapasztaltunk az AsA és a H_2O_2 kezeléseket követően a *vtc2-1* mutánsban.

A redox szabályozás és az aminosav anyagcsere közötti kapcsolatot korreláció analízissel is sikerült megerősítenünk. A genotípusok alapján végzett elemzés révén a redox paraméterek és számos aminosav koncentrációja között nagyon szoros pozitív (r>0,9) korrelációt találtunk a vizsgált genotípusokban: Col-0 – AsA (2); GSSG (2); *pad2-1* – AsA (9); GSH (13); GSSG (8); *vtc2-1*- AsA (2); DHA (3) (4. melléklet). A kezelések alapján végzett elemzésben a következő redox paraméterek mutattak nagyon magas pozitív (+) vagy negatív (-) korrelációt egyes aminosavak koncentrációjával (a számukat és a korreláció irányát a zárójelben jelezzük): Kontroll – DHA (+: 1; -: 8); GSH (+:6; -: 5); H₂O₂ (+: 5 ; -: 3); GSH kezelés – AsA/DHA (+: 19); H₂O₂ (+: 17); AsA kezelés – DHA (+: 7; -: 2); GSH (+: 2; -: 6); GSSG (+: 2; -: 8); GSH/GSSG (+: 12); H₂O₂ (+: 13; -: 1); DTT kezelés – DHA (+: 7; -: 3); GSH (+: 5; -: 3); GSSG (+: 4; -: 5); GSH/GSSG (+6; -6); H₂O₂ (+4; - 5); H₂O₂ kezelés – AsA (+2; -8); DHA (+6; -2); AsA/DHA (-9); H₂O₂ (+2; -7) (5. melléklet).



22. ábra. A szabad aminosavak aránya (%) az aszparaginsav családban (A), a piruvát családban (B), az aromás aminosavak családjában (C) és az egyéb aminosavak csoportjában (D). Az 5 hetes Col-0 (vadtípus), *vtc2-1* (aszkorbát-hiányos mutáns) és *pad2-1* (glutation-hiányos mutáns) növényeket különböző redukálószerekkel (GSH: glutation, AsA: aszkorbát, DTT: ditiotreitol; mindegyik 4 mM) és egy oxidálószerrel (10 mM H₂O₂) kezeltük 3 napig.

8.2.5. A prolin anyagcseréhez kötődő gének redox szabályozása

Kísérletünkben több aminosav is igen érzékenyen reagált az alkalmazott redox kezelésekre. Ezek közül a prolint választottuk ki génexpressziós vizsgálatokra, hiszen amellett, hogy a legtöbb mintában változott a koncentrációja, számos kísérletben igazolták a stresszválaszban betöltött szerepét.



23. ábra. A prolin anyagcseréjében résztvevő gének relatív expressziója. A prolin bioszintéziséhez (*P5CS1*, *P5CS2*, *OAT*) és lebontásához (*PDH*, *P5CDH*) kapcsolódó gének expresszióját vizsgáltuk és a Pro valamint prekurzorjai (Glu, Orn) szintjét is megmértük a kísérletben. Az 5 hetes Col-0 (c, vadtípus), *vtc2-1* (v, aszkorbát-hiányos mutáns) és *pad2-1* (p, glutation-hiányos mutáns) növényeket különböző redukálószerekkel (GSH: glutation, AsA: aszkorbát, DTT: dithiotreitol; mindegyik 4 mM) és egy oxidálószerrel (10 mM H₂O₂) kezeltük 3 napig. Az expressziós szinteket minden genotípusban saját kontrolljához normalizáltuk. A mutációk hatását a vizsgált gének relatív expressziójára (Col-0-hoz viszonyított) kontroll körülmények között a jobb oldalon lévő diagramon mutatjuk be. A normalizáláshoz endogén kontrollként az *Actin2* (Wang és mtsai. 2014) gént használtuk A vizsgált csoportok összehasonlítása egyutas ANOVA-val, majd LSD-teszt analízis alapján történt (P<0,05%). A kezeletlen kontroll mintáktól szignifikánsan eltérő értékeket csillaggal jelöltük.

Megvizsgáltuk annak a lehetőségét, hogy a prolin szintjében bekövetkező változások az anyagcseréjében résztvevő enzimeket kódoló gének expressziós változásaiból erednek-e.

A Pro bioszintézis két útvonalon történhet. Az OAT az egyik útvonalon szerepet játszó enzimet kódol. Az OAT transzkripciós szintje GSH kezelés hatására mindhárom genotípusban megnövekedett, míg a DTT és AsA kezelések csak a *vtc2-1* növényekben növelték az expresszióját (23. ábra). A *P5CR* expressziója kismértékű növekedést mutatott AsA kezelés után Col-0 és *vtc2-1* növényekben és H₂O₂ hatására minden genotípusban. A másik útvonalon lévő *P5CS1* expresszióját az AsA kezelés növelte vadtípusú növényekben, míg a H₂O₂ *pad2-1* mutánsban, a GSH pedig a *vtc2-1*-ben. A *P5CS2* más expressziós mintázatot mutatott a kísérletben. Érdekes módon az expressziója sokkal magasabb volt kontroll körülmények között és GSH hatására a *vtc2-1* mutánsokban a másik két genotípushoz képest. H₂O₂ kezelésnél nagyobb expressziós szintet mutatott *pad2-1* mutánsokban. Mindemellett az aszkorbát-hiányos mutánsban a *P5CS2* expressziós szintje szignifikánsan lecsökkent H₂O₂ kezelés hatására a kezeletlen kontroll növényekben mérthez képest.

A prolin katabolizmusban résztvevő két enzim génjének (*P5CDH*, *PDH*) expressziós mintázatát is megvizsgáltuk. A *P5CDH* transzkripciós szintje nagyobb volt H_2O_2 kezelést követően mindhárom genotípusban. Az AsA kezelés mindkét mutánsban, a GSH kezelés a *pad2-1* mutánsban növelte az expresszióját. A *PDH* kifejeződését a GSH és AsA kezelések Col-0 növényekben, míg a GSH és H_2O_2 a *pad2-1* mutánsban növelte.

A genotípusok alapján végzett korreláció elemzés alapján nagyon szoros korrelációt (r>0,9) találtunk néhány redox paraméter és az Orn, a Glu mennyisége és az *OAT* kifejeződése között *pad2-1* mutánsban. Ez a kapcsolat a másik két genotípus esetében nem volt megfigyelhető. A kezelésenként végzett analízis nagyon magas korrelációt (r>0,9) mutatott a redox vegyületek és a *P5CS1*, *P5CS2*, *P5CDH*, *PDH* és *OAT* gének kifejeződése között AsA-kezelt növényekben. Hasonló nagyon szoros korrelációt mutattak a redox vegyületek a Pro koncentrációval és a *P5CDH*, *OAT* gének kifejeződésével DTT-kezelt növényekben, míg a *PDH* gén kifejeződésével H₂O₂-kezelést követően.

9. MEGVITATÁS ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

9.1. A fagytűrés és a virág primordium kezdeti fejlődésének redox szabályozása búzában

9.1.1. A tiolok redox állapotának módosítása

A tiolok redox állapotának módosítása lehetőséget nyújt a fejlődés, növekedés és stresszválasz szabályozásában betöltött szerepük tanulmányozása. Ez történhet különböző vegyszerekkel, illetve a redox rendszerhez kapcsolódó enzimek túltermeltetésével vagy gátlásával. A vegyszeres kezelés viszonylag egyszerűen kivitelezhető hidropónikus kultúrában, a növények tápoldatához adott vegyszerekkel. Hátrányaként említhető, hogy a növények gyökere sokkal nagyobb hatásnak van kitéve a hajtáshoz képest, mivel közvetlenül érintkezik az alkalmazott vegyszerekkel. Ezen kívül a vegyszerek sokszor egyéb nem kívánatos változásokat is előidéznek. A redox homeosztázis vegyszeres kezelésekkel történő módosítását már sikeresen alkalmazták növényi rendszerekben, mint például kukoricában (Kocsy és mtsai. 2001). A másik megközelítésben a redox rendszerhez kapcsolódó enzimek gátlásával, illetve túltermeltetésével módosítható a sejtek redox állapota. Ezzel a módszerrel, sokkal specifikusabb és ellenőrizhetőbb változásokat indukálhatunk. Erre nagyon jó példa, a glutation-S-transzferázt és a glutation peroxidázt kódoló gén túltermeltetése, amely megváltoztatta a glutation redox állapotát és a mennyiségét dohányban (Roxas és mtsai. 1997).

Kísérletünkben a glutation, a cisztein és a hidroximetil-glutation redukált és oxidált formáinak mennyiségét és redox állapotát vizsgáltuk meg vegyszeres kezelést követően. A glutation redox státuszának változása nagyobb hatással van a redox környezetre, mivel koncentrációja 3-4-szer nagyobb a hidroximetil-glutationnál és 10-szer nagyobb a cisztein mennyiségénél. A glutation ideális redox állapotának fenntartása kulcsfontosságú a növény életében, hiszen igazolták, hogy a redukciós potenciáljában történő 10-20 mV-os változás csökkenti több növényfaj csírázási képességét (Kranner és mtsai. 2006). A vizsgált tiolok redox állapotát jelentősen módosították a tápoldathoz adott redukálószerek, oxidálószerek és ozmotikumok kísérletünkben. A glutation redox állapotára a GSH és a GSSG kezeléseken kívül más kezelések is hatottak. Ebből arra következtethetünk, hogy a glutation redox állapotának változása nem a bioszintézisének "feed-back" szabályozásából következik, hanem egy sokkal általánosabb redox szabályozási folyamat révén alakul ki. Az AsA és a H₂O₂ kezelések az AsA-GSH cikluson keresztül hathatnak a glutation redox állapotára. A NaCl és a PEG kezelések hatására ozmotikus stressz indukált H₂O₂ felhalmozódás történik, amely ugyancsak befolyásolhatja a glutation redox státuszát. A GSH/GSSG redoxpár redukciós potenciálja szignifikánsan növekedett a kezeléseket követően a fagytűrő Ch-ben 20/17°C-on, míg Tsp-ben nem tapasztaltunk változást az értékében. A vegyszeres kezelések hideggel (5°C) történő kombinálásának hatására hasonló változásokat figyeltünk meg a tavaszi genotípusban (Tsp), mint a Ch-ben 20/17°Con. Ezen genotípusok közötti különbségek adódhatnak a kombinált kezelés előtti különböző antioxidáns szintekből, mivel magasabb GSSG tartalom és E_{GSH/GSSG} értékek voltak jellemzőek a fagytűrő Ch esetében a fagyérzékeny Tsp-hez képest.

A glutationon kívül másik két tiol, a cisztein és a hidroximetil-glutation is befolyásolhatja a növényi sejtek redox környezetét, illetve a redox érzékeny molekulák aktivitását és struktúráját (Birtić és mtsai. 2011). Az alkalmazott kezelések csak a diszulfidformák mennyiségét és a redukciós potenciált növelték a vizsgált tioloknál 20/17°C-on Ch-ben. Alacsony hőmérsékleten (5°C) viszont a glutation és cisztein redox állapota hasonló módon változott mindkét genotípusban. Az 1 mM és a 2 mM GSH kezelések ellentétes hatással voltak a cisztein és a glutation redox állapotára. Ez a különbség a cisztein szintézis kulcs enzimének, az adenozin-foszfoszulfát reduktáznak a GSH érzékenységével magyarázható (Bick és mtsai. 2001). Feltételezhető az, hogy az 1 mM GSH kezelés nem hatott az *APSR*-re, míg a nagyobb koncentráció gátolta a működését. Következésképpen a Cys és GSH mennyiségét csökkenti a 2 mM GSH kezelés. Az oxidált formák (GSSG) koncentrációjának emelkedését pedig a glutation reduktáz gátlásával magyarázhatjuk, amit a 2 mM GSH kezelés váltott ki (Chung és mtsai. 1991). Bár újabban kimutatták, hogy a glutation reduktáz oxidáltabb formában stabilabb (Rao & Reddy 2008).

A hidroximetil-glutation esetében, ami egy glutation homológ a *Poaceae* családban, a hmGSSG mennyisége kontroll körülmények között minimális volt Ch-ben, habár a kezelések hatására jelentősen megnövekedett. Ezzel ellentétben, Tsp-ben az összmennyisége lecsökkent a legtöbb kezelés után. A tavaszi és őszi búza genotípusok között megfigyelt különbség alapján feltételezhető, hogy a hmGSH/hmGSSG redoxpárnak speciális szerepe van a hideg akklimatizációt és a virágkezdemény kezdeti fejlődését befolyásoló redox-érzékeny molekulák szabályozásában a pázsitfűfélék családjában. A hideg által előidézett redox változások felerősödtek a vegyszeres kezeléssel kombinált

alacsony hőmérséklet hatására mindkét genotípusban. Ezt a jelenséget Soltész és mtsi is megfigyelték (2011).

9.1.2. A fagytűrés redox szabályozása

A hideg akklimatizáció során zajló redox változások jelentőségét bizonyítja, hogy szoros kapcsolatot mutattak ki a redox változások és a fagytűrés között fiatal búza növényekben (Soltész és mtsai. 2011). Ezen megfigyelést erősíti, hogy a redox és ozmotikus kezelések hatására az oxidált tiolok mennyisége nagymértékben megemelkedett a fagytűrő Ch-ben. Ezzel párhuzamosan magasabb fagytűrési szintet figyeltünk meg Chben, míg Tsp-ben ez nem volt tapasztalható. A GSSG szintben történő növekedésnek fontos szerepe van a fagytűrés kialakításában, amit alátámaszt az is, hogy a magasabb sóés hideg tolerancia magasabb GSSG szinttel járt együtt transzgénikus dohányban (Roxas és mtsai. 1997). Mindezen túl a stresszhatásokat jobban toleráló búza genotípusban a glutation redox állapota és mennyisége az érzékenyebb genotípushoz képest nagyobb változásokat mutatott ozmotikus stressz hatására (Kocsy és mtsai. 2004). A GSH és GSSG arányának és mennyiségének változásai befolyásolhatják a növény anyagcsere folyamatait a tiol/diszulfid átalakuláson vagy a fehérjék (de)glutationálásán keresztül. A Cys/CySS és hmGSH/hmGSSG arányában történő változások hasonló hatást gyakorolhatnak a fehérjékre és így a fagytűrésre is. A glutation redukciós potenciálja és a fagytűrés között egy közepes mértékű korrelációt találtunk (r: 0,64) őszi búza esetében, míg a tavaszi búzánál nem volt értékelhető kapcsolat közöttük (r: 0,08) (3. melléklet). Ebből következik, hogy a kezelések által indukált redox változások csak a Ch fagytűrését javították, ahogy ezt a relatív konduktancia értékek is mutatták -11 és -13 °C-os fagytesztet követően.

A két genotípus különbözőképpen reagált a redox és ozmotikus kezelésekre, amit egy modellel szemléltetünk (23. ábra). A modell az E_{GSH/GSSG} értékek, a génexpresszió, a fagytűrés és a virágkezdemények fejlődése között talált különbségeken és korrelációkon alapszik. A kísérlet adataival végzett korrelációs elemzésből kiindulva az alkalmazott vegyszerek eltérő módon hatottak a glutation redukciós potenciáljára a két genotípusban. A Ch-ben már 20/17°C-on is növekedést indukáltak (20 mV), míg Tsp-ben csak 5°C-on volt ez megfigyelhető. Az E_{GSH/GSSG} értékeiben tapasztalt növekedés hozzájárulhatott ahhoz, hogy a *ZCCT2* expressziója átlagosan kétszer nagyobb volt 5°C-on Ch-ben, mint a Tspben. A ZCCT2 transzkripciós szintjének ez a különbsége hatással lehetett a két genotípusban tapasztalt különböző fokú fagytűrésre és a virágkezdemény eltérő fejlődési állapotára. Érdekes módon a ZCCT1 expressziójánál a genotípusok közötti különbség csak néhány kezelés után volt megfigyelhető. A ZCCT1 és ZCCT2 kifejeződése hasonló korrelációt mutatott a megvizsgált gének transzkripciós szintjével. A ZCCT2 redox érzékenysége a másik genotípusban (Chinese Spring tavaszi búza) is kimutatható volt egy rövid H₂O₂ kezelés hatására, ahol a kezelés 3. órájában az expressziója 2-3-szorosra nőtt (Kocsy G. nem publikált eredmények). A ZCCT1 és ZCCT2 expresszióját a VRN1 gátolja (Chen & Dubcovsky 2012), melyet korrelációs elemzésünk is megerősített, hiszen negatív korrelációt találtunk közöttük mindkét genotípusban. A Tsp-ben a ZCCT2 kifejeződése nagymértékben, míg az őszi genotípusban csak kis mértékben csökkent. Így az utóbbiban az expressziós szint még elegendő volt ahhoz, hogy a VRN3-at gátolja és a növények vegetatív fejlődési fázisban maradjanak. A korrelációelemzés megmutatta, hogy a nagyobb ZCCT2 expresszióhoz nagyobb CBF14 és COR14b expresszió társult Ch-ben a Tsp-ben tapasztaltakhoz képest (3. melléklet). Megfigyeltük, hogy a fagytűrésben fontos szerepet játszó CBF14, COR14b és sAPX1 expresszióját a GSSG növelte, míg a GSH-nak nem volt ilyen hatása. Ezen eredményünkhöz hasonlóan dohányban is kapcsolatot találtak a GSSG tartalom és a stressz tolerancia között (Roxas és mtsai. 1997). Az NF-Y és a ZCCT2 fehérjék közötti interakció alapján (Li és mtsai. 2011) az NF-Y is részt vehet a hideg indukálható gének szabályozásában. A CBF14 és NF-YB kifejeződése közötti negatív korrelációból modellünk alapján arra következtethetünk (3. melléklet), hogy a CBF14 gátolhatja az NF-YB-t. Az NF-YB gátlása a ZCCT2 expressziójának csökkentésével járhat együtt, kialakítva egy "feed-back" szabályozó hurkot a virágzási idő szabályozása és a hidegedződés között.



24. ábra. A *ZCCT2* központi szerepe a fagytűrés és a virág primordium kezdeti fejlődésének redox szabályozásában búzában. A redox kezelések és ozmotikumok különböző idejű és szintű változásokat indukáltak az E_{GSH/GSSG} értékekben és a *ZCCT2* expressziójában Ch-ben (baloldal) és Tsp-ben (jobboldal). A nagyobb *ZCCT2* transzkripciós szint a Ch-ban olyan gének megemelkedett kifejeződésével járt együtt (*CBF14*, *APSR* és *sAPX1*), melyek részt vesznek a fagytűrés kialakításában. Az NF-YB hatással lehetett egy szabályozó hurkon keresztül a *ZCCT2*-re, ami befolyásolhatta az ABA- függő fagytűrést az *NCED1*-en keresztül. Az alacsonyabb *ZCCT2* szint Tsp-ben a virágkezdemény kezdeti fejlődését szabályozó gének (*OXS2*, *FKF1*, *VRN1*) indukciójával járt együtt. A folytonos vonal korrelációelemzések alapján feltételezett kapcsolatot jelez (vékony vonal: közepes korreláció, vastag vonal: szoros korreláció), míg a szaggatott vonal irodalmi adatok alapján feltételezett kapcsolat. Az összekötő vonalak végén a nyílhegy pozitív, a merőleges vonal negatív korrelációt jelöl. 1: (Foyer & Noctor 2011); 2: (Li és mtsai. 2011); 3: (Vágújfalvi és mtsai. 2000); 4: (Galiba és mtsai. 2009).

