

Doktori (PhD) értekezés tézisei

**LIPOSZÓMA FORMULÁLT GYÓGYNÖVÉNYKIVONATOK BIOSTIMULÁNS
HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA JELENTŐS SZÁNTÓFÖLDI KULTÚRÁKBAN**

Kutasy-Takács Barbara Júlia
doktor jelölt

Témavezető: Dr. Virág Eszter Andrea PhD
tudományos főmunkatárs: Debreceni Egyetem, 'Egy Egészség' Intézet,
Planetáris Egészség Tanszék
tudományos igazgató: Gyógynövénykutató Intézet Kft., Budakalász



DEBRECENI EGYETEM

Kerpely Kálmán Növénytermesztési és Kertészeti Tudományok Doktori Iskola

Debrecen, 2025

1. A DOKTORI ÉRTEKEZÉS ELŐZMÉNYEI ÉS CÉLKITŰZÉSEI

A gazdasági növények termesztése során meghatározó a növényt károsítók elleni védekezés, az abiotikus és biotikus stresszre adott növényi válasz támogatása, így a termés mennyiségi és minőségi paramétereinek megőrzése. A növényi-alapú biostimulátorok alkalmazása hatékonyan hozzájárulhat az integrált növénytermesztés és növényvédelem e céljaihoz, mely a károsítók megjelenésének megelőzésére vagy azok mennyiségének gazdasági kárküszbérték alá szorítására törekszik a környezetterhelést csökkentve (Rouphael and Colla, 2020; Yakhin et al., 2017). Nanotechnológiai formulázások teljesen újszerű megközelítést nyújtanak a biostimulátor stabilitásának javításában, penetrációjában, sőt a növényi szervezetben a célhelyre történő eljutásban (Abdollahdokht et al., 2022; Manchikanti, 2019; Nuruzzaman et al., 2019). Lipid alapú nanokapszulák közé tartozik a nanoliposzóma, mely nem toxikus biológiailag lebomló foszfolipidekből áll, egy vagy többretegű vezikulákat alkotva (Campbell, 1983; Jogaiah et al., 2021). Bár széleskörűen használják humán egészségügyben, gyógyszerek, enzimek, vitaminok, bioaktív növényi kivonatok kapszulázásához (Chawda et al., 2017; Emami et al., 2016) agrár célú felhasználása még kevésbé kutatott. Kísérleteinkben a Gyógynövénykutató Intézet Kft. (Budakalász) által fejlesztett Elice16[®] termékcsalád készítményeit, az EliceVakcina és Garlic-lipo növénykondicionálókat vizsgáltuk. Ezek a készítmények növényi eredetű lipidekből álló nanoméretű liposzómába kapszulázott szuperkritikus szén-dioxid (SC-CO₂) kivonással készült gyógynövénykivonatok. Szakirodalmi adatok szerint az exogén abszcizinsav (ABA) kezelések serkentik a növények biotikus vagy abiotikus stresszre adott válaszait és javítják a termés paramétereit (Aroca et al., 2008; Chan, 2012; Travaglia et al., 2010). Valamint fontos megemlíteni, hogy az ABA és a chaperon jelátviteli útvonalak a növényi stressz elleni védekezés központi szabályozói (Bulgakov et al., 2019). A vizsgálatok középpontjába az *in silico* elemzések kerültek, genomszintű transzkriptomikai profilozást végeztünk. Az elemzések segítségével feltártuk a kezelések következtében a növényekben megváltozott védekezési folyamatokat, mely hiánypótló, mivel transzkriptomikai elemzésről kevés publikáció olvasható (González-Morales et al., 2021). Olyan transzkriptomikai elemzésekből álló munkafolyamatot használtunk, melynek segítségével követhető a bioszintetikus útvonalakban bekövetkezett szignifikáns változás, a változások dinamikája, továbbá a gén szintű expresszió változás.

PhD munkám során a következő tudományos vizsgálatokat tűztem ki célul:

1. Olyan nanoméretű liposzóma formulált gyógynövénykivonatokból álló biostimulátorok fejlesztése (Garlic-lipo és EliceVakcina), amelyek magas ABA tartalommal rendelkeznek.
2. Az előállított biostimulátorok antifungális hatásának vizsgálatát.
3. A Garlic-lipo kezelés hatásának kimutatása genomszintű transzkriptomikai profilozással.
4. Az EliceVakcina kezelés hatásának kimutatása genomszintű transzkriptomikai profilozással.
5. Az előállított biostimulátorok növényi hormon jelátvitel és védelmi válaszhoz köthető útvonalakra gyakorolt hatásának összehasonlító vizsgálata.

2. ANYAG ÉS MÓDSZER

2.1. A vizsgált növényi-alapú biostimulátorok

Az EliceVakcina a Nébih által engedélyezett nanoliposzóma formulált növénykondicionáló készítmény, mely SC-CO₂ extrakcióval kivont 11 gyógynövénykivonatot tartalmaz, fő összetevője a fokhagyma (*Allium sativum* L.) gerezd kivonat. A másik készítmény, laboratórium elnevezés szerint Garlic-lipo, fejlesztés alatt áll, mely egykomponensű SC-CO₂ fokhagymakivonat. Formulázása megegyezik a EliceVakcina liposzóma formulázásával. Kísérleteinkben használtuk a formulázás nélküli SC-CO₂ fokhagymakivonatot Garlic-oil néven, jelezve az anyag jellemzőjét. A kísérletbe pozitív kontrollként bevont Fitokondi is a Nébih által engedélyezett növénykondicionáló készítmény, mely gyógynövények vizes kivonatát tartalmazza, azonban formulázása nem liposzóma alapú (1. táblázat).

1. táblázat. A kísérletekben használt termékek jellemzői

Készítmény neve	Formulálás	Fokhagyma-kivonat (%)	ABA tartalom (µg/g)
EliceVakcina	liposzóma, SC-CO ₂