Hasonló szabályozási útvonalat írtak le lúdfűben, melyben a *CBF1*, a *SOC1* és az *FLC* (*ZCCT2* ortológ) gének vettek részt (Seo és mtsai. 2009). Az E_{GSH/GSSG} érték változásai

nemcsak a ZCCT-n keresztül, az ABA-tól függetlenül befolyásolhatják a fagytűrésben szerepet játszó gének kifejeződését, hanem az NCED1 (ABA szintézis egyik kulcsenzimét kódolja) transzkripciójának szabályozása révén, az ABA-tól függő úton is (Foyer & Noctor 2011). Modellünk szerint az NCED1 részvételével kialakulhatott egy kapcsolat a hideg indukálható gének ABA-független és ABA-függő szabályozása között az NF-YB-n keresztül, mely kölcsönhatásba lép mind az ABA-függő jelátvitel transzkripciós faktoraival, mind a ZCCT2-vel (Kumimoto és mtsai. 2013; Li és mtsai. 2011). Kísérleteink nem erősítették meg a fagytűrés ABA-függő, közvetlen redox szabályozását, mivel nem találtunk korrelációt az NCED1 expressziója és az E_{GSH/GSSG} értékek között. Azonban az NCED1 kifejeződése szoros korrelációt (r: 0,72 és 0,82) mutatott az APSR és az sAPX1 transzkripciós szintjével. Az APSR és sAPX1 gének expressziója között nagyon szoros korrelációt találtunk (r. 0,94) Ch-ben, amely az AsA-GSH cikluson keresztül történő összehangolt szabályozásukkal magyarázható. Mindezeken túl a redox változások és a fagytűréshez kapcsolódó gének expressziója között találtunk korrelációt (3. melléklet) Tspben is. A ZCCT2 kifejeződése szoros pozitív korrelációt mutatott a CBF14, a COR14b és a CAB expressziójával. A CAB gén expressziója a CBF14, a COR14b és az APSR gének expressziójával korrelált. Ezeknek a géneknek az expressziója alacsony szinten volt Tspben, ami az alacsony ZCCT2 transzkripciós szinttel magyarázható. A fagytűrés és a génexpressziós különbségek közötti kapcsolatot szubsztitúciós vonalak összehasonlításával is igazolták (Kocsy és mtsai. 2010), melyekben a CS5A kromoszómáját a Ch vagy a Tsp 5A (a vernalizációt és a fagytűrést szabályozó Vrn és Fr lókuszokat térképezték erre a kromoszómára) kromoszómája helyettesíti. Ebben a kísérletben körülbelül 100 gént találtak, amelyre a Tsp 5A kromoszómája hatással volt. A Ch 5A kromoszómája viszont 150 gén kifejeződését befolyásolta.

A glutation redukciós potenciáljában indukált változások különbözőképpen hatottak a virágzás gátlásában résztvevő *ZCCT2*-re a két genotípusban, amely eltérő hatással volt a fagytűrésre. A Tsp-ben kisebb fagytűrést tapasztaltunk, míg a Ch-ben nagyobb fagytűrést figyeltünk meg a kezelések után.

9.1.3. A virág primordium kezdeti fejlődésének redox szabályozása

A két vizsgált genotípus eltérően reagált a vegyszerekre és a hideghatásra. A kezeléseket követően a Ch fagytűrése megnőtt, míg a növekedése lelassult. Ezzel szemben a tavaszi genotípusnál teljesen más adaptációs stratégiát figyeltünk meg, hiszen a gyökerek és hajtások növekedése illetve a virág primordium kezdeti fejlődése felgyorsult. A kombinált kezelést (hideg+vegyszer) követően a GSSG tartalom megnövekedett, ami a virágzás megindulásánál leírt jelenség lúdfűben (Hatano-Iwasaki & Ogawa 2012). A GSSG tartalom finom szabályozásának fontosságát bizonyítja, hogy a nagyobb koncentrációnak erősebb hatása volt a virágkezdemény kezdeti fejlődésére Tsp-ben. Feltételezzük, hogy a glutation redox állapotától függő redox változások az egész anyagcserét, így a növények fejlődését és növekedését is befolyásolhatják. Mint ahogy búzában is megfigyeltük, lúdfűben is részt vesz az AsA a virág primordium kezdeti fejlődésének szabályozásában. Megállapították, hogy a virágzás később következik be AsA-hiányos mutánsokban hosszú nappalos megvilágításon (Barth és mtsai. 2006). Habár egy korábbi kísérletben a virágkezdemény fejlődési állapota nem korrelált a különböző antioxidánsok belső szintjével a 3 hetes hideg edzés során (Soltész és mtsai. 2011), a redox kezelések hatására a virág primordium kezdeti fejlődése felgyorsult a hideg kezelést követő regenerációs periódusban. Ez az ellentmondás többféle módon magyarázható. Egyrészt lehetséges, hogy különböző redox folyamatok zajlanak a hideg kezelés alatt és az utána következő regenerációs fázisban. Másrészt a külsőleg hozzáadott redox vegyszerek drasztikus hatással lehettek a virágkezdemény fejlődésére. Az aszkorbinsav és a glutation redox állapota és koncentrációja hatással lehet a virágzásra a H₂O₂ szabályozása révén, ami az AsA-GSH cikluson keresztül valósul meg. Ezenkívül korrelációt találtak az aszkorbátperoxidáz aktivitása, a H₂O₂ szintje és a virágzási idő között aszkorbát-peroxidáz hiányos mutáns, vadtípusú és aszkorbát-peroxidázt túltermelő lúdfű növények vizsgálata során (Chai és mtsai. 2014). A H₂O₂ virágzás-szabályozásban betöltött szerepét az is mutatja, hogy hatására a CONSTANS-LIKE fehérje expressziója megnövekedett (Blanvillain és mtsai. 2011). Felállítottak egy modellt a stressz-indukált korai virágzás genetikai hátterét leíró eredmények alapján, amely a virágzás redox szabályozását mutatja be (Kocsy és mtsai. 2013).

Kísérletünkben a GSH-függő redox változások nagyobb mértékben gátolták a ZCCT2 expresszióját Tsp-ben, mint Ch-ban (12B. ábra). Mivel negatív korrelációt találtunk a

ZCCT2 és a VRN1 transzkripciós szintjei között, feltételezhető, hogy a csökkenő ZCCT2 expresszió VRN1 kifejeződésének növekedésével jár együtt. E két gén kapcsolatáról Chen és mtsi (2012) közöltek eredményeket, miszerint a VRN1 gátolja a ZCCT2 kifejeződését búzában. A ZCCT2 interakcióba lépve az NF-YB-vel együttesen szabályozhatja a VRN1 transzkripciós szintjét egy szabályozó hurkon keresztül. Ezen az útvonalon az NF-YB pozitív hatással lehet a VRN1 expressziójára (Li és mtsai. 2011) (12. ábra). A VRN1 feltételezett redox szabályozását az támasztja alá, hogy kifejeződése sokkal nagyobb volt Tsp-ben a legtöbb kezelés hatására a kontroll növényekhez képest. Mindezen túl a VRN1 pozitív hatással volt az OXS2 és FKF1 génekre, melyek a virágzást segítik elő. Az előzőekben leírtak alapján, a virág primordiumok fejlődése felgyorsult a kezeléseket követően Tsp-ben. Habár a korreláció-analízis kísérletünkben nem mutatott semmiféle közvetlen kapcsolatot a ZCCT2, OXS2 és az FKF1 kifejeződése között, a ZCCT2 aktiválhatja az OXS2-t és az FKF1-t az NF-YB-n és a VRN1-n keresztül. A redox változások (E_{GSH/GSSG}) OXS2 kifejeződésre gyakorolt direkt hatása az ABA közreműködésével valósulhat meg, amely feltevés az E_{GSH/GSSG} és NCED transzkripciós szint között talált pozitív korreláción alapszik (12. ábra). Továbbá az is erősíti hipotézisünket, hogy lúdfűben az ABA és az OXS2 befolyásolja a szárazság indukált korai virágzást hosszú nappalon (Riboni és mtsai. 2013). A virág primordium kezdeti fejlődésének felgyorsulása a Tsp-ben a fagytűrés csökkenésével járt együtt, amit a hideg indukálható gének gátlásával magyarázhatunk (Galiba és mtsai. 2009). A virágkezdemény kezdeti fejlődésével kapcsolatos gének expressziójának redox szabályozását nem csak Tspben, hanem Ch-ben is sikerült megfigyelni. A kismértékű OXS2 és FKF1 kifejeződés összefüggésben lehet a ZCCT2 magas szintjével a köztük lévő negatív korreláció alapján (3. melléklet). A virágzás és a hidegtűrés szabályozásának búzához hasonló összehangolását lúdfűben is leírták (Barth és mtsai. 2006).

9.2. A szabad aminosavak mennyiségének redox szabályozása lúdfűben

9.2.1. Az aszkorbát és a glutation mennyiségének és redox állapotának változásai

Az előző fejezetben leírtak szerint a sejtek redox állapota mind vegyszeres kezelésekkel, mind a ROS-ok és antioxidánsok anyagcseréjének módosításával befolyásolható. A redox állapot kontrolljában fontos AsA-GSH ciklus szabad aminosav-koncentrációra és arányra kifejtett hatását ennek megfelelően kétféleképpen vizsgáltuk meg. Az egyik megközelítés során AsA-hiányos vtc2-1 és GSH-hiányos pad2-1 lúdfű mutánsokat hasonlítottunk össze vadtípusú Col-0 növényekkel kontroll körülmények között. Az irodalmi adatoknak megfelelően sokkal alacsonyabb AsA és GSH szinteket mértünk a vtc2-1 és pad2-1 mutánsokban (Conklin és mtsai. 2000; Parisy és mtsai. 2007). Érdekes módon a pad2-1 mutánsokban a X-EC tartalom nem csökkent le a másik két genotípushoz képest kontroll körülmények között, annak ellenére, hogy a mutáció a γ-EC szintetázt kódoló génben van. Erre az szolgálhat magyarázatul, hogy a glutation szintézis során a χ -EC felhasználás intenzív és gyors volt a másik két genotípusban. Mindemellett a pad2-1 mutánsokban tapasztalt nagy Cys tartalom a mérsékelt y-EC képződéssel magyarázható. Érdekes módon a glutation bomlása során keletkező Cys-Gly 5-ször nagyobb mennyiségben volt jelen a pad2-1 mutánsokban, tehát a glutation metabolizmus teljes felborulását figyelhetjük meg itt.

A másik megközelítés szerint vadtípusú és mutáns lúdfű növényeket kezeltünk különféle redukálószerekkel (AsA, GSH és DTT) és egy oxidálószerrel (H₂O₂). Az AsA, a GSH és a H₂O₂ a redox szabályozás egyik kulcs folyamatának, az AsA-GSH ciklusnak a komponensei. A DTT egy erős szintetikus redukálószer, melynek előállítására a növények nem képesek. Habár a kezelések nem hatottak az AsA-ra, a glutation mennyiségét és redox állapotát a legtöbb kezelés módosította. Ez azzal magyarázható, hogy a glutation kisebb koncentrációban van jelen a növényekben, így érzékenyebben reagál a különféle redox kezelésekre. Ezen tulajdonságából adódik, hogy univerzális stressz markerként is használják a glutation mennyiégének és redox állapotának változását (Kranner és mtsai. 2006). Kísérletünkben a GSH-kezelés hatására mindhárom tiol oxidált formáinak a mennyisége növekedett a vizsgált genotípusokban, melynek oka a GSH felesleg redukáló

enzimekre kifejtett gátló hatása lehetett. Növényekben erre utaló eredmények még nem születtek, de állati rendszerekben kimutatták, hogy a glutation-diszulfid gátolja a glutation reduktáz aktivitását patkányokban (Chung és mtsai. 1991). Az AsA-GSH ciklus összehangolt szabályozására utal, hogy a GSH kezelés növelte az AsA tartalmat *vtc2-1* mutánsokban, míg az AsA kezelés megemelte a GSH szintjét *pad2-1* növényekben. A 3 napos H₂O₂ kezelést követően a H₂O₂ tartalom nem változott. Ebből arra következtethetünk, hogy a növények gyorsan lebontják a H₂O₂-t, ha az túl nagy koncentrációban van jelen. Mindezen túl megfigyeltük, hogy a *pad2-1* mutánsok peroxid tartalma nagyobb volt kontroll körülmények között a másik két genotípushoz képest, ami az alacsony GSH szinttel magyarázható. Eredményeink alapján megállapíthatjuk, hogy a kísérleti rendszerünk alkalmasnak bizonyult a növényi szövetek redox állapotának módosítására. Így felhasználható az indukált redox változások szabad aminosav szintekre gyakorolt hatásának tanulmányozására.

9.2.2. Az aszkorbát- és glutation-függő redox változások hatása a szabad aminosavakra

Mivel az összfehérje tartalom nem vagy csak kis mértékben változott kísérletünkben, a totál szabad aminosav szintekben tapasztalt jelentős változások nem a megváltozott fehérje metabolizmusból származnak. Az AsA-GSH ciklusban résztvevő komponensekkel végzett kezelések és a mutációk hatással voltak a teljes szabad aminosav tartalomra. Azonban a DTT nem hatott rá, ami azt jelzi, hogy az AsA-GSH ciklus speciális módon szabályozza a szabad aminosavak szintjét. Az AsA-GSH ciklus szabad aminosavakra gyakorolt hatására több magyarázat lehetséges. A szabályozás megvalósulhat AsA-függő koenzimek által, illetve az aminosav anyagcseréhez kötődő enzimekben történő tiol/diszulfid konverzióval vagy (de)glutationálással, melyek hatással vannak azok aktivitására (Kocsy és mtsai. 2013).

Az AsA-, a GSH- és az aminosav-tartalom redox szabályozásának összekapcsolódását nyárfában szintén megfigyelték ózon-indukált oxidatív stressz során (Dumont és mtsai. 2014). Azt is megállapították, hogy a GSH részt vesz az aminosavak szintjének szabályozásában transzformáns nyárfában, melyben magasabb volt a GSH szint (Noctor 1998). Kísérletünkben a GSH-kezelt *pad2-1* mutánsokban növekedett (5-szörös) az összes aminosav tartalom a legnagyobb mértékben a kontroll körülmények között mért

értékekhez képest. Érdekes módon a GSH szintjében tapasztalt növekedés mellett 2-szeres Cys tartalmat mértünk, pedig a GSH bizonyítottan gátolja a szulfát redukciót (Kopriva & Rennenberg 2004). Mindezen túl a másik két genotípusban is nagyobb összaminosav szintet mértünk GSH kezelés után a kontroll növényekhez képest, bár a növekedés kisebb volt a pad2-1 mutánshoz képest. A Cys és az összaminosav tartalom párhuzamosan történő növekedése arra enged következtetni, hogy a szulfát- és nitrát-redukció szabályozása összehangolt a két reakcióutat összekötő O-acetil-L-szerinen keresztül. Ezen kívül a GSH szerves nitrogén forrásként szolgált élesztőben (Mehdi & Penninckx 1997). A GSH kezelést követően a különböző aminosav családok arányában nagyon nagy változásokat figyeltünk meg mindhárom genotípusban. Az egyéb aminosavak (His és fehérjét nem kódoló aminosavak) csoportjának aránya 5%-ról 40%-ra növekedett, míg ezzel párhuzamosan az aszparaginsav és glutaminsav család arányai 80%-ról 50%-ra csökkentek. Ennek ellenére sok aminosav szintje emelkedett ebben a két családban is a GSH-kezelést követően. Az egyéb aminosavak arányának nagy növekedése a közéjük tartozó alfa-aminoadipinsav koncentrációjának jelentős emelkedésével (5-10%-ról 85-90%-ra) magyarázható. Ez azt jelzi, hogy az α -amino-adipinsav anyagcseréje nagyon érzékeny a GSH-ra. Az α-amino-adipinsav egy Glu analóg, amely a Lys anyagcserében vesz részt. Habár a növényekben szerepe és funkciója még tisztázatlan, állati rendszerekben kimutatták, hogy gátolja a Glu transzportot (Haugstad & Langmoen 1997).

Az egyéb aminosavak családjával ellentétben, a szerin család aránya nem változott GSH kezelés hatására, de több más kezelés hatására növekedett a vizsgált genotípusokban. Ez érdekes megfigyelés, mivel a glutation két prekurzora (Cys és Gly) is ebbe a családba tartozik. A másik meglepő eredmény kísérletünkben az, hogy a Cys aránya (5-10%-ról 85-90%-ra emelkedett) és mennyisége jelentős növekedést mutatott DTT kezelés hatására mindhárom genotípusban, míg a többi kezelés hatástalan volt. Erre az szolgálhat magyarázatul , hogy a szulfát redukció kulcsenzime, az APSR nagyon érzékeny lehet a DTT kezelésre, melynek következtében a Cys szintézise folyamatosan nagy mértékű, függetlenül a más molekulákba történő beépítéshez szükséges mennyiségétől. Valószínűleg a DTT nem képes olyan finoman szabályozott módon biztosítani az elektronokat az APSR számára, mint az ezt a szerepet a növényekben betöltő GSH (Kopriva & Rennenberg 2004).

A korreláció-elemzés eredményei is megerősítették azt a feltevésünket, miszerint a szabad aminosavak szintjei redox szabályozás alatt állnak. A *pad2-1* mutánsban és a GSH

kezelt növényeknél kapott eredmények alapján megállapítottuk, hogy a használt redox vegyületek közül a glutation volt a legnagyobb hatással a szabad aminosavak koncentrációjára.

9.2.3. A glutaminsav családba tartozó aminosavak redox szabályozása

A glutaminsav család központi szerepet tölt be a fejlődés és a stresszválasz szabályozása szempontjából, hiszen idetartozik a Glu, mely a Pro, GSH és a poliaminok prekurzora. Ezen kívül a Glu központi vegyület az aminosav anyagcserében, mivel a nitrogén atom a nitrátból ebbe az aminosavba épül be. A kezelések közül csak a GSH hatott a glutaminsav család arányára, mely 50%-os volt a vizsgált mintákban. A családba tartozó aminosavak koncentrációja jelentős növekedést mutatott az AsA-GSH ciklus komponenseivel történő kezelések után, míg a DTT hatástalannak bizonyult. A Glu és Gln mennyiségének redox szabályozását tengeri cianobaktériumokban is megfigyelték, melyekben a NADPH-függő glutamin szintáz-glutamát szintáz enzimek redox érzékenynek bizonyultak (Gómez-Baena és mtsai. 2015). A redox kezelésekkel búzában előidézett oxidatív stresszhez hasonlóan a Glu stresszválaszban betöltött szerepét koncentrációjának emelkedése alapján több különböző növényfajban is kimutatták (Boldizsár és mtsai. 2013; Kovács és mtsai. 2010; Kovács és mtsai. 2011; Yang és mtsai. 2000). Továbbá búzában azt is leírták, hogy kedvezőtlen környezeti hatások által előidézett oxidatív stressz során változott az aszkorbát és glutation koncentrációja (Soltész és mtsai. 2011). Ezek a megfigyelések összhangban vannak a jelen kísérletünk eredményeivel, melyek alapján feltételezhetjük, hogy az AsA és a GSH részt vesznek a Glu tartalom redox szabályozásában. A Glu az anyagcserében prekurzorként betöltött fontos szerepe mellett a jelátvitelben is részt vesz, ahogy ezt a lúdfű gyökérben a gyökér morfológiája és a glutamát receptor fehérjék jelenléte közti összefüggés jelzi (Forde 2014). A fenti eredmények alapján a redox és a Glu-függő jelátvitel között feltételezhető egy interakció. Ennek a kapcsolatnak lehet az egyik kulcs résztvevője az Aaa, melyet Glu transzport gátlóként is leírtak állati rendszerekben (Haugstad & Langmoen 1997) és jelentős növekedést mutatott GSH kezelés hatására kísérletünkben.

A glutaminsav családba tartozó aminosavak közül a Pro volt a leérzékenyebb a redox kezelésekre, ami a redox homeosztázis fenntartásában betöltött szerepével

magyarázható (Szabados & Savouré 2010). A Pro koncentrációjában tapasztalt növekedést gyakran kísérte a Glu és Gln arányok csökkenése, feltehetőleg a Pro szintézisben történő felhasználásuk révén. Feltételezhető, hogy a prolin anyagcsere és az AsA-GSH ciklusban résztvevő komponensek között kapcsolat van (Anjum és mtsai. 2014). Ennek az interakciónak a létezését támasztja alá, hogy a Pro anyagcseréhez kapcsolódó génekre hatással voltak az AsA-, GSH- és H₂O₂-kezelések. Érdekes módon a Pro szintézisben és lebontásban résztvevő gének is indukálódtak a kezelések hatására, ami e két folyamat egyensúlyának finom szabályozására utal transzkripciós szinten. Ezen kívül az Orn szintje, amely a Pro egyik előanyaga, megemelkedett GSH és H₂O₂ kezelések után pad2-1 mutánsokban és AsA kezelés hatására vtc2-1 mutánsokban. Az Orn is szerepet játszhat az abiotikus stresszválaszban, mint ahogy ezt lúdfűben is megfigyelték (Kalamaki és mtsai. 2009). Habár kísérletünkben mindkét útvonalban voltak olyan gének, melyek reagáltak H₂O₂ kezelésre, a Pro bioszintézis két útja korábbi irodalmi adatok alapján egyidejűleg nem aktiválódik (Yang és mtsai. 2009). Az Orn-en át vezető szintézis egyik enzimét kódoló génnek, az OAT-nak az oxidatív stressz során betöltött szerepét rizsben is igazolták. Az OAT túltermeltetésének következtében a növények ellenállóbbak lettek az oxidatív stressz hatásaival szemben a Pro szintézisének indukálása révén (You és mtsai. 2012). Az OAT túltermeltetésével nagyobb glutation koncentráció és nagyobb glutation peroxidáz aktivitás kísérte, ami ugyancsak részt vehetett a stressz tolerancia fokozásában. Állati rendszerekben az OAT interakcióba lép számos redox fehérjével, úgy mint glutaredoxinok, thioredoxinok, és szabályozása S-glutationálással történik (Liang és mtsai. 2013). Mivel az OAT gén indukálódott mindhárom Arabidospis genotípusban GSH kezelést követően, hasonló szabályozást tételezhetünk fel más növényfajokban is. Kísérletünkben az AsA-GSH ciklusban résztvevő vegyületek jelentős hatást gyakoroltak a prolin anyagcseréjére és a hozzákapcsolódó gének kifejeződésére. Megállapíthatjuk, hogy az AsA-GSH ciklus a Pro anyagcsere speciális szabályozója, mivel a DTT többnyire nem hatott a Pro anyagcserére és az azzal kapcsolatos gének transzkripciójára. Hasonlóan az aminosav szinteknél tapasztaltakhoz, nagyon szoros (r<0,9) korrelációt állapítottunk meg a vizsgált redox paraméterek és a Pro anyagcsere komponensei között a pad2-1 mutánsban, míg a másik két genotípusban ez nem volt megfigyelhető.

10. ÖSSZEFOGLALÁS

10.1. A fagytűrés és a virágkezdemény kezdeti fejlődésének redox szabályozása búzában

Kísérletünkben egy tavaszi fagyérzékeny és egy őszi fagytűrő búza genotípusban vizsgáltuk a redox szabályozás fagytűrésben és a virág primordium kezdeti fejlődésében betöltött szerepét. A redox és ozmotikus kezelések hatását 20/17°C-on és konstans 5°C-on is megvizsgáltuk.

Eredményeink alapján megállapíthatjuk, hogy az alkalmazott kezelésekkel sikeresen módosítottuk a vizsgált tiolok redox állapotát. Mindkét genotípusban megnövekedett a tiolok diszulfid formáinak mennyisége és a redukciós potenciálja a kezelések hatására. A Ch már 20/17°C-on reagált a kezelésekre, míg a Tsp csak 5°C-on mutatta ezt a növekedést. A tiolok redox állapotában és mennyiségében tapasztalt változások befolyásolták a fagytűrést és a virág primordium kezdeti fejlődését. A fagytűrő Ch genotípus fagytűrése megnövekedett a kezeléseket követően, míg ez Tsp-ben nem tapasztaltuk. A *ZCCT2* transzkripciós szintje átlagosan kétszer nagyobb volt 5°C-on Chben, amely eredményezhette a különböző mértékű fagytűrést a két genotípusban. A magasabb *ZCCT2* expressziós szint a fagytűrés kialakításában résztvevő gének (*CBF14, APSR, sAPX1*) nagyobb kifejeződésével járt együtt Ch-ben. A Ch megnövekedett fagytűrésével párhuzamosan a növekedése és a virágkezdemény kezdeti fejlődése lelassult.

Ezzel szemben a tavaszi genotípusnál teljesen más adaptációs stratégiát figyelhettünk meg. A vegyszeres és hideg kezeléseket követően a növények és a virág primordium fejlődése felgyorsult, miközben a hideg indukálható gének kifejeződése lecsökkent. Ezzel párhuzamosan az előidézett redox változások alacsony *ZCCT2* expressziós szintet okoztak. A kisebb *ZCCT2* expresszió nagyobb *VRN1* kifejeződést eredményezett, amely hatással lehetett a virágzást elősegítő *OXS2* és *FKF1* génekre.

Eredményeink alapján megállapíthatjuk, hogy a különböző redox és ozmotikus kezelések hatására megváltozott redox környezet különbözőképpen befolyásolta a redox érzékeny *ZCCT2* kifejeződését a két genotípusban. Ez hatással volt a hideg indukálható és a virágkezdemény kezdeti fejlődését befolyásoló génekre. Az őszi (Ch) genotípus fagytűrése növekedett a virágzást gátló *ZCCT2* expressziójának a növekedésével párhuzamosan, míg a fagyérzékeny tavaszi genotípusban (Tsp) a virágkezdemény fejlődése
gyorsult fel a *ZCCT2* alacsony kifejeződése mellett. Mindemellett meg kell jegyeznünk, hogy egyes kezelések speciális hatással voltak néhány gén esetében (*OXS2*, *FKF1*, *NCED1*, *NF-YB2*), hiszen különbözőképpen hatottak ezeknek a géneknek a kifejeződésére.

10.2. A szabad aminosavak redox szabályozása lúdfűben

A növényekben zajló redox szabályozást egy másik aspektusból is megvizsgáltuk. A redox szabályozás szabad aminosavak koncentrációjára kifejtett hatását vizsgáltuk aszkorbát-(*vtc2-1*), glutationhiányos (*pad2-1*) és vadtípusú lúdfű növényekben. Mindemellett a mutáns és vadtípusú növényeket különböző redukálószerekkel (AsA, GSH és DTT) és egy oxidálószerrel (H_2O_2) is kezeltük.

Megállapítottuk, hogy a glutation sokkal érzékenyebben reagált a redox kezelésekre, mint az aszkorbát, hiszen a legtöbb kezelés hatással volt a mennyiségére és a redox állapotára. Ez a változás befolyásolhatta az aminosav anyagcserében résztvevő enzimek aktivitását a (de)glutationálás és a tiol/diszulfid konverzió révén. Az AsA-GSH ciklusban résztvevő komponensekkel végzett kezelések és a kisebb AsA- és GSH-szint a mutánsokban befolyásolta a megvizsgált 28 aminosav koncentrációját. Kimutattuk, hogy a szintetikus redukálószer (DTT) viszont nem okozott jelentős változásokat, ami szoros kapcsolatra utal a szabad aminosavak és a redox szabályozás kulcselemei, a GSH és az AsA között. A kezelések a glutaminsav család tagjaira és egyes fehérjét nem kódoló aminosavakra voltak a legnagyobb hatással. A fehérjét nem kódoló aminosavak közül az Aaa, a Cysta és Aba mennyisége hatalmas növekedést mutatott glutation kezelés hatására mindhárom genotípusban, amely a glutation ezekre az aminosavakra gyakorolt speciális hatására utalhat. A glutaminsav családba tartozó aminosavak közül a prolin szintje is növekedett a kezelések hatására, melyek az anyagcseréhez kapcsolódó gének kifejeződésére is hatással voltak. A prolin anyagcseréhez kötödő gének expressziójára is nagyobb hatással voltak az AsA-GSH ciklus vegyületei a szintetikus redukálószer (DTT) hatásához képest.

11. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK (TÉZISEK)

A redox szabályozás szerepe a hideg akklimatizáció és a virág primordium kezdeti fejlődése során búzában

Kimutattuk, hogy a redox és az ozmotikus kezelések hatására a fagytűrő őszi búzafajtában már 20/17°C-on megnövekedett a vizsgált tiolok diszulfid formáinak mennyisége és redukciós potenciálja, míg a fagyérzékeny tavaszi genotípusban ezt csak az 5°C-os kezelést követően tapasztaltuk.

Megfigyeltük, hogy az előidézett redox változások hatására a tavaszi genotípus növekedése illetve a virág primordium kezdeti fejlődése is felgyorsult, míg az őszi búzafajta esetében a fagytűrés mértéke lett nagyobb.

Kimutattuk, hogy a tavaszi genotípusban a virágzást indukáló gének, míg az ősziben a fagytűrést befolyásoló gének kifejeződése volt nagyobb a kezelések után a másik genotípushoz képest.

A szabad aminosavak mennyiségének redox szabályozása lúdfűben

Igazoltuk, hogy a szabad aminosavak koncentrációja redox szabályozás alatt áll. Vegyszeres kezelésekkel és lúdfű mutánsok felhasználásával megállapítottuk, hogy a vizsgált redox vegyületek közül a GSH volt a legnagyobb hatással a szabad aminosavak koncentrációira.

Megfigyeltük, hogy egyes fehérjét nem építő aminosavak úgy, mint a cisztation, α -aminoadipinsav és az α -amino vajsav koncentrációja jelentősen megnövekedett GSH kezelés hatására genotípustól függetlenül.

Kimutattuk, hogy a prolin metabolizmusban résztvevő enzimeket kódóló gének redox szabályozás alatt állnak lúdfűben.

12. NEW RESULTS (THESES)

The role of redox regulation in wheat during cold acclimation and flower primordia development

It was revealed that the amount and reducing potential of disulfide forms of the examined thiols increased after the osmotic treatments in cold tolerant winter wheat already at $20/17^{\circ}$ C while, in the case of the spring genotype, this was observed only after a treatment at 5°C.

It was found that the redox changes triggered faster growth and initial flower primordia development in the spring genotype while the winter wheat showed a greater degree of cold tolerance.

After the treatments, in the case of the spring genotype, the expression of the genes inducing flowering was higher. However, in the case of the winter genotype, the treatments induced higher expression of the genes affecting cold tolerance.

Redox regulation of the amount of free amino acids in Arabidopsis

It was confirmed that the concentration of free amino acids are controlled by redox regulation. Through chemical treatments and the use of Arabidopsis mutants, it was established that, from among the examined redox compounds, GSH had the greatest effect on the concentration on free amino acids.

It was observed that, regardless of the genotype, the concentration of certain nonproteinogenic amino acids (like cystathionine, alpha-aminoadipic acid and alphaaminobutyric acid) grew significantly under GSH treatment.

It was revealed that the enzyme coding genes acting in proline metabolism are controlled by redox regulation in Arabidopsis.

13. IRODALOMJEGYZÉK

- Anjum, N.A. és mtsai., 2014. Glutathione and proline can coordinately make plants withstand the joint attack of metal(loid) and salinity stresses. *Frontiers in plant science*, 5, 0.662.
- Arrigoni, O. & De Tullio, M.C., 2000. The role of ascorbic acid in cell metabolism: between gene-directed functions and unpredictable chemical reactions. *Journal of Plant Physiology*, 157(5), o.481–488.
- Barth, C., De Tullio, M. & Conklin, P.L., 2006. The role of ascorbic acid in the control of flowering time and the onset of senescence. *Journal of experimental botany*, 57(8), 0.1657–1665.
- Bartosz, G., 1997. Oxidative stress in plants. Acta Physiologiae Plantarum, 19(1), 0.47-64.
- Bell, E.A., 2003. Nonprotein Amino Acids of Plants: Significance in Medicine, Nutrition, and Agriculture. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(10), o.2854–2865.
- Bick, J.A. és mtsai., 2001. Regulation of the plant-type 5'-adenylyl sulfate reductase by oxidative stress. *Biochemistry*, 40(30), o.9040–8.
- Birtić, S. és mtsai., 2011. Mathematically combined half-cell reduction potentials of lowmolecular-weight thiols as markers of seed ageing.
- Blanvillain, R. és mtsai., 2011. Stress tolerance to stress escape in plants: role of the OXS2 zinc-finger transcription factor family. *The EMBO journal*, 30(18), o.3812–3822.
- Boguszewska-Mankowska, D., Nykiel, M. & Zagdanska, B., 2015. Protein Oxidation and Redox Regulation of Proteolysis. In *Basic Principles and Clinical Significance of Oxidative Stress*. InTech.
- Boldizsár, A. és mtsai., 2013. Nitric oxide affects salt-induced changes in free amino acid levels in maize. *Journal of plant physiology*, 170(11), 0.1020–7.
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72, 0.248–54.
- Britsch, L. és mtsai., 1993. Molecular characterization of flavanone 3 beta-hydroxylases. Consensus sequence, comparison with related enzymes and the role of conserved histidine residues. *European journal of biochemistry*, 217(2), 0.745–54.

- Cairns, N.G. és mtsai., 2006. Maturation of arabidopsis seeds is dependent on glutathione biosynthesis within the embryo. *Plant physiology*, 141(2), 0.446–55.
- Catoni, E. és mtsai., 2003. Expression pattern of a nuclear encoded mitochondrial arginineornithine translocator gene from Arabidopsis. *BMC plant biology*, 3, o.1.
- Di Cera, E., 2009. Serine proteases. IUBMB life, 61(5), o.510-5.
- Chai, L. és mtsai., 2014. Regulation of the flowering time of Arabidopsis thaliana by thylakoid ascorbate peroxidase. *African Journal of Biotechnology*, 11(28), o.7151– 7157.
- Chao, D.-Y. és mtsai., 2011. Sphingolipids in the root play an important role in regulating the leaf ionome in Arabidopsis thaliana. *The Plant cell*, 23(3), o.1061–81.
- Chen, A. & Dubcovsky, J., 2012. Wheat TILLING mutants show that the vernalization gene VRN1 down-regulates the flowering repressor VRN2 in leaves but is not essential for flowering. B. Trevaskis, szerk. *PLoS genetics*, 8(12), o.e1003134.
- Chen, M. és mtsai., 2006. The essential nature of sphingolipids in plants as revealed by the functional identification and characterization of the Arabidopsis LCB1 subunit of serine palmitoyltransferase. *The Plant cell*, 18(12), o.3576–93.
- Chen, Z. és mtsai., 2007. Compatible solute accumulation and stress-mitigating effects in barley genotypes contrasting in their salt tolerance. *Journal of experimental botany*, 58(15–16), o.4245–55.
- Choudhary, N.L., Sairam, R.K. & Tyagi, A., 2005. Expression of delta1-pyrroline-5carboxylate synthetase gene during drought in rice (Oryza sativa L.). *Indian journal of biochemistry & biophysics*, 42(6), o.366–70.
- Chung, P.M., Cappel, R.E. & Gilbert, H.F., 1991. Inhibition of glutathione disulfide reductase by glutathione. *Archives of biochemistry and biophysics*, 288(1), o.48–53.
- Colling, J. és mtsai., 2016. Hypersensitivity of Arabidopsis TAXIMIN1 overexpression lines to light stress is correlated with decreased sinapoyl malate abundance and countered by the antibiotic cefotaxime. *Plant signaling & behavior*, 11(4), o.e1143998.
- Conklin, P.L. és mtsai., 2000. Identification of ascorbic acid-deficient Arabidopsis thaliana mutants. *Genetics*, 154(2), o.847–56.

- Darkó, É. és mtsai., 2004. Aluminium toxicity, Al tolerance and oxidative stress in an Alsensitive wheat genotype and in Al-tolerant lines developed by in vitro microspore selection. *Plant Science*, 166(3), o.583–591.
- Delauney, A. & Verma, D., 1993. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *The plant journal*, 4(2), 0.215–223.
- Desikan, R. és mtsai., 2005. A role for ETR1 in hydrogen peroxide signaling in stomatal guard cells. *Plant physiology*, 137(3), 0.831–4.
- Dhillon, T. és mtsai., 2010. Regulation of freezing tolerance and flowering in temperate cereals: the VRN-1 connection. *Plant physiology*, 153(4), o.1846–1858.
- Dhillon, T. & Stockinger, E.J., 2013. Cbf14 copy number variation in the A, B, and D genomes of diploid and polyploid wheat. *TAG. Theoretical and applied genetics*. *Theoretische und angewandte Genetik*, 126(11), 0.2777–2789.
- Diaz Vivancos, P. és mtsai., 2010. A nuclear glutathione cycle within the cell cycle. *Biochemical Journal*, 431(2).
- Dietz, K.-J., 2011. Peroxiredoxins in plants and cyanobacteria. *Antioxidants & redox* signaling, 15(4), 0.1129–59.
- Dietz, K.-J. és mtsai., 2006. The function of peroxiredoxins in plant organelle redox metabolism. *Journal of experimental botany*, 57(8), o.1697–709.
- Dietz, K.-J., Turkan, I. & Krieger-Liszkay, A., 2016. Redox- and Reactive Oxygen Species-Dependent Signaling into and out of the Photosynthesizing Chloroplast. *Plant Physiology*, 171(3).
- Distelfeld, A., Li, C. & Dubcovsky, J., 2009. Regulation of flowering in temperate cereals. *Current opinion in plant biology*, 12(2), o.178–84.
- Dowdle, J. és mtsai., 2007. Two genes in Arabidopsis thaliana encoding GDP-L-galactose phosphorylase are required for ascorbate biosynthesis and seedling viability. *The Plant journal : for cell and molecular biology*, 52(4), 0.673–689.
- Droux, M., 2004. Sulfur Assimilation and the Role of Sulfur in Plant Metabolism: A Survey. *Photosynthesis Research*, 79(3), 0.331–348.
- Dumont, J. és mtsai., 2014. Ozone affects ascorbate and glutathione biosynthesis as well as amino acid contents in three Euramerican poplar genotypes. *Tree physiology*, 34(3), 0.253–66.

- Elthon, T.E. & Stewart, C.R., 1981. Submitochondrial location and electron transport characteristics of enzymes involved in proline oxidation. *Plant physiology*, 67(4), 0.780–4.
- Forde, B.G., 2014. Glutamate signalling in roots. *Journal of experimental botany*, 65(3), 0.779–87.
- Forde, B.G. & Lea, P.J., 2007. Glutamate in plants: metabolism, regulation, and signalling. *Journal of experimental botany*, 58(9), 0.2339–58.
- Foyer, C.H. & Noctor, G., 2011. Ascorbate and glutathione: the heart of the redox hub. *Plant physiology*, 155(1), o.2–18.
- Foyer, C.H. & Noctor, G., 2005. Redox homeostasis and antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses. *The Plant cell*, 17(7), 0.1866–75.
- Foyer, C.H. & Noctor, G., 2009. Redox regulation in photosynthetic organisms: signaling, acclimation, and practical implications. *Antioxidants & redox signaling*, 11(4), o.861– 905.
- Foyer, C.H. & Noctor, G., 2016. Stress-triggered redox signalling: what's in pROSpect? *Plant, Cell & Environment*, 39(5), 0.951–964.
- Funck, D., Stadelhofer, B. & Koch, W., 2008. Ornithine-delta-aminotransferase is essential for arginine catabolism but not for proline biosynthesis. *BMC plant biology*, 8, 0.40.
- Galiba, G. és mtsai., 2009. Regulatory genes involved in the determination of frost tolerance in temperate cereals. *Plant Science*, 176(1), o.12–19.
- García-Giménez, J.L. és mtsai., 2013. Nuclear glutathione. *Biochimica et Biophysica Acta* (*BBA*) *General Subjects*, 1830(5), 0.3304–3316.
- Gardner, J.S., Hess, W.M. & Trione, E.J., 1985. Development of the Young Wheat Spike: A Sem Study of Chinese Spring Wheat.
- Gilroy, S. és mtsai., 2014. A tidal wave of signals: calcium and ROS at the forefront of rapid systemic signaling. *Trends in Plant Science*, 19, 0.623–630.
- Gómez-Baena, G. és mtsai., 2015. Glutamine Synthetase Sensitivity to Oxidative Modification during Nutrient Starvation in Prochlorococcus marinus PCC 9511 F. Chauvat, szerk. *PLOS ONE*, 10(8), o.e0135322.

- Halliwell, B., 2006. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant physiology*, 141(2), 0.312–22.
- Hatano-Iwasaki, A. & Ogawa, K., 2012. Overexpression of GSH1 gene mimics transcriptional response to low temperature during seed vernalization treatment of Arabidopsis. *Plant & cell physiology*, 53(7), o.1195–1203.
- Haugstad, T.S. & Langmoen, I.A., 1997. L-alpha-aminoadipate reduces glutamate release from brain tissue exposed to combined oxygen and glucose deprivation. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 17(5), 0.567–70.
- Hayat, S. és mtsai., 2012. Role of proline under changing environments: A review. *Plant Signaling & Behavior*, 7(11), o.1456–1466.
- Hicks, L.M. és mtsai., 2007. Thiol-based regulation of redox-active glutamate-cysteine ligase from Arabidopsis thaliana. *The Plant cell*, 19(8), 0.2653–61.
- Ho, C.-L. & Saito, K., 2001. Molecular biology of the plastidic phosphorylated serine biosynthetic pathway in Arabidopsis thaliana. *Amino Acids*, 20(3), o.243–259.
- Jimenez, A. és mtsai., 1998. Role of the ascorbate-glutathione cycle of mitochondria and peroxisomes in the senescence of pea leaves. *Plant physiology*, 118(4), 0.1327–35.
- Jing, P. és mtsai., 2016. OsCCD1, a novel small calcium-binding protein with one EF-hand motif, positively regulates osmotic and salt tolerance in rice. *Plant science : an international journal of experimental plant biology*, 247, o.104–14.
- Kalamaki, M.S., Merkouropoulos, G. & Kanellis, A.K., 2009. Can ornithine accumulation modulate abiotic stress tolerance in Arabidopsis? *Plant signaling & behavior*, 4(11), 0.1099–101.
- Kalinina, E. V, Chernov, N.N. & Saprin, A.N., 2008. Involvement of thio-, peroxi-, and glutaredoxins in cellular redox-dependent processes. *Biochemistry. Biokhimiia*, 73(13), 0.1493–510.
- Kato, N. & Esaka, M., 1999. Changes in ascorbate oxidase gene expression and ascorbate levels in cell division and cell elongation in tobacco cells. *Physiologia Plantarum*, 105(2), o.321–329.
- Kemble, A.R. & Macpherson, H.T., 1954. Liberation of amino acids in perennial rye grass during wilting. *The Biochemical journal*, 58(1), o.46–9.

- Kerk, N.M. & Feldman, N.J., 1995. A biochemical model for the initiation and maintenance of the quiescent center: implications for organization of root meristems. *Development*, 121(9).
- Kocsy, G. és mtsai., 2005. Genetic manipulation of proline levels affects antioxidants in soybean subjected to simultaneous drought and heat stresses. *Physiologia Plantarum*, 124(2), o.227–235.
- Kocsy, G. és mtsai., 2000. Genetic study of glutathione accumulation during cold hardening in wheat. *Planta*, 210(2), o.295–301.
- Kocsy, G. és mtsai., 2001. Increasing the Glutathione Content in a Chilling-Sensitive Maize Genotype Using Safeners Increased Protection against Chilling-Induced Injury. *PLANT PHYSIOLOGY*, 127(3), o.1147–1156.
- Kocsy, G. és mtsai., 2013. Redox control of plant growth and development. *Plant science : an international journal of experimental plant biology*, 211, 0.77–91.
- Kocsy, G. és mtsai., 2010. Regulation of gene expression by chromosome 5A during cold hardening in wheat. *Molecular genetics and genomics : MGG*, 283(4), o.351–363.
- Kocsy, G., Szalai, G. & Galiba, G., 2004. Effect of osmotic stress on glutathione and hydroxymethylglutathione accumulation in wheat. *Journal of plant physiology*, 161(7), 0.785–794.
- Kopriva, S. & Rennenberg, H., 2004. Control of sulphate assimilation and glutathione synthesis: interaction with N and C metabolism. *Journal of experimental botany*, 55(404), o.1831–42.
- Kosová, K., Vítámvás, P. & Prášil, I.T., 2011. Expression of dehydrins in wheat and barley under different temperatures. *Plant science : an international journal of experimental plant biology*, 180(1), 0.46–52.
- Kotchoni, S.O. és mtsai., 2009. Alterations in the endogenous ascorbic acid content affect flowering time in Arabidopsis. *Plant physiology*, 149(2), o.803–15.
- Kovács, Z. és mtsai., 2010. Differential effects of cold, osmotic stress and abscisic acid on polyamine accumulation in wheat. *Amino acids*, 38(2), 0.623–31.
- Kovács, Z. és mtsai., 2011. Differential effects of cold acclimation and abscisic acid on free amino acid composition in wheat. *Plant science : an international journal of experimental plant biology*, 180(1), o.61–8.

- Kranner, I. és mtsai., 2006. Glutathione half-cell reduction potential: a universal stress marker and modulator of programmed cell death? *Free radical biology & medicine*, 40(12), o.2155–2165.
- Kranner, I. & Grill, D., 1996. Determination of Glutathione and Glutathione Disulphide in Lichens: a Comparison of Frequently Used Methods. *Phytochemical Analysis*, 7(1), 0.24–28.
- Kumimoto, R.W. és mtsai., 2013. NUCLEAR FACTOR Y transcription factors have both opposing and additive roles in ABA-mediated seed germination. *PloS one*, 8(3), o.e59481.
- Leyva-González, M.A. és mtsai., 2012. Functional and transcriptome analysis reveals an acclimatization strategy for abiotic stress tolerance mediated by Arabidopsis NF-YA family members. *PloS one*, 7(10), o.e48138.
- Li, C. és mtsai., 2011. Wheat flowering repressor VRN2 and promoter CO2 compete for interactions with NUCLEAR FACTOR-Y complexes. *The Plant journal : for cell and molecular biology*, 67(5), o.763–73.
- Liang, X. és mtsai., 2013. Proline Mechanisms of Stress Survival. Antioxidants & Redox Signaling, 19(9), 0.998–1011.
- LISO, R. és mtsai., 1988. Ascorbic acid-induced progression of quiescent centre cells from G1 to S phase. *New Phytologist*, 110(4), o.469–471.
- Livak, K.J. & Schmittgen, T.D., 2001. Analysis of relative gene expression data using realtime quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods (San Diego, Calif.*), 25(4), 0.402–8.
- Margis, R. és mtsai., 2008. Glutathione peroxidase family an evolutionary overview. *The FEBS journal*, 275(15), 0.3959–70.
- Martinelli, T. és mtsai., 2007. Amino acid pattern and glutamate metabolism during dehydration stress in the "resurrection" plant Sporobolus stapfianus: a comparison between desiccation-sensitive and desiccation-tolerant leaves. *Journal of experimental botany*, 58(11), 0.3037–46.

- May, M.J. & Leaver, C.J., 1994. Arabidopsis thaliana gamma-glutamylcysteine synthetase is structurally unrelated to mammalian, yeast, and Escherichia coli homologs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91(21), o.10059–63.
- Mehdi, K. & Penninckx, M.J., 1997. An important role for glutathione and gammaglutamyltranspeptidase in the supply of growth requirements during nitrogen starvation of the yeast Saccharomyces cerevisiae. *Microbiology (Reading, England)*, 143 (Pt 6(6), o.1885–9.
- Meyer, A.J. & Hell, R., 2005. Glutathione homeostasis and redox-regulation by sulfhydryl groups. *Photosynthesis Research*, 86(3), 0.435–457.
- Meyer, Y., Vignols, F. & Reichheld, J.P., 2002. Classification of plant thioredoxins by sequence similarity and intron position. *Methods in enzymology*, 347, 0.394–402.
- Mittler, R. és mtsai., 2004. Reactive oxygen gene network of plants. *Trends in plant science*, 9(10), o.490-8.
- Mittler, R. & Zilinskas, B.A., 1994. Regulation of pea cytosolic ascorbate peroxidase and other antioxidant enzymes during the progression of drought stress and following recovery from drought. *The Plant journal: for cell and molecular biology*, 5(3), 0.397–405.
- Nakashima, K., Ito, Y. & Yamaguchi-Shinozaki, K., 2009. Transcriptional regulatory networks in response to abiotic stresses in Arabidopsis and grasses. *Plant physiology*, 149(1), 0.88–95.
- Noctor, G. és mtsai., 2012. Glutathione in plants: an integrated overview. *Plant, cell & environment*, 35(2), 0.454–484.
- Noctor, G., 1998. Manipulation of Glutathione and Amino Acid Biosynthesis in the Chloroplast. *PLANT PHYSIOLOGY*, 118(2), o.471–482.
- Noctor, G. & Foyer, C.H., 1998. ASCORBATE AND GLUTATHIONE: Keeping Active Oxygen Under Control. *Annual review of plant physiology and plant molecular biology*, 49, 0.249–279.
- Noctor, G., Lelarge-Trouverie, C. & Mhamdi, A., 2015. The metabolomics of oxidative stress. *Phytochemistry*, 112, 0.33–53.

- Novák, A. és mtsai., 2016. Light-quality and temperature-dependent *CBF14* gene expression modulates freezing tolerance in cereals. *Journal of Experimental Botany*, 67(5), 0.1285–1295.
- Paolacci, A.R. és mtsai., 2009. Identification and validation of reference genes for quantitative RT-PCR normalization in wheat. *BMC molecular biology*, 10(1), o.11.
- Parisy, V. és mtsai., 2007. Identification of PAD2 as a gamma-glutamylcysteine synthetase highlights the importance of glutathione in disease resistance of Arabidopsis. *The Plant journal : for cell and molecular biology*, 49(1), o.159–72.
- De Pinto, M.C., Locato, V. & De Gara, L., 2012. Redox regulation in plant programmed cell death. *Plant, cell & environment*, 35(2), 0.234–44.
- Qin, X. & Zeevaart, J.A., 1999. The 9-cis-epoxycarotenoid cleavage reaction is the key regulatory step of abscisic acid biosynthesis in water-stressed bean. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(26), o.15354– 61.
- Rao, A.S.V.C. & Reddy, A.R., 2008. Glutathione Reductase: A Putative Redox Regulatory System in Plant Cells. In Sulfur Assimilation and Abiotic Stress in Plants. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, o. 111–147.
- Rapacz, M. és mtsai., 2008. The effects of cold acclimation on photosynthetic apparatus and the expression of COR14b in four genotypes of barley (Hordeum vulgare) contrasting in their tolerance to freezing and high-light treatment in cold conditions. *Annals of botany*, 101(5), o.689–699.
- Rausch, T. & Wachter, A., 2005. Sulfur metabolism: a versatile platform for launching defence operations. *Trends in Plant Science*, 10(10), o.503–509.
- Rennenberg, H., 1980. Glutathione metabolism and possible biological roles in higher plants. *Phytochemistry*, 21(12), 0.2771–2781.
- Riboni, M. és mtsai., 2013. GIGANTEA enables drought escape response via abscisic acid-dependent activation of the florigens and SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS. *Plant physiology*, 162(3), o.1706–1719.
- Ros, R., Muñoz-Bertomeu, J. & Krueger, S., 2014. Serine in plants: biosynthesis, metabolism, and functions. *Trends in plant science*, 19(9), 0.564–9.

- Rouhier, N., 2010. Plant glutaredoxins: pivotal players in redox biology and iron-sulphur centre assembly. *New Phytologist*, 186(2), 0.365–372.
- Rouhier, N., Lemaire, S.D. & Jacquot, J.-P., 2008. The role of glutathione in photosynthetic organisms: emerging functions for glutaredoxins and glutathionylation. *Annual review of plant biology*, 59, 0.143–66.
- Roxas, V.P. és mtsai., 1997. Overexpression of glutathione S-transferase/glutathione peroxidase enhances the growth of transgenic tobacco seedlings during stress. *Nature biotechnology*, 15(10), 0.988–991.
- Sandve, S.R. és mtsai., 2011. Molecular mechanisms underlying frost tolerance in perennial grasses adapted to cold climates. *Plant science : an international journal of experimental plant biology*, 180(1), 0.69–77.
- Schafer, F.Q. & Buettner, G.R., 2001. Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. *Free radical biology & medicine*, 30(11), 0.1191–1212.
- Seo, E. és mtsai., 2009. Crosstalk between cold response and flowering in Arabidopsis is mediated through the flowering-time gene SOC1 and its upstream negative regulator FLC. *The Plant cell*, 21(10), o.3185–3197.
- Singh, S.K., Chien, C.-T. & Chang, I.-F., 2016. The Arabidopsis glutamate receptor-like gene *GLR3.6* controls root development by repressing the Kip-related protein gene *KRP4. Journal of Experimental Botany*, 67(6), o.1853–1869.
- Soltész, A. és mtsai., 2011. Redox changes during cold acclimation affect freezing tolerance but not the vegetative/reproductive transition of the shoot apex in wheat. *Plant biology (Stuttgart, Germany)*, 13(5), o.757–766.
- Soltész, A. és mtsai., 2013. Transgenic barley lines prove the involvement of TaCBF14 and TaCBF15 in the cold acclimation process and in frost tolerance. *Journal of experimental botany*, 64(7), o.1849–62.
- Stockinger, E.J., Gilmour, S.J. & Thomashow, M.F., 1997. Arabidopsis thaliana CBF1 encodes an AP2 domain-containing transcriptional activator that binds to the Crepeat/DRE, a cis-acting DNA regulatory element that stimulates transcription in response to low temperature and water deficit. *Proceedings of the National Academy* of Sciences of the United States of America, 94(3), 0.1035–40.

- Szabados, L. & Savouré, A., 2010. Proline: a multifunctional amino acid. *Trends in plant science*, 15(2), 0.89–97.
- Szalai, G. és mtsai., 1996. Role of Light in the Development of Post-chilling Symptoms in Maize. *Journal of Plant Physiology*, 148(3–4), o.378–383.
- Takahashi, H. és mtsai., 2011. Sulfur Assimilation in Photosynthetic Organisms: Molecular Functions and Regulations of Transporters and Assimilatory Enzymes. *Annual Review of Plant Biology*, 62(1), o.157–184.
- Tamaki, S. és mtsai., 2007. Hd3a protein is a mobile flowering signal in rice. *Science (New York, N.Y.)*, 316(5827), o.1033–1036.
- Trovato, M., Mattioli, R. & Costantino, P., 2008. Multiple roles of proline in plant stress tolerance and development. *RENDICONTI LINCEI*, 19(4), 0.325–346.
- Ullmann, P. és mtsai., 1996. Cloning of Arabidopsis thaliana glutathione synthetase (GSH2) by functional complementation of a yeast gsh2 mutant. *European journal of biochemistry / FEBS*, 236(2), 0.662–9.
- Vágújfalvi, A. és mtsai., 2005. The expression of several Cbf genes at the Fr-A2 locus is linked to frost resistance in wheat. *Molecular genetics and genomics : MGG*, 274(5), o.506–514.
- Vágújfalvi, A. és mtsai., 2000. Two loci on wheat chromosome 5A regulate the differential cold-dependent expression of the cor14b gene in frost-tolerant and frost-sensitive genotypes. *Molecular and General Genetics MGG*, 263(2), 0.194–200.
- Vanderkooi, J.M., Erecinska, M. & Silver, I.A., 1991. Oxygen in mammalian tissue: methods of measurement and affinities of various reactions. Am J Physiol Cell Physiol, 260(6), o.C1131-1150.
- Verbruggen, N. & Hermans, C., 2008. Proline accumulation in plants: A review. *Amino Acids*, 35(4), 0.753–759.
- Vernoux, T. és mtsai., 2000. The ROOT MERISTEMLESS1/CADMIUM SENSITIVE2 gene defines a glutathione-dependent pathway involved in initiation and maintenance of cell division during postembryonic root development. *The Plant cell*, 12(1), o.97– 110.
- Vranova, V. és mtsai., 2010. Non-protein amino acids: plant, soil and ecosystem interactions. *Plant and Soil*, 342(1–2), o.31–48.

- Wang, H. és mtsai., 2014. Reference genes for normalizing transcription in diploid and tetraploid Arabidopsis. *Scientific reports*, 4, 0.6781.
- Wirtz, M. & Droux, M., 2005. Synthesis of the sulfur amino acids: cysteine and methionine. *Photosynthesis Research*, 86(3), o.345–362.
- Wolff, S.P., 1994. Oxygen Radicals in Biological Systems Part C, Elsevier.
- Yamaoka, Y. és mtsai., 2011. PHOSPHATIDYLSERINE SYNTHASE1 is required for microspore development in Arabidopsis thaliana. *The Plant journal: for cell and molecular biology*, 67(4), o.648–61.
- Yan, L. és mtsai., 2003. Positional cloning of the wheat vernalization gene VRN1. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 100(10), 0.6263–6268.
- Yan, L. és mtsai., 2006. The wheat and barley vernalization gene VRN3 is an orthologue of FT. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 103(51), o.19581–19586.
- Yang, C.-W., Lin, C.C. & Kao, C.H., 2000. Proline, Ornithine, Arginine and Glutamic Acid Contents in Detached Rice Leaves. *Biologia Plantarum*, 43(2), o.305–307.
- Yang, S.-L., Lan, S.-S. & Gong, M., 2009. Hydrogen peroxide-induced proline and metabolic pathway of its accumulation in maize seedlings. *Journal of plant physiology*, 166(15), 0.1694–9.
- You, J., Hu, H. & Xiong, L., 2012. An ornithine δ-aminotransferase gene OsOAT confers drought and oxidative stress tolerance in rice. *Plant science : an international journal* of experimental plant biology, 197, 0.59–69.
- Zhang, X. és mtsai., 2004. Freezing-sensitive tomato has a functional CBF cold response pathway, but a CBF regulon that differs from that of freezing-tolerant Arabidopsis. *The Plant journal : for cell and molecular biology*, 39(6), o.905–919.
- Zhu, X., Tang, G. & Galili, G., 2000. The catabolic function of the alpha-aminoadipic acid pathway in plants is associated with unidirectional activity of lysine-oxoglutarate reductase, but not saccharopine dehydrogenase. *The Biochemical journal*, 351(Pt 1), 0.215–20.

14. PUBLIKÁCIÓS TEVÉKENYSÉGEK

A Disszertációban bemutatott témákhoz kötődő, nemzetközi folyóiratban megjelent cikkek

• Kocsy G, Tari I, Vanková R, Zechmann B, Gulyás Z, Poór P, Galiba G: Redox control of plant growth and development

PLANT SCIENCE 211: pp. 77-91. (2013), IF: 4.114

• **Gulyás Z**, Boldizsár Á, Novák A, Szalai G, Pál M, Galiba G, Kocsy G: Central role of the flowering repressor ZCCT2 in the redox control of freezing tolerance and the initial development of flower primordia in wheat

BMC PLANT BIOLOGY 14:(1) Paper 91. 17 p. (2014), IF: 3.813

• **Zsolt Gulyás**, Livia Simon-Sarkadi, Eszter Badics, Aliz Novák, Zsuzsanna Mednyánszky, Gabriella Szalai, Gábor Galiba, Gábor Kocsy: Redox regulation of free amino acid levels in *Arabidopsis*.

PHYSIOL. PLANT, 159 (3): pp. 264-276 (2017), IF: 3.52

Más témákhoz kapcsolódó, nemzetközi folyóiratban megjelent cikkek

• Török A, **Gulyás Z**, Szalai G, Kocsy G, Majdik C: Phytoremediation capacity of aquatic plants is associated with the degree of phytochelatin polymerization.

JOURNAL OF HAZARDOUS MATERIALS 299: pp. 371-378. (2015), IF: 4.529

 Boldizsár Á, Carrera D Á, Gulyás Z, Vashegyi I, Novák A, Kalapos B, Pál M, Galiba G, Kocsy G: Comparison of redox and gene expression changes during the vegetative/generative transition in crowns and leaves of wheat chromosome 5A substitution lines at low temperature.

JOURNAL OF APPLIED GENETICS 57: pp. 1-13. (2016), IF: 1.477

Boldizsár Á, Vanková R, Novák A, Kalapos B, Gulyás Z, Pál M, Floková K, Janda T, Galiba G, Kocsy G: The mvp2 mutation affects the generative transition through

the modification of transcriptome pattern, salicylic acid and cytokinin metabolism in Triticum monococcum (2016):

J PLANT PHYSIOL. 2016 Jul 11; 202:21-33. IF: 2.971

Könyvfejezet

N. Pecchioni, K. Kosová, P. Vítámvás, I.T. Prášil, J.A. Milc, E. Francia, Z. Gulyás, G. Kocsy, G. Galiba (2014): Genomics of Low-Temperature Tolerance for an Increased Sustainability of Wheat and Barley Production. Genomics of Plant Genetic Resources pp. 149-183.

Konferencia kiadványokban megjelent összefoglalók

Előadások

Z. Gulyás, Á. Boldizsár, D.Carrera, G. Szalai, G. Galiba, G. Kocsy: Redox regulation of development and gene expression in maize, Congress with the title "Advances in plant breeding and in plant biotechnology in Central Europe", Department of Plant Biotechnology, University of Debrecen, Centre of Agricultural Sciences, Debrecen, Hungary 4-6. Jun 2012.

• Zsolt Gulyás: Redox regulation of stress response in cereals

Proceedings of the PhD Mini Symposium 2013. Konferencia helye, ideje: Budapest, Magyarország, 2013.07.19 Veszprém: University of Pannonia, Faculty of Information Technology; Regional Centre of the HAS, 2013. pp. 23-26.

(ISBN:978-615-5044-84-7)

Poszterek

• Gulyás Zs, Boldizsár Á, Carrera D, Szalai G, Galiba G, Kocsy G, A redox változások szerepe a búza vernalizációjában és fagytűrésében

I. ATK Tudományos Nap, Felfedező kutatások az Agrártudományi Kutatóközpontban: Összefoglalók. 70 p.

Konferencia helye, ideje: Martonvásár, Magyarország, 2012.11.14 Martonvásár: MTA Agrártudományi Kutatóközpont, 2012. p. 42.

(ISBN:978-963-8351-40-1)

• Gulyás Zs, Boldizsár Á, Carrera D, Szalai G, Galiba G, Kocsy G, A redox változások szerepe a búza vernalizációjában és fagytűrésében.

XVIII. Növénynemesítési Tudományos Napok: Magyar Tudományos Akadémia Székháza, Budapest, 2012. március 6. : összefoglalók. 133 p.

Konferencia helye, ideje: Budapest, Magyarország, 2012.03.06 Martonvásár: MTA Agrártudományok Osztályának Növénynemesítési Tudományos Bizottsága, 2012. p. 80.

```
(ISBN:978-963-8351-38-8)
```

• Gulyás Z, Boldizsár Á, Carrera D, Szalai G, Galiba G, Kocsy G

Redox changes affect cold acclimatization and vernalization in wheat.

In: H Rennenberg, R Reski (szerk.)

Plant Biology Congress jointly organised by FESPB and EPSO.Abstracts. Konferencia helye, ideje: Freiburg im Breisgau, Németország, 2012.07.29-2012.08.03. Freiburg im Breisgau: p. 335.

• Boldizsár Á, Gulyás Zs, Carrera D, Szalai G, Vashegyi I, Galiba G, Kocsy G

A búza 5A kromoszómájának hatása különböző antioxidánsok mennyiségére a vernalizáció során

I. ATK Tudományos Nap, Felfedező kutatások az Agrártudományi Kutatóközpontban: Összefoglalók. 70 p.

Konferencia helye, ideje: Martonvásár, Magyarország, 2012.11.14 Martonvásár: MTA Agrártudományi Kutatóközpont, 2012. p. 34.

(ISBN:978-963-8351-40-1)

 Boldizsár Á, Gulyás Zs, Carrera D, Szalai G, Vashegyi Ildikó, Galiba G, Kocsy G, Effect of chromosome 5A on gene expression during vernalization in wheat

Plant Breeding for Future Generations: Proceedings of the 19th EUCARPIA General Congress. 448 p.

Konferencia helye, ideje: Budapest, Magyarország, 2012.05.21-2012.05.24. Martonvásár: Agricultural Institute, Centre for Agricultural Research, Hungarian Academy of Sciences, 2012. p. 306.

(ISBN:978-963-8351-39-5)

• Boldizsár Á, Gulyás Zs, Carrera D, Szalai G, Galiba G, Kocsy G

A búza 5A kromoszómájának hatása az antioxidánsokra a vernalizáció során.

XVIII. Növénynemesítési Tudományos Napok: Magyar Tudományos Akadémia Székháza, Budapest, 2012. március 6. : összefoglalók. 133 p.

Konferencia helye, ideje: Budapest, Magyarország, 2012.03.06 Martonvásár: MTA Agrártudományok Osztályának Növénynemesítési Tudományos Bizottsága, 2012. p. 64.

(ISBN:978-963-8351-38-8)

Ákos Boldizsár, Alíz Novák, Zsolt Gulyás, Gabriella Szalai, Gábor Galiba, Gábor Kocsy, The effect of light quality on diurnal rhythm of glutathione metabolism in barley. International Symposium on Plant Photobiology 2013. Konferencia helye, ideje: Edinburgh, Skócia, 2013.06.03-2013.06.06. Edinburgh: p. 76

• **Gulyás Zs**, Boldizsár Á, Novák A, Szalai G, Pál M, Galiba G, Kocsy G Involvement of the flowering repressor ZCCT2 in the redox control of freezing tolerance and the development of flower primordia in wheat

Fiatal Biotechnológusok Országos Konferenciája "FIBOK 2014": Program és összefoglalók. 100 p. Konferencia helye, ideje: Szeged, Magyarország, 2014.03.07 Szeged: JATE Press, 2014. p. 50.

(ISBN:978-963-315-167-9)

Impakt faktorral nem rendelkező folyóiratokban megjelent egyéb közlemények

 Boldizsár Á., Gulyás Zs., Carrera D., Soltész A., Vashegyi I., Szalai G., Galiba G., Kocsy G. (2011): Redox regulation of cold acclimation and vernalization in wheat. Acta Biol. Szegediensis, 55: 63-66.

15. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönöm a Magyar Tudományos Akadémia Agrártudományi Kutatóközpont vezetőségének, valamint Prof. Galiba Gábornak a Növényi Molekuláris Biológia Osztály vezetőjének, hogy lehetővé tették számomra a kutatásaim elvégzését Martonvásáron. A kísérleteimet különböző pályázati forrásokból finanszíroztuk (OTKA K83642, CNK80781, TÁMOP-4.2.2.B-10/1-2010-0025).

Köszönöm Prof. Vonderviszt Ferencnek, a Pannon Egyetem Molekuláris- és Nanotechnológiák Doktori Iskola vezetőjének, hogy a tanulmányaimat a doktori iskolában végezhettem el. Köszönöm Prof. Anda Angélának a Pannon Egyetem Festetics Doktori Iskola vezetőjének, hogy lehetőséget biztosított arra, hogy a doktori tanulmányaimat befejezhessem a doktori iskolában.

Nagyon köszönöm a témavezetőmnek, Dr. Kocsy Gábornak a munkámhoz nyújtott hasznos szakmai támogatását és segítségét.

A kísérleteink során végzett HPLC mérésekért szeretnék köszönetet mondani Dr. Szalai Gabriellának és munkatársainak. A szabad aminosav mérések elvégzését Dr. Sarkadi Líviának és csoportjában dolgozó kollégáknak szeretném megköszönni.

Köszönöm a Növényi Molekuláris Biológia osztály asszisztenseinek, Fehér E. Mónikának és Horváthné Imrénének a labormunkámban nyújtott segítségüket.

Köszönöm az Intézetben dolgozó munkatársaknak az együttműködést és a szakmai támogatást.

Nagyon köszönöm Családomnak és Barátaimnak, hogy mellettem álltak ás támogattak a munkám során.

16. MELLÉKLETEK

1. melléklet: A kísérletekben használt primerek és az alkalmazott PCR protokoll.

Búza	Fwd	Rev	Forrás		
APSR	5'-GCTCAAAGCCCCTCCATTAT-3'	5'-GACCGAGTGAACCACGAGTA-3'	saját tervezésű		
sAPX1	5'-GCAGCTGCTGAAGGAGAAGTC-3'	5'-CAATTTCAAACCTCAAGCTACCAT-3'	Secenji és mtsai. 2010.		
САВ	5'-GGCTGAGATGAAGGAGGTCA-3'	5'-AATCGGTCAGTCAGCTCTGG-3'	Kocsy és mtsai. 2010.		
CBF14	5'-AACCGATGACGAGAAGGAAA-3'	5'-AACTCCGAGTAGCACGATCC-3'	Soltész és mtsai. 2013.		
COR14b	5'-GAGCGACTCCTGCTAACGAC-3'	5'-CTACCGCCTCCTGTACCTTG-3'	Dhillon és mtsai. 2010.		
FKF1	5'-GAATCCACAATGGAGGCAGT-3'	5'-TTCTCCATGTCGGTTTTTCC-3'	saját tervezésű		
NCED3	5' - ACGTGCCGGACTGCTTCTGCT - 3'	5' - GCCGGTGCGCGTGTTGAG - 3'	saját tervezésű		
NF-YB2	5'-AAAGGCTGCTTCCCAGATGTAA-3'	5'-CAACCATGCTAAACCACAACTGA-3'	Stephenson és mtsai. 2007.		
OXS2	5'-CCTGCCGGATATCAAGAACA-3'	5'-TGATACTTGCGCGGATCG-3'	saját tervezésű		
Ta30797 (Ref.)	5'-GCCGTGTCCATGCCAGTG-3'	5'-TTAGCCTGAACCACCTGTGC-3'	Paolacci és mtsai. 2009.		
VRN1	5'-GAACAAGATCAACCGGCAGGTGAC-3'	5'-GGAGAAGATGATGAGGCCGACCTC-3'	V. Allard, INRA		
VRN3	5'-TCAGGGTGACCTTCGGGAACAG-3'	5'-ATCTGGGTCTACCATCACGAGT-3'	V. Allard, INRA		
ZCCT1	5'-CTCATGGTCTCGCCCATTCA-3'	5'-GCCTTGGGCGAAGAACTGGTG-3'	saját készítésű		
ZCCT2	5'-CATCGTGCCATTCTGCGGG-3'	5'-CCCTGTACCTCATCACCTTCGCCT-3'	V. Allard, INRA		
Lúdfű	Fwd	Rev	Forrás		
Actin2(Ref.)	5'-CTTGCACCAAGCAGCATGAA-3'	5'-CCGATCCAGACACTGTACTTCCTT-3'	Wang és mtsai. 2014.		
PDH	5'-GTTCTGGTTTCGGTGTCGTT-3'	5'-TTTAACCCGAAGGACAATGC-3'	saját tervezésű		
P5CR	5'-GGTTTCTGTTGCAGCTGGAA-3'	5'-TTGCTCCATCCTCTTCCGTT-3'	saját tervezésű		
P5CS1	5'-CACGGTCATTCAACCATGAG-3'	5'-TGCAACTTCGTGATCCTCTG-3'	saját tervezésű		
P5CS2	5'-CCGGAGACTGTTGGAGGTAA-3'	5'-CACTGGGATTTTCGTCGAGT-3'	saját tervezésű		
P5CDH	5'-AACTAGCGGAAAGACGCAAA-3'	5'-CCTTGCCACCAAAGAGTAGC-3'	saját tervezésű		
ΟΑΤ	5'-TTGTCTCTTGTTGTGGCTGC-3'	5'-TAACTCCAGCTTCGCCTTGA-3'	saját tervezésű		

Program								
3:00	95°C							
0:05	95°C	40 ciklus						
0:30	60°C	40 CIKIUS						
0:05	65°C	0 E°C/ ciklus						
	95°C	0.5 C/ CIKIUS						
BI	ORAD CI	FX96 Real Time						
	System							
KAPA	KAPA SYBR Fast universal qPCR							
		kit						



2. melléklet: A redox és az ozmotikus kezelések hatása a hajtáscsúcs morfológiájára és a peroxid tartalomra.

A 3 hetes regenerációs fázis végén hajtáscsúcsot izoláltunk, hogy megvizsgáljuk a kezelések hatását az apexek fejlődésére (1. és 3. sor) és detektáljuk a totál ROS mennyiségét (2. és 4. sor). A natív fotók jobb sarkában lévő számok a fejlődési fázisokra utalnak: 0: vegetatív apex; 1: az elongációs szakasz kezdete; 2: egyszeres befűződés, 3: kettős befűződés, vegetatív/generatív átmenet; 4: növekvő kalászkezdemény; 5: pelyvalevél kezdemény. A vonal 200 μm-t jelez.

3. melléklet: Korreláció analízis

Kísérlet: A hideg akklimatizáció és a virágkezdemény kezdeti fejlődésének redox szabályozása búzában (8.2. alfejezet).

									Chey	enne										
	Redu	ickciós pot	enciál, GSS	G						Génexp	resszió						Konduk	ctancia	Friss tön	neg (7d)
G	SSG 20°C	E _{GSH/GSSSG} 2	GSSG 5°C	E _{GSH/GSSSG}	CBF14	COR14b	APSR	sAPX1	CAB	NF-YB2	NCED1	ZCCT1	ZCCT2	VRN1	OXS2	FKF1	-11	-13	Hajtás	Gyökér
Kontroll	18,83	-147,79	40,98	-131,29	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	19,88	20,27	0,33	0,16
1GSH	8,83	-156,27	2,35	-182,40	1,01	1,12	1,30	1,41	1,01	4,13	1,20	0,94	0,63	1,63	1,37	1,00	11,70	13,77	0,34	0,18
ZGSH	64,60	-105,02	/3,1/	-67,55	0,53	1,20	0,95	1,25	0,58	2,21	0,56	0,70	0,52	1,28	1,21	0,92	16,35	15,64	0,32	0,10
16556	43,47	-119,02	47,18	-116,63	0,60	2,42	2,02	3.56	1,01	0,80	0,43	1,00	1,05	1.23	0,46	1,06	25.44	15,15	0,39	0,18
10550 1ASA	25.30	-134.67	24.18	-141.24	1,05	0.59	2,20	4.86	0,15	4.35	2.57	0.49	0,50	6.02	9.27	2.06	17.90	7.80	0,15	0,14
2ASA	28,30	-129,00	4,40	-175,61	0,51	0,94	1,54	2,58	0,32	3,18	1,05	0,28	0,33	3,04	5,01	1,26	14,42	7,46	0,28	0,12
2H ₂ O ₂	2,35	-179,94	8,70	-164,88	0,99	1,46	2,39	4,12	0,81	1,44	1,82	0,32	0,41	6,28	3,28	1,27	15,66	9,34	0,28	0,14
100NaCl	47,35	-115,41	7,03	-166,35	0,83	0,91	1,85	3,81	1,89	2,79	1,37	0,37	0,20	6,28	8,46	2,44	11,26	11,09	0,27	0,12
PEG	29,55	-137,26	8,68	-165,77	0,33	1,37	1,37	2,63	0,34	8,22	1,96	0,59	0,23	4,50	5,68	2,51	11,49	8,46	0,28	0,15
L	Redu	ukciós pote	enciál, GSS	G						Génexp	oreszió						Konduk	ctancia	Friss tön	neg (7d)
G	SSG 20°C	E _{GSH/GSSSG}	GSSG 5°C	E _{GSH/GSSSG}	CBF14	COR14b	APSR	sAPX1	CAB	NF-YB2	NCED1	ZCCT1	ZCCT2	VRN1	OXS2	FKF1	-11	-13	Hajtás	Gyökér
GSSG 20°C	1,00	0,97	0,74	0,77	0,21	0,54	-0,02	-0,02	-0,16	-0,26	-0,33	0,41	0,22	-0,36	-0,19	0,04	0,46	0,32	-0,31	-0,20
EGSH/GSSSG 20°C		1,00	0,67	0,69	0,29	0,53	0,02	0,01	-0,22	-0,23	-0,27	0,46	0,28	-0,39	-0,14	0,07	0,50	0,29	-0,38	-0,1/
GSSG 5°C			1,00	0,99	0,25	0,49	-0,25	-0,32	-0,26	-0,52	-0,46	0,63	0,64	-0,63	-0,56	-0,43	0,66	0,66	-0,01	-0,06
CRE14				1,00	0,24	0,47	-0,18	-0,23	-0,28	-0,48	-0,39	0,55	0,54	-0,53	-0,48	-0,36	0,64	0,58	-0,08	-0,17
COP14					1,00	0,39	0,62	-0.06	-0,10	-0,44	-0.23	0,44	0,49	-0,03	-0,11	-0,11	0,75	0,33	-0,56	-0,05
APSR						1,00	1.00	0,94	-0,25	-0,04	0,23	-0,32	-0,22	0,41	0,31	0,39	0,49	-0,46	-0,13	-0.41
sAPX1							2,00	1.00	-0,13	0,17	0,82	-0,52	-0,40	0,83	0,73	0,62	0,17	-0,61	-0,84	-0.61
САВ								2,50	1,00	-0,24	-0,27	-0,11	-0,12	0,19	0,12	0,11	-0,48	0,19	0,42	0,20
NF-YB2										1,00	0,53	-0,35	-0,62	0,39	0,53	0,65	-0,52	-0,57	-0,14	-0,13
NCED1											1,00	-0,40	-0,36	0,76	0,71	0,67	0,07	-0,57	-0,70	-0,44
ZCCT1												1,00	0,84	-0,80	-0,73	-0,44	0,51	0,78	0,20	0,59
ZCCT2													1,00	-0,70	-0,65	-0,58	0,61	0,69	0,21	0,45
VRN1														1,00	0,86	0,73	-0,33	-0,74	-0,48	-0,54
OXS2															1,00	0,83	-0,33	-0,72	-0,51	-0,66
FKF1																1,00	-0,30	-0,56	-0,49	-0,37
-11																	1,00	0,49	-0,53	-0,16
-13																		1,00	0,31	0,38
Hajtas																			1,00	0,64
Gyöker																				1,00
-									Tan	alta										
									T.sp	епа										
	Redu	ukcios pote	encial, GSS	G						Genexp	oreszio						Konduk	tancia	Friss ton	neg (7d)
G	SSG 20°C	E _{GSH/GSSSG}	GSSG 5°C	E _{GSH/GSSSG}	CBF14	COR14b	APSR	sAPX1	САВ	NF-YB	NCED1	ZCCT1	ZCCT2	VRN1	OXS2	FKF1	-11	-13	Hajtás	Gyökér
Kontroll	4,78	-166,60	4,58	-171,16	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	11,43	89,75	0,27	0,16
1GSH	5,80	-163,31	5,70	-161,10	0,38	0,43	0,32	0,73	0,45	0,65	0,58	0,85	0,14	3,95	0,82	2,54	40,79	85,18	0,54	0,24
0.56556	6,15 5.50	-159,77	39,45	-125,03	0,35	0,30	0,54	1.09	0,54	2,71	2,35	0,54	0,10	7,15	3,00	2,00	80.30	75,00	0,84	0,20
16556	6.58	-103,33	29,00	-1/2 02	0,50	0,50	0,04	1,05	0,05	1 75	2 10	0,07	0,15	3 34	0,50	1 /13	10,00	86.67	0,05	0,21
10550	4 88	-154 78	32 30	-148.40	0,10	0,25	0,02	0,50	0,20	0.55	0.25	0,23	0,11	3,54	0,50	0.82	57 51	77 51	0,70	0,50
2ASA	3.00	-176.04	5.65	-167.10	0.12	0.08	0,76	0.90	0.17	1.23	1.23	0.30	0.00	5.02	3,25	2.50	66.93	74.60	0.43	0,22
2H ₂ O ₂	4.92	-164.92	45.62	-128.55	0.12	0.33	0.27	0.73	0.17	0.29	0.68	0.65	0.06	3,40	0.86	1.27	8.21	77.70	0.68	0.34
100NaCl	4.75	-169.30	9.47	-164.32	0.11	0.27	0.49	0.36	0.29	1.33	1.10	0.47	0.17	3.56	2.65	1.33	0.27		0.53	0.37
PEG	4,28	474.00	. /				., .		0.24	0.00			.,	2.20			9.2/1	81.2/		0.16
	4,28 -171,02 48,85 -114,88 0,07 0,50 0,29 0,25 0,21 0,53 1,74 0,15 0,04 2,23 0,66 0,92 44,64 80,82 0,31 0,										0,04	2,23	0,66	0,92	9,27	81,27	0,31			
		-1/1,02	48,85	-114,88	0,07	0,50	0,29	0,25	0,21	0,53	1,74	0,15	0,04	2,23	0,66	0,92	9,27 44,64	81,27 80,82	0,31	
G	Redu	-171,02 ukciós pote	48,85 enciál, GSS	-114,88 G	0,07	0,50	0,29	0,25	0,21	0,53 Génexp	1,74 preszió	0,15	0,04	2,23	0,66	0,92	9,27 44,64 Konduk	81,27 80,82 tancia	0,31 Friss tön	neg (7d)
-	Redu SSG 20°C	-171,02 ukciós pote	48,85 enciál, GSS GSSG 5°C	-114,88 G E _{GSH/GSSSG}	0,07 CBF14	0,50 COR14b	0,29 APSR	0,25 sAPX1	0,21 CAB	0,53 Génexp NF-YB2	1,74 preszió NCED1	0,15 ZCCT1	0,04 ZCCT2	2,23 VRN1	0,66 OXS2	0,92 FKF1	9,27 44,64 <i>Konduk</i> -11	81,27 80,82 ctancia -13	0,31 <i>Friss tön</i> Hajtás	neg (7d) Gyökér
GSSG 20°C	Redu SSG 20°C 1,00	-171,02 ukciós pote E _{GSH/GSSSG} 0,70	48,85 enciál, GSS GSSG 5°C 0,30	-114,88 G E _{GSH/GSSSG} 9 0,37	0,07 CBF14 0,12	0,50 COR14b 0,07	0,29 APSR -0,09	0,25 sAPX1 0,21	0,21 CAB 0,12	0,53 Génexp NF-YB2 0,37	1,74 preszió NCED1 0,49	0,15 ZCCT1 0,18	0,04 ZCCT2 -0,03	2,23 VRN1 0,48	0,66 OXS2 0,07	0,92 FKF1 0,32	9,27 44,64 Konduk -11 0,00	81,27 80,82 ctancia -13 0,08	0,31 Friss tön Hajtás 0,73	neg (7d) Gyökér 0,12
GSSG 20°C EGSH/GSSSG 20°C	Redu SSG 20°C 1,00	-171,02 Jkciós pote E _{GSH/GSSSG} 0,70 1,00	48,85 enciál, GSS GSSG 5°C 0,30 0,31	-114,88 G E _{GSH/GSSSG} 0,37 0,23	0,07 CBF14 0,12 -0,04	0,50 COR14b 0,07 -0,08	0,29 APSR -0,09 -0,07	0,25 sAPX1 0,21 0,04	0,21 CAB 0,12 0,00	0,53 Génexp NF-YB2 0,37 0,15	1,74 preszió NCED1 0,49 0,03	0,15 2CCT1 0,18 0,16	0,04 ZCCT2 -0,03 -0,07	2,23 VRN1 0,48 0,09	0,66 0XS2 0,07 -0,41	0,92 FKF1 0,32 -0,15	9,27 44,64 Konduk -11 0,00 -0,05	81,27 80,82 ctancia -13 0,08 0,18	0,31 Friss tön Hajtás 0,73 0,69	neg (7d) Gyökér 0,12 0,19
GSSG 20°C EGSH/GSSSG 20°C GSSG 5°C	Redu SSG 20°C 1,00	-171,02 Jkciós pote E _{GSH/GSSSG} 0,70 1,00	48,85 enciál, GSS GSSG 5°C 0,30 0,31 1,00	-114,88 G E _{GSH/GSSSG} 0,37 0,23 0,96	0,07 CBF14 0,12 -0,04 -0,46	0,50 COR14b 0,07 -0,08 -0,16	0,29 APSR -0,09 -0,07 -0,49	0,25 sAPX1 0,21 0,04 -0,31	0,21 CAB 0,12 0,00 -0,39	0,53 <i>Génexp</i> <i>NF-YB2</i> 0,37 0,15 -0,11	1,74 preszió NCED1 0,49 0,03 0,29	0,15 ZCCT1 0,18 0,16 -0,38	0,04 ZCCT2 -0,03 -0,07 -0,45	2,23 2,23 VRN1 0,48 0,09 0,14	0,66 OXS2 0,07 -0,41 -0,25	0,92 FKF1 0,32 -0,15 -0,30	9,27 44,64 -11 0,00 -0,05 0,11	81,27 80,82 ctancia -13 0,08 0,18 -0,39	0,31 Friss tön Hajtás 0,73 0,69 0,39	neg (7d) Gyökér 0,12 0,19 -0,03
GSSG 20°C EGSH/GSSSG 20°C GSSG 5°C EGSH/GSSSG 5°C	Redu SSG 20°C 1,00	-1/1,02 ukciós pote E _{GSH/GSSSG} 0,70 1,00	48,85 enciál, GSS GSSG 5°C 0,30 0,31 1,00	-114,88 G E _{GSH/GSSSG} 0,37 0,23 0,96 1,00	0,07 CBF14 0,12 -0,04 -0,46 -0,44	0,50 COR14b 0,07 -0,08 -0,16 -0,13	0,29 APSR -0,09 -0,07 -0,49 -0,59	0,25 sAPX1 0,21 0,04 -0,31 -0,33	0,21 CAB 0,12 0,00 -0,39 -0,43	0,53 <i>Génexp</i> <i>NF-YB2</i> 0,37 0,15 -0,11 -0,15	1,74 oreszió NCED1 0,49 0,03 0,29 0,46	0,15 ZCC71 0,18 0,16 -0,38 -0,46	0,04 ZCCT2 -0,03 -0,07 -0,45 -0,47	2,23 2,23 VRN1 0,48 0,09 0,14 0,19	0,66 0xs2 0,07 -0,41 -0,25 -0,13	0,92 FKF1 0,32 -0,15 -0,30 -0,13	9,27 44,64 Konduk -11 0,00 -0,05 0,11 0,08	81,27 80,82 .13 0,08 0,18 -0,39 -0,36	0,31 Friss tön Hajtás 0,73 0,69 0,39 0,34	neg (7d) Gyökér 0,12 0,19 -0,03 -0,06
GSSG 20°C EGSH/GSSSG 20°C GSSG 5°C EGSH/GSSSG 5°C CBF14	Redu SSG 20°C 1,00	-1/1,02 ukciós pote E _{GSH/GSSSG} 0,70 1,00	48,85 enciál, GSS GSSG 5°C 0,30 0,31 1,00	-114,88 G E _{GSH/GSSS6} 0,37 0,23 0,96 1,00	0,07 CBF14 0,12 -0,04 -0,46 -0,44 1,00	0,50 COR14b 0,07 -0,08 -0,16 -0,13 0,88	0,29 APSR -0,09 -0,07 -0,49 -0,59 0,63	0,25 sAPX1 0,21 0,04 -0,31 -0,33 0,52	0,21 CAB 0,12 0,00 -0,39 -0,43 0,89	0,53 Génexp NF-YB2 0,37 0,15 -0,11 -0,15 0,13	1,74 NCED1 0,49 0,03 0,29 0,46 -0,09	0,15 ZCC71 0,18 0,16 -0,38 -0,46 0,77 0,77	0,04 ZCCT2 -0,03 -0,07 -0,45 -0,47 0,93	2,23 2,23 VRN1 0,48 0,09 0,14 0,19 -0,29	0,66 0xS2 0,07 -0,41 -0,25 -0,13 -0,07	0,92 FKF1 0,32 -0,15 -0,30 -0,13 0,00 0,02	9,27 44,64 Konduk -11 0,00 -0,05 0,11 0,08 -0,14	81,27 80,82 ctancia -13 0,08 0,18 -0,39 -0,39 -0,39 0,59	0,31 Friss tön Hajtás 0,73 0,69 0,39 0,34 -0,37	neg (7d) Gyökér 0,12 0,19 -0,03 -0,06 -0,44
GSSG 20°C EGSH/GSSSG 20°C GSSG 5°C EGSH/GSSSG 5°C CBF14 COR14b	Redu SSG 20°C 1,00	-1/1,02 Jkciós pote E _{GSH/GSSSG} 0,70 1,00	48,85 enciál, GSS GSSG 5°C 0,30 0,31 1,00	-114,88 G E _{GSH/GSSSG} 0,37 0,23 0,96 1,00	0,07 CBF14 0,12 -0,04 -0,46 -0,44 1,00	0,50 COR14b 0,07 -0,08 -0,16 -0,13 0,88 1,00	0,29 APSR -0,09 -0,07 -0,49 -0,59 0,63 0,35 1,00	0,25 sAPX1 0,21 0,04 -0,31 -0,33 0,52 0,23	0,21 CAB 0,12 0,00 -0,39 -0,43 0,89 0,77	0,53 <i>Génexp</i> <i>NF-YB2</i> 0,37 0,15 -0,11 -0,15 0,13 -0,10 0,00	1,74 NCED1 0,49 0,03 0,29 0,46 -0,09 -0,02 0,25	0,15 ZCCT1 0,18 0,16 -0,38 -0,46 0,77 0,58 0,20	0,04 ZCCT2 -0,03 -0,07 -0,45 -0,47 0,93 0,90	2,23 2,23 VRN1 0,48 0,09 0,14 0,19 -0,29 -0,55	0,66 0XS2 0,07 -0,41 -0,25 -0,13 -0,07 -0,07 -0,29	0,92 FKF1 0,32 -0,15 -0,30 -0,13 0,00 -0,30	9,27 44,64 Konduk -11 0,00 -0,05 0,11 0,08 -0,14 -0,32	81,27 80,82 ctancia -13 0,08 0,18 -0,39 -0,36 0,59 0,58	0,31 Friss tön Hajtás 0,73 0,69 0,39 0,34 -0,37 -0,52	neg (7d) Gyökér 0,12 0,19 -0,03 -0,04 -0,44 -0,44
GSSG 20°C EGSH/GSSSG 20°C GSSG 5°C EGSH/GSSSG 5°C CBF14 COR14b APSR APSR	Redu SSG 20°C 1,00	-171,02 Jkciós pote E _{GSH/GSSSG} 0,70 1,00	48,85 enciál, GSS GSSG 5°C 0,30 0,31 1,00	-114,88 G E _{GSH/GSSS6} 0,37 0,23 0,96 1,00	0,07 CBF14 0,12 -0,04 -0,46 -0,44 1,00	0,50 COR14b 0,07 -0,08 -0,16 -0,13 0,88 1,00	0,29 APSR -0,09 -0,07 -0,49 -0,59 0,63 0,35 1,00	0,25 sAPX1 0,21 0,04 -0,31 -0,33 0,52 0,23 0,66 0,66	0,21 CAB 0,12 0,00 -0,39 -0,43 0,89 0,77 0,71	0,53 Génexp NF-YB2 0,37 0,15 -0,11 -0,15 0,13 -0,10 0,60 0,60	1,74 preszió NCED1 0,49 0,03 0,29 0,46 -0,09 -0,02 0,05 0,05	0,15 ZCCT1 0,18 0,16 -0,38 -0,46 0,77 0,58 0,39 0,39	0,04 2CCT2 -0,03 -0,07 -0,45 -0,47 0,93 0,94 0,54 0,20	2,23 2,23 0,48 0,09 0,14 0,19 -0,29 -0,55 -0,03 0,22	0,66 0XS2 0,07 -0,41 -0,25 -0,13 -0,07 -0,29 0,12	6,92 FKF1 0,32 -0,15 -0,30 -0,13 0,00 -0,30 -0,03 0,00 -0,03	9,27 44,64 -11 0,00 -0,05 0,11 0,08 -0,14 -0,32 0,18	81,27 80,82 -13 0,08 0,18 -0,39 -0,36 0,59 0,68 0,22	0,31 Friss tön Hajtás 0,73 0,69 0,39 0,34 -0,37 -0,52 -0,19 0,10	neg (7d) Gyökér 0,12 0,19 -0,03 -0,06 -0,44 -0,44 -0,29
GSSG 20°C EGSH/GSSSG 20°C GSSG 5°C EGSH/GSSSG 5°C CBF14 COR14b APSR SAPX1 CAB	Redu SSG 20°C 1,00	-1/1,02 ukciós pote E _{GSH/GSSSG} 0,70 1,00	48,85 enciál, GSS GSSG 5°C 0,30 0,31 1,00	-114,88 G E _{GSH/GSSSG} 0,37 0,23 0,96 1,00	0,07 CBF14 0,12 -0,04 -0,44 -0,44 1,00	0,50 0,07 -0,08 -0,16 -0,13 0,88 1,00	0,29 APSR -0,09 -0,07 -0,49 -0,59 0,63 0,35 1,00	0,25 sAPX1 0,21 0,04 -0,31 -0,33 0,52 0,23 0,66 1,00	0,21 CAB 0,12 0,00 -0,39 -0,43 0,89 0,77 0,71 0,59	0,53 Génext NF-YB2 0,37 0,15 -0,11 -0,15 0,13 -0,10 0,60 0,59 0,45	1,74 preszió NCED1 0,49 0,03 0,29 0,46 -0,09 -0,02 0,05 0,16 0,12	0,15 2CCT1 0,18 0,16 -0,38 -0,46 0,77 0,58 0,39 0,39 0,48	0,04 2CCT2 -0,03 -0,07 -0,45 -0,47 0,93 0,90 0,64 0,38 0,88	2,23 2,23 0,48 0,09 0,14 0,19 -0,29 -0,55 -0,03 0,23	0,66 0XS2 0,07 -0,41 -0,25 -0,13 -0,07 -0,29 0,02 0,02	0,92 FKF1 0,32 -0,15 -0,30 -0,13 0,00 -0,30	9,27 44,64 -11 0,00 -0,05 0,11 0,08 -0,14 -0,32 0,18 0,08	81,27 80,82 .tancia -13 0,08 0,18 -0,39 -0,36 0,59 0,68 0,28 0,28	0,31 Friss tön Hajtás 0,73 0,69 0,39 0,34 -0,37 -0,52 -0,19 0,18 0,26	meg (7d) Gyökér 0,12 0,19 -0,03 -0,06 -0,44 -0,44 -0,44 -0,29 0,00
GSSG 20°C EGSH/GSSSG 20°C GSSG 5°C EGSH/GSSSG 5°C CBF14 COR14b APSR SAPX1 CAB SAPX1 CAB NE_VR2	Redu SSG 20°C 1,00	-171,02 Jakciós pote E _{05H/05556} 0,70 1,00	48,85 enciál, GSS GSSG 5°C 0,30 0,31 1,00	-114,88 G E _{65H/05556} 1 0,37 0,23 0,96 1,00	0,07 CBF14 0,12 -0,04 -0,44 1,00	0,50 COR14b 0,07 -0,08 -0,16 -0,13 0,88 1,00	0,29 APSR -0,09 -0,07 -0,49 -0,59 0,63 0,35 1,00	0,25 sAPX1 0,21 0,04 -0,31 -0,33 0,52 0,23 0,66 1,00	0,21 0,12 0,00 -0,39 -0,43 0,89 0,77 0,71 0,71 0,59 1,00	0,53 Génext NF-YB2 0,37 0,15 -0,11 -0,15 0,13 -0,10 0,60 0,59 0,45 1,00	1,74 NCED1 0,49 0,03 0,29 0,46 -0,09 -0,02 0,05 0,16 -0,13 0,27	0,15 2CCT1 0,18 0,16 -0,38 -0,46 0,77 0,58 0,39 0,48 0,79 0,15	0,04 2CCT2 -0,03 -0,07 -0,45 -0,47 0,98 0,98 0,64 0,88 0,82	0,55 2,23 VRN1 0,48 0,09 0,14 0,19 -0,29 -0,05 -0,03 0,23 -0,21	0,66 0XS2 0,07 -0,41 -0,25 -0,13 -0,07 -0,29 0,12 0,02 -0,023 0,10	0,92 FKF1 0,32 -0,15 -0,30 -0,13 0,00 -0,30 -0,03 0,36 -0,02 0,22	9,27 44,64 -11 0,00 -0,05 0,11 0,08 -0,14 -0,32 0,18 0,08 0,08	81,27 80,82 -13 0,08 0,18 -0,39 -0,36 0,59 0,68 0,28 0,28 0,28	0,31 Friss tön Hajtás 0,73 0,69 0,39 0,34 -0,37 -0,52 -0,19 0,18 -0,26 0,41	neg (7d) Gyökér 0,12 0,19 -0,03 -0,06 -0,44 -0,29 0,000 -0,38
GSSG 20°C EGSH/GSSSG 20°C GSSG 5°C EGSH/GSSSG 5°C CBF14 COR14b APSR SAPX1 CAB NF-YB2 NCEP1	Redu SSG 20°C 1,00	-171,02 Jkciós pote Ecsxi/cesses 0,70 1,00	48,85 enciál, GSS GSSG 5°C 0,30 0,31 1,00	-114,88 G E _{GSH/GSSSG} 4 0,37 0,23 0,96 1,00	0,07 CBF14 0,12 -0,04 -0,44 1,00	0,50 0,07 -0,08 -0,16 -0,13 0,88 1,00	0,29 APSR -0,09 -0,07 -0,49 -0,59 0,63 0,35 1,00	0,25 sAPX1 0,21 0,04 -0,31 -0,33 0,52 0,23 0,66 1,00	0,21 0,12 0,00 -0,39 -0,43 0,89 0,77 0,71 0,59 1,00	0,53 <i>Génexp</i> <i>NF-YB2</i> 0,37 0,15 -0,11 -0,15 0,13 -0,10 0,60 0,59 0,45 1,00	1,74 NCED1 0,49 0,03 0,29 0,46 -0,09 -0,02 0,05 0,16 -0,13 0,37 1,00	0,15 2CC71 0,18 0,16 0,038 -0,48 0,77 0,58 0,39 0,48 0,79 0,14 0,74	0,04 2CCT2 -0,03 -0,07 -0,45 -0,47 0,93 0,90 0,64 0,38 0,82 0,04 -0,14	2,23 2,23 VRN1 0,48 0,09 0,14 0,19 -0,29 -0,55 -0,03 0,23 -0,21 0,52 0,32	0,66 0XS2 0,07 -0,41 -0,25 -0,13 -0,07 -0,29 0,12 0,02 -0,23 -0,23 0,04	0,92 FKF1 0,32 -0,15 -0,30 -0,13 0,00 -0,30 -0,30 -0,30 -0,36 -0,12 0,322 0,320	9,27 44,64 -11 0,00 -0,05 0,11 0,08 -0,14 -0,32 0,18 0,08 0,03 0,40 0,03	81,27 80,82 -13 0,08 0,18 -0,39 -0,36 0,59 0,68 0,28 0,28 0,28 0,60 0,01	0,31 Friss tön Hajtás 0,69 0,39 0,34 -0,37 -0,52 -0,19 0,18 -0,26 0,41 0,21	neg (7d) Gyökér 0,12 0,19 -0,03 -0,06 -0,44 -0,44 -0,29 0,00 -0,38 0,05 0,02
GSSG 20°C EGSH/GSSSG 20°C GSSG 5°C EGSH/GSSSG 5°C CBF14 COR14b APSR SAPX1 CAB NF-YB2 NCED1 ZCCT1	Redu SSG 20°C 1,00	-171,02 Jkciós pot E _{GSH/GSSSG} 0,70 1,00	48,85 enciál, GSS GSSG 5°C 0,30 0,31 1,00	-114,88 G E _{GSH/GSSSG} (0,37 0,23 0,96 1,00	0,07 CBF14 0,12 -0,04 -0,44 1,00	0,50 COR14b 0,07 -0,08 -0,16 -0,13 0,88 1,00	0,29 APSR -0,09 -0,07 -0,49 -0,59 0,63 0,35 1,00	0,25 sAPX1 0,21 0,04 -0,31 -0,33 0,52 0,23 0,66 1,00	0,21 0,12 0,00 -0,39 -0,43 0,89 0,77 0,71 0,59 1,00	0,53 <i>Génexp</i> <i>NF-YB2</i> 0,37 0,15 0,11 -0,15 0,13 -0,10 0,60 0,59 0,45 1,00	1,74 nreszió NCED1 0,49 0,03 0,29 0,46 -0,09 -0,02 0,05 0,16 -0,13 0,37 1,00	0,15 2CC71 0,18 0,16 -0,38 -0,46 0,77 0,58 0,39 0,48 0,79 0,14 -0,51 1,00	0,04 2CC72 -0,03 -0,07 -0,45 -0,47 0,93 0,90 0,64 0,38 0,82 0,04 -0,10 0,64	2,23 2,23 VRN1 0,48 0,09 0,14 0,19 -0,29 -0,55 -0,03 0,23 -0,21 0,52 0,34 -0,04	0,66 0XS2 0,07 -0,41 -0,25 -0,13 -0,07 -0,29 0,12 0,02 -0,23 0,19 0,41 -0,23 0,19 0,41 -0,23 -0,12 -0,23 -0,12 -0,23 -0,23 -0,23 -0,23 -0,23 -0,23 -0,23 -0,23 -0,23 -0,24 -0,25 -0,2	0,92 FKF1 0,32 -0,15 -0,30 -0,13 0,00 -0,30 -0,30 -0,36 -0,12 0,22 0,320 0,30	9,27 44,64 -11 0,00 -0,05 0,11 0,08 -0,14 -0,32 0,18 0,08 0,03 0,03 0,03 0,00 -0,03	81,27 80,82 stancia -13 0,08 0,18 -0,39 -0,39 -0,36 0,59 0,68 0,28 0,28 0,60 0,01 -0,04 -0,04 -0,04 -0,04 -0,04 -0,05 -0,0	0,31 Friss tön Hajtás 0,73 0,69 0,39 0,34 -0,37 -0,52 -0,19 0,18 -0,26 0,41 0,21 -0,01	neg (7d) Gyökér 0,12 0,19 -0,03 -0,06 -0,44 -0,29 0,00 -0,38 0,05 0,03 -0,18
GSSG 20°C EGSH/GSSSG 20°C GSSG 5°C EGSH/GSSSG 5°C CBF14 COR14b APSR SAPX1 CAB NF-YB2 NCED1 ZCCT1 ZCCT1 ZCCT2	Redu SSG 20°C 1,00	-171,02 Ikciós pote Egsikjosses 4 0,700 1,00	48,85 enciál, GSS GSSG 5°C 0,330 0,311 1,00	-114,88 G EcsH/GSSGE 4 0,37 0,23 0,96 1,00	0,07 CBF14 0,12 -0,04 -0,44 1,00	0,50 COR14b 0,07 -0,08 -0,16 -0,13 0,88 1,00	0,29	0,25 sAPX1 0,21 0,04 -0,31 -0,33 0,52 0,23 0,66 1,00	0,21 0,12 0,00 -0,39 -0,43 0,89 0,77 0,71 0,59 1,00	0,53 Génexp NF-YB2 0,37 0,15 -0,11 -0,15 0,13 -0,10 0,60 0,59 0,45 1,00	1,74 nreszió NCED1 0,49 0,03 0,29 0,46 -0,09 -0,02 0,05 0,16 -0,13 0,37 1,00	0,15 2CC71 0,18 0,16 -0,38 -0,46 0,77 0,58 0,39 0,48 0,79 0,14 -0,51 1,00	0,04 2CCT2 -0,03 -0,07 -0,45 -0,47 0,99 0,64 0,38 0,82 0,04 -0,10 0,64 1,00	2,23 VRN1 0,48 0,09 0,14 0,19 -0,29 -0,55 -0,03 0,23 -0,21 0,52 0,34 -0,09 -0,54	0,66 0XS2 0,07 -0,41 -0,25 -0,13 -0,07 -0,29 0,12 0,02 -0,23 0,19 0,41 -0,25 -0,15	0,92 FKF1 0,32 -0,15 -0,30 -0,13 0,00 -0,30 -0,30 -0,30 -0,12 0,22 0,30 -0,12 0,22 0,30 -0,12 0,22 0,30 -0,28	9,27 44,64 -11 0,00 -0,05 0,11 0,08 -0,14 -0,32 0,18 0,08 0,03 0,03 0,40 -0,03 -0,03 -0,37	81,27 80,82 ctancia -13 0,08 0,18 0,18 0,08 0,59 0,68 0,28 0,28 0,28 0,01 -0,04 0,01 -0,04 0,01 0,04	0,31 Friss tör. Hajtás 0,69 0,39 0,34 -0,37 -0,52 -0,19 0,18 -0,26 0,41 0,21 -0,21 -0,24	neg (7d) Gyökér 0,12 0,19 -0,03 -0,06 -0,44 -0,44 -0,44 -0,44 -0,25 0,00 -0,38 0,05 0,03 -0,18 -0,018 -0,02 -0,02 -0,02 -0,03 -0,03 -0,03 -0,03 -0,04 -0,05 -0,05 -0,04 -0,04 -0,04 -0,05 -0,05 -0,05 -0,05 -0,05 -0,04 -0,04 -0,05 -0,05 -0,05 -0,05 -0,05 -0,05 -0,05 -0,04 -0,04 -0,04 -0,04 -0,04 -0,05 -0
GSSG 20°C EGSH/GSSSG 20°C EGSH/GSSSG 5°C CBF14 COR14b APSR SAPX1 CAB NF-YB2 CCB1 ZCCT1 ZCCT1 ZCCT2 VRN1	Redu SSG 20°C 1,00	-171,02 ukciós pote E _{osił} yosse i 0,70 1,00	48,85 enciál, GSS GSSG 5°C 0,30 0,31 1,00	-114,88 G EcsH/GSSG { 0,37 0,23 0,96 1,00	0,07 CBF14 0,12 -0,04 -0,44 1,00	0,50 COR14b 0,07 -0,08 -0,13 0,88 1,00	0,29 APSR -0,09 -0,07 -0,59 0,63 0,35 1,00	0,25 sAPX1 0,21 0,04 -0,31 -0,33 0,52 0,23 0,66 1,00	0,21 CAB 0,12 0,00 -0,39 -0,43 0,89 0,77 0,71 0,59 1,00	0,53 Génexp NF-YB2 0,37 0,15 -0,11 -0,15 0,13 -0,10 0,60 0,59 0,45 1,00	1,74 nreszió NCED1 0,49 0,03 0,29 0,46 -0,09 -0,02 0,05 0,16 -0,13 0,37 1,00	0,15 2CCT1 0,18 0,16 -0,38 -0,46 0,77 0,58 0,39 0,48 0,79 0,14 -0,51 1,00	0,04 2CCT2 -0,03 -0,07 -0,45 -0,47 0,93 0,90 0,64 0,38 0,82 0,04 -0,10 0,64 1,00	2,23 VRN1 0,48 0,09 0,14 0,19 -0,29 -0,25 -0,03 0,23 -0,21 0,52 0,34 -0,09 -0,54 1,00	0,66 0XS2 0,07 -0,41 -0,25 -0,13 -0,07 -0,29 0,12 0,02 -0,23 0,19 0,41 -0,23 -0,15 0,66	0,92 FKF1 0,32 -0,15 -0,30 -0,13 0,00 -0,30 -0,30 0,36 0,36 0,36 0,36 0,32 0,32 0,30 0,30 0,32 0,05 0,32 0,05 0,32 0,05 0,30 0,00 0,00 0,30 0,36 0,37 0	9,27 44,64 Konduk -11 0,00 -0,05 0,01 0,08 -0,14 -0,32 0,08 0,08 0,08 0,03 0,40 -0,03 -0,03 -0,03 -0,03 -0,03 -0,03 -0,03 -0,03 -0,03	81,27 80,82 ctancia -13 0,08 0,18 -0,39 -0,36 0,59 0,68 0,28 0,68 0,28 0,60 0,01 -0,04 0,01 -0,04 0,69 0,667	0,31 Friss tör Hajtás 0,73 0,69 0,34 -0,37 -0,52 -0,19 0,18 -0,26 0,41 0,21 -0,01 -0,01 -0,49 0,69	neg (7d) Gyökér 0,12 0,19 -0,03 -0,06 -0,44 -0,44 -0,44 0,04 -0,29 0,00 -0,38 0,05 0,03 -0,18 -0,29 0,04
GSSG 20°C EGSH/GSSG 20°C GSSG 5°C GSSG 5°C CGF14 EGSH/GSSSG 5°C CGF14 CCR14 APSR APSR APSR APSR APSR CAB NF-YB2 CCR14 ZCCT1 ZCCT2 ZCCT2 VRN1 CGS2 CS2 CS2 CS2 CS2 CS2 CS2 CS2 CS2 CS2 C	Redu SSG 20°C 1,00	-171,02 ukciós pote E _{GSH/GSSS6} d 0,70 1,00	48,85 enciál, GSS GSSG 5°C 0,30 0,31 1,00	-114,88 G G E _{GSH/GSSGE} 0,37 0,23 0,96 1,00	0,07 CBF14 0,12 -0,04 -0,46 -0,44 1,00	0,50 COR14b 0,07 -0,08 -0,16 -0,13 0,88 1,00	0,29 APSR -0,09 -0,07 -0,49 -0,59 0,63 0,35 1,00	0,25 sAPX1 0,21 0,04 -0,33 0,52 0,23 0,66 1,00	0,21 0,12 0,00 -0,39 0,77 0,71 0,59 1,00	0,53 Génexp NF-YB2 0,37 0,15 -0,11 -0,15 0,13 -0,10 0,60 0,59 0,45 1,00	1,74 meszió NCED1 0,49 0,03 0,29 0,46 -0,09 -0,02 0,05 0,16 -0,13 0,37 1,00	0,15 2CC71 0,18 0,16 -0,38 -0,46 0,77 0,58 0,39 0,48 0,79 0,144 -0,51 1,00	0,04 2CCT2 -0,03 -0,07 -0,45 -0,47 0,93 0,94 0,64 0,38 0,04 -0,10 0,64 1,00	2,23 2,23 0,48 0,09 0,14 0,19 -0,25 -0,03 0,23 -0,21 0,52 0,34 -0,09 -0,54 1,009	0,66 0XS2 0,07 -0,41 -0,25 -0,13 -0,07 -0,29 0,12 0,02 0,02 0,02 0,02 0,01 0,07 -0,29 0,12 0,07 -0,23 0,19 0,41 -0,25 0,66 0,07 -0,25 -0,13 -0,07 -0,29 0,07 -0,25 -0,13 -0,07 -0,29 0,07 -0,25 -0,13 -0,07 -0,29 0,07 -0,25 -0,13 -0,07 -0,29 0,07 -0,23 -0,25 -0,12 -0,25 -0,12 -0,25 -0,12 -0,25 -0,12 -0,25 -0,12 -0,25 -0,12 -0,25 -0,12 -0,25 -0,12 -0,25 -0,25 -0,12 -0,25 -0,23 -0,25 -0,25 -0,13 -0,25 -0,25 -0,12 -0,25 -0,12 -0,25 -0,12 -0,25 -0,12 -0,25 -0,12 -0,25 -0,12 -0,25 -0,13 -0,25 -0,23 -0,15 -0,55 -0,15 -0,562 -0,15 -0,562 -0,5	0,92 FKF1 0,32 -0,15 -0,30 -0,13 0,00 -0,03 0,36 -0,12 0,22 0,30 0,03 -0,28 0,76 0,65	9,27 44,64 Kondui -11 0,00 -0,05 0,11 0,08 -0,14 -0,32 0,18 0,08 0,03 0,40 0,03 0,40 -0,03 -0,03 -0,03 -0,03 -0,03 -0,03 -0,03 -0,03 -0,05	81,27 80,82 ttoncio -13 0,08 0,13 0,03 0,66 0,59 0,668 0,28 0,28 0,28 0,28 0,60 0,01 0,01 0,01 0,69 0,669 0,0,65	0,31 Friss tör. Hajtás 0,73 0,69 0,39 0,34 -0,37 -0,52 -0,19 0,18 -0,26 0,41 0,211 -0,01 -0,09 0,69 0,69 0,69	neg (7d) Gyökér 0,12 0,19 -0,03 -0,06 -0,44 -0,29 0,00 -0,38 0,05 0,03 -0,18 -0,29 0,03 -0,18 -0,29 0,00 0,03 -0,12 -0,44 -0,29 0,00 -0,03 -0,04 -0,29 -0,04 -0,04 -0,29 -0,04 -0,04 -0,29 -0,04 -0,04 -0,29 -0,04 -0,04 -0,04 -0,04 -0,04 -0,04 -0,04 -0,04 -0,04 -0,04 -0,04 -0,04 -0,04 -0,04 -0,04 -0,04 -0,04 -0,05 -0,04 -0,04 -0,04 -0,04 -0,04 -0,05 -0,05 -0,04 -0,04 -0,05 -0,05 -0,04 -0,05 -0,04 -0,05 -0,05 -0,05 -0,05 -0,04 -0,05 -0,04 -0,05 -0,04 -0,05
GSSG 20°C EGSH/GSSSG 20°C GSSG 5°C CGF14 COR14b AP5R SAPX1 CAB NF-VB2 NCED1 ZCCT1 ZCCT1 ZCCT2 VRN1 OXS2 FKF1	Redu ssg 20°C 1,00	-11,02 skciós pote E _{GSH/GSSG} 4 0,70 1,00	48,85 enciál, GSS GSSG 5°C 0,30 0,31 1,00	-114,88 G E _{GSH/GSSSE} 1 0,37 0,23 0,96 1,00	0,07 CBF14 0,12 -0,04 -0,44 1,00	0,50 <i>COR14b</i> 0,07 -0,08 -0,16 -0,13 0,88 1,00	0,29 APSR -0,09 -0,07 -0,49 -0,59 0,63 0,35 1,00	0,25 sAPX1 0,21 0,04 -0,33 0,52 0,23 0,66 1,00	0,21 0,00 -0,39 0,77 0,71 0,59 1,00	0,53 Génexp NF-YB2 0,37 0,15 -0,11 -0,15 0,13 -0,10 0,609 0,45 1,00	1,74 reszió NCED1 0,49 0,03 0,29 0,46 -0,09 -0,02 0,05 0,16 -0,13 0,37 1,00	0,15 2CCT1 0,18 0,16 -0,38 0,39 0,48 0,79 0,14 -0,51 1,00	0,04 2CCT2 -0,03 -0,07 -0,45 -0,47 0,93 0,99 0,64 0,38 0,82 0,04 -0,10 0,64 1,00	2,23 VRN1 0,48 0,09 0,14 0,19 -0,29 -0,55 -0,03 0,23 -0,21 0,52 0,34 -0,09 -0,54 1,00	0,66 0XS2 0,07 -0,41 -0,25 -0,13 -0,07 0,29 0,12 0,02 -0,23 0,19 0,41 -0,23 -0,15 0,62 1,00	FKF1 0,32 -0,15 -0,30 -0,13 0,00 -0,30 -0,30 -0,30 -0,33 0,00 -0,33 0,030 -0,33 0,36 -0,12 0,300 0,031 -0,28 0,76 0,655 1,000	9,27 44,64 Kondui -11 0,00 -0,05 0,11 0,08 0,03 0,40 -0,03 0,40 -0,03 0,40 -0,03 0,03 0,40 -0,03 0,00 0,0	81,27 80,82 ttoncio -13 0,08 0,18 0,18 0,36 0,59 0,65 0,28 0,28 0,28 0,60 0,01 0,01 0,01 0,60 0,60 0,60 0,60	0,31 Friss tör Hajtás 0,73 0,69 0,39 0,34 -0,37 -0,52 -0,19 0,18 -0,26 0,41 0,21 -0,21 0,21 -0,49 0,69 0,69 0,04 0,51 0,52 -0,19 0,01 0,19 0,01 0,19 0,01 0,00	neg (7d) Gyökér 0,12 0,19 -0,03 -0,06 -0,44 -0,29 0,000 -0,38 0,05 0,03 -0,03 -0,04 -0,29 0,004 -0,29 0,04 0,02 -0,04 -0,02 -0,04 -0,05 -0,05 -0,04 -0,05 -0,04 -0,04 -0,04 -0,05 -0,04 -0,04 -0,04 -0,04 -0,04 -0,04 -0,04 -0,04 -0,05 -0,04 -0,04 -0,05 -0,04 -0,04 -0,05 -0,04 -0,04 -0,05 -0,04 -0,04 -0,05 -0,05 -0,04 -0,05 -0,05 -0,04 -0,05 -0,05 -0,04 -0,05 -0,05 -0,05 -0,04 -0,05 -0,0
GSSG 20°C EGSH/GSSG 20°C GSSG 5°C EGSH/GSSSG 5°C CGF14 CCR14b AP\$R SAPX1 CCR14b AP\$R SAPX1 CCR14b AP\$R SAPX1 CCR14b CCR14b ZCCT1 ZCCT2 VRM1 DXS2 FKF1 -11	Redu ssg 20°C 1,00	-111,02 skciós pote skciós pot	48,85 enciál, GSS GSSG 5°C 0,30 0,31 1,00	-114,88 G G E _{054/(65566} 0,37 0,23 0,96 1,00	0,07 CBF14 -0,04 -0,44 1,00	0,50 <i>COR14b</i> 0,07 -0,08 -0,16 -0,13 0,88 1,00	0,29 APSR -0,09 -0,07 -0,49 -0,59 0,63 0,35 1,00	0,25 sAPX1 0,21 0,04 -0,31 0,52 0,23 0,66 1,00	0,21 0,12 0,00 -0,39 0,77 0,71 0,59 1,00	Génexp NF-YB2 0,37 0,15 -0,11 -0,15 0,13 -0,10 0,660 0,59 0,45 1,00	1,74 meszió NCED1 0,49 0,03 0,29 0,46 -0,09 -0,02 0,05 0,16 -0,13 0,37 1,00	0,15 2CCT1 0,18 0,16 -0,38 0,39 0,48 0,79 0,44 -0,51 1,00	0,04 2CCT2 -0,03 -0,07 -0,45 -0,47 0,93 0,99 0,64 0,38 0,64 -0,10 0,64 -0,10 0,64 1,00	2,23 2,23 0,48 0,09 0,14 0,19 -0,29 -0,55 -0,03 0,23 -0,21 0,52 0,34 -0,09 -0,54 1,00	0,66 0XS2 0,07 -0,41 -0,25 -0,13 -0,07 -0,29 0,12 0,02 -0,23 0,19 0,41 -0,23 -0,15 0,62 1,00	0,92 FKF1 0,32 -0,15 -0,30 -0,13 0,00 -0,30 -0,03 0,06 -0,12 0,22 0,30 -0,03 -0,03 0,03 -0,22 0,30 -0,28 0,76 0,655 1,000	9,27 44,64 -11 0,00 -0,05 0,11 0,08 -0,14 -0,32 0,18 0,08 0,03 0,40 -0,03 -0,03 0,40 -0,03 -0,00	81,27 80,82 ttancia -13 -0,08 0,08 0,08 0,09 -0,36 0,59 0,68 0,28 0,28 0,28 0,28 0,28 0,28 0,28 0,00 -0,30 -0,30 -0,30 -0,30 -0,59 -0,36 -0,59 -0,69 -0,59 -0,69 -0,59 -0,69 -0,53 -0,55 -0,53 -0,55 -0,53 -0,55 -0	0,31 Friss tör Hajtás 0,73 0,69 0,39 0,34 -0,37 -0,52 -0,19 0,18 -0,26 0,41 0,21 -0,01 -0,49 0,69 0,10 0,30 0,30 0,16 -0,10 -0,010	neg (7d) Gyökér 0,12 0,19 -0,03 -0,06 -0,44 -0,29 0,00 -0,38 0,05 0,03 -0,08 -0,029 0,04 -0,029 0,04 -0,04 -0,029 -0,04 -0,029 -0,04 -0,029 -0,04 -0,038 -0,05 -0,04 -0,05 -0,04 -0,05 -0,05 -0,04 -0,04 -0,05 -0,05 -0,04 -0,05 -0,05 -0,04 -0,05 -0,04 -0,04 -0,05 -0,04 -0,05 -0,04 -0,05 -0,04 -0,05 -0,04 -0,05 -0,04 -0,05 -0,04 -0,05 -0,04 -0,05 -0,04 -0,05 -0,04 -0,05 -0,04 -0,05 -0,04 -0,05 -0,05 -0,04 -0,05 -0,05 -0,04 -0,05
GSSG 20°C EGSH/GSSSG 20°C GSSG 5°C EGSH/GSSSG 5°C CØF14 COR14b APSR APSR APSR APSR APSR CAB NF-YB2 CCR12 ZCC71 ZCC71 ZCC72 VRN1 OXS2 FKF1 -11 -13	Redu SSG 20°C 1,00	-111,02	48,85	-114,88 G E 0,37 0,23 0,96 1,00	0,07 CBF14 0,12 -0,04 -0,44 1,00	0,50 0,07 -0,08 -0,16 -0,13 0,88 1,00	0,29 -0,09 -0,07 -0,49 -0,59 0,63 0,35 1,00	0,25 sAPX1 0,21 0,04 -0,33 0,52 0,23 0,66 1,00	0,21 0,12 0,00 -0,39 0,89 0,77 0,71 0,59 1,00	Génexp Sénexp NF-YB2 0,37 0,15 -0,111 -0,15 0,13 -0,100 0,660 0,599 0,455 1,000	1,74 reszió NCED1 0,49 0,03 0,29 0,46 -0,09 -0,02 0,05 0,16 -0,13 0,37 1,00 0,00 0,49 0,00 0,01 0,16 0,37 1,000 0,37 1,000 0,00 0,00 0,00 0,000 0,00	0,15 2CCT1 0,18 0,16 -0,38 -0,46 0,77 0,58 0,39 0,48 0,79 0,144 -0,51 1,00	0,04 2CCT2 -0,03 -0,07 -0,45 -0,47 0,98 0,64 0,38 0,82 0,04 -0,10 0,64 1,00	2,23 VRN1 0,48 0,09 0,14 0,19 -0,29 -0,03 0,23 -0,21 0,52 0,34 -0,09 -0,54 1,00	0,66 0X52 0,07 -0,41 -0,25 -0,13 -0,07 -0,29 0,12 0,023 0,19 0,41 -0,23 -0,15 0,62 1,00	0,92 FKF1 0,32 -0,15 -0,30 -0,13 0,00 -0,03 0,36 -0,12 0,30 0,03 -0,28 0,76 0,65 1,00	9,27 44,64 Kondui -11 0,00 -0,05 0,11 0,08 -0,14 -0,32 0,18 0,03 0,40 0,03 -0	81,27 80,82 ctancia -13 0,08 0,18 -0,39 -0,36 0,59 0,68 0,28 0,28 0,28 0,28 0,28 0,28 0,001 -0,04 0,609 -0,67 -0,55 -0,33 -0,57 1,00	0,31 Friss tör Hajtás 0,73 0,69 0,39 0,34 -0,37 -0,52 -0,19 0,18 -0,26 0,41 0,21 -0,019 -0,49 0,40 0,30 0,16 -0,30 -0,30 -0,52	neg (7d) Gyökér 0,12 0,19 -0,03 -0,06 -0,44 -0,44 -0,44 -0,29 0,00 -0,38 -0,03 -0,03 -0,03 -0,04 -0,04 -0,04 -0,04 -0,02 -0,03 -0,03 -0,03 -0,03 -0,03 -0,03 -0,04 -0,05 -0,05 -0,05 -0,04 -0,04 -0,05 -
GSSG 20°C EGSH/GSSG 20°C GSSG 5°C EGSH/GSSSG 5°C EGSH/GSSSG 5°C CBF14 COR14b APSR SAPX1 CAB NF-YB2 NCED1 ZCCT1 ZCCT2 VRN1 OXS2 FKF1 11 -13 Hajtás	Redu SSG 20°C 1,00	-111,02 JkCiós pote Egstygesseg i 0,70 1,00	48,85 enciál, GSS GSSG 5°C 0,30 0,31 1,00	-114,88 G G E _{0514/05256} 1,00	0,07 CBF14 0,12 -0,04 -0,44 1,00	COR14b 0,07 -0,08 -0,16 -0,13 0,88 1,00	0,29 -0,09 -0,07 -0,49 -0,59 0,635 1,00	0,25 sAPX1 0,21 0,04 -0,31 -0,33 0,52 0,23 0,66 1,00	0,21 CAB 0,12 0,00 -0,39 -0,43 0,77 0,71 0,59 1,00	0,53 Génexy NF-YB2 0,37 -0,11 -0,15 -0,11 -0,10 0,60 0,59 0,45 1,00	1,74 preszió NCED1 0,49 0,03 0,29 0,46 -0,09 -0,02 0,05 0,16 -0,13 0,37 1,00	0,15 2CCT1 0,18 0,16 0,078 0,058 0,39 0,48 0,79 0,14 0,515 1,000	0,04 2CC72 -0.03 -0,07 -0,45 -0,47 0,93 0,64 0,38 0,82 0,04 -0,10 0,64 1,00	2,23 2,23 0,09 0,14 0,19 -0,29 -0,25 -0,03 0,23 -0,21 0,52 0,34 -0,09 -0,54 1,00	0,66 0x52 0,07 -0,41 -0,25 -0,13 -0,07 -0,29 0,12 0,02 -0,23 0,19 0,41 -0,23 -0,15 0,62 1,00	0,92 FKF1 0,32 -0,15 -0,30 -0,13 0,00 -0,30 -0,03 0,36 -0,12 0,22 0,30 0,03 -0,28 0,76 0,65 1,00	9,27 44,64 -11 0,00 -0,05 0,11 0,08 0,01 4 -0,14 -0,32 0,18 0,03 0,03 0,03 0,03 0,03 0,03 -0,03 -0,03 -0,03 -0,03 -0,03 -0,03 -0,03 -0,03 -0,05	81,27 80,82 *tancia -13 0,08 0,18 -0,39 -0,36 0,59 0,68 0,28 0,28 0,60 0,01 -0,04 0,60 0,69 -0,65 -0,33 -0,57 -0,33 -0,57	0,31 Friss tör Hajtás 0,73 0,69 0,34 -0,37 -0,19 0,18 -0,26 0,41 0,21 -0,19 0,69 0,40 0,41 0,21 -0,49 0,69 0,10 0,09 0,10 0,30 0,34 -0,55 0,41 0,21 -0,55 0,41 0,09 0,19 0,34 -0,26 0,34 -0,26 0,34 -0,26 0,34 -0,55 -0,19 0,19 0,21 -0,26 0,41 0,21 -0,05 0,41 0,21 -0,05 0,41 0,55 0,	neg (7d) Gyökér 0,12 0,19 -0,03 -0,06 -0,44 -0,29 0,00 -0,38 0,05 0,03 -0,18 -0,29 0,00 -0,29 0,00 -0,29 -0,03 -0,06 -0,44 -0,29 0,00 -0,03 -0,06 -0,04 -0,29 -0,03 -0,05 -0,04 -0,29 -0,03 -0,05 -0,04 -0,04 -0,04 -0,02 -0,03 -0,05 -0,04 -0,04 -0,04 -0,04 -0,04 -0,04 -0,04 -0,04 -0,04 -0,04 -0,04 -0,05 -0,05 -0,04 -0,04 -0,04 -0,05 -0,05 -0,04 -0,04 -0,05 -0,05 -0,05 -0,05 -0,04 -0,04 -0,04 -0,05 -0,05 -0,05 -0,05 -0,05 -0,05 -0,05 -0,05 -0,05 -0,05 -0,05 -0,05 -0,05 -0,05 -0,05 -0,05 -0,05 -0,05 -0,05 -0,04 -0,04 -0,04 -0,04 -0,04 -0,04 -0,04 -0,04 -0,04 -0,04 -0,04 -0,05

(Guilford, 1950)	
kisebb, mint 0.20 (-)	Nincs kapcsolat
0.20 - 0.40(-)	Alacsony korreláció
0.40 - 0.70(-)	Közepes korreláció
0.70 - 0.90(-)	Szoros korreláció
0.90 - 1.00(-)	Nagyon szoros korreláció

4. melléklet: A korreláció analízis összefoglaló táblázata genotípusonként

Kísérlet: A szabad aminosavak mennyiségének redox szabályozása *Arabidopsis*ban (8.2. alfejezet).

			2	28 aminosa	v			
		Köz	epes	Szo	oros	Nagyoi	n szoros	_
		0.4	-0.7	0.7	-0.9	0.9	-1.0	Összes
		+	-	+	-	+	-	
Col-0	AsA	2	3	1	0	2	0	8
	DHA	7	2	4	0	0	0	13
	AsA/DHA	1	11	0	0	0	0	12
	GSH	11	2	4	0	0	1	18
	GSSG	2	2	1	0	2	0	7
	GSH/GSSG	10	3	0	2	0	0	15
	H_2O_2	10	0	10	1	0	0	21
	Összes	6	7	2	.3		5	95
								Összes
pad2-1	AsA	8	0	8	0	9	0	25
	DHA	9	0	11	0	4	0	24
	AsA/DHA	3	0	1	0	1	0	5
	GSH	5	0	8	0	13	0	26
	GSSG	5	0	12	0	8	0	25
	GSH/GSSG	0	14	1	6	0	4	24
	H_2O_2	17	0	5	0	0	0	22
	Összes	6	51	5	51	3	39	151
								Összes
vtc2-1	AsA	0	1	1	0	2	0	4
	DHA	0	1	0	0	3	0	4
	AsA/DHA	2	12	1	2	0	0	17
	GSH	4	1	2	0	0	0	7
	GSSG	4	4	2	1	0	0	11
	GSH/GSSG	9	2	1	0	0	0	12
	H_2O_2	10	0	4	1	0	0	15
	Összes	5	0	1	.6		70	

5. melléklet: A korreláció analízis összefoglaló táblázata kezelésenként

Kísérlet: A szabad aminosavak mennyiségének redox szabályozása Arabidopsisban (8.2. alfejezet)

				28 an	ninosav			
		Köz	epes	Szc	oros	Nagyo	n szoros	
		0.4	-0.7	0.7	-0.9	0.9	-1.0	Összes
		+	-	+	-	+	-	
Kontroll	AsA	3	6	1	5	1	4	20
	DHA	4	2	0	6	1	8	21
	AsA/DHA	3	7	0	3	2	5	20
	GSH	3	2	2	2	6	5	20
	GSSG	5	5	0	3	2	5	20
	GSH/GSSG	5	2	1	6	3	4	21
	H ₂ O ₂	4	4	0	5	5	3	21
	Összes	5	5	3	34		54	143

		28 aminosav								
		Köze	epes	Szc	oros	Nagyor	n szoros			
		0.4	-0.7	0.7	-0.9	0.9	-1.0	Összes		
		+	-	+	-	+	-			
GSH	AsA	3	1	1	1	2	0	8		
	DHA	1	13	0	6	2	0	22		
	AsA/DHA	1	0	5	0	19	0	25		
	GSH	1	3	1	1	0	2	6		
	GSSG	13	1	5	0	1	0	20		
	GSH/GSSG	1	14	1	3	0	1	19		
	H_2O_2	2	0	6	0	17	0	25		
	Összes	5	4	3	0	4	125			

			28 aminosav									
		Köze	epes	Szc	oros	Nagyon szoros						
		0.4	0.4-0.7		-0.9	0.9-1.0		Összes				
		+	-	+	-	+	-					
DTT	AsA	4	4	3	3	2	4	20				
	DHA	4	2	1	3	7	3	20				
	AsA/DHA	5	4	5	3	1	4	22				
	GSH	4	4	1	3	5	3	20				
	GSSG	2	1	4	0	4	5	16				
	GSH/GSSG	2	2	1	3	6	6	20				
	H ₂ O ₂	2	3	3	2	4	5	19				
	Összes	4	.3	3	5	5	59	137				

			28 aminosav								
		Köz	epes	Szc	oros	Nagyo	Nagyon szoros				
		0.4	0.4-0.7		0.7-0.9		0.9-1.0				
		+	-	+	-	+					
H_2O_2	AsA	2	3	1	1	2	8	17			
	DHA	3	2	6	0	6	2	19			
	AsA/DHA	3	3	2	1	0	9	18			
	GSH	3	2	5	0	8	2	20			
	GSSG	1	4	5	0	5	5	20			
	GSH/GSSG	3	4	3	3	7	0	20			
	H ₂ O ₂	2	4	0	5	2	7	20			
	Összes	3	9	3	2	(53	134			

		28 aminosav									
		Köz	epes	Szc	oros	Nagyoi	i				
		0.4	-0.7	0.7	-0.9	0.9	Összes				
		+	-	+	-	+	-				
AsA	AsA	7	1	2	3	3	3	16			
	DHA	1	4	3	1	7	2	16			
	AsA/DHA	4	1	1	2	3	4	11			
	GSH	3	2	1	2	2	6	10			
	GSSG	0	5	1	6	2	8	14			
	GSH/GSSG	2	2	1	5	12	0	22			
	H ₂ O ₂	3	1	3	0	13	1	20			
	Összes	3	6	2	7	6	109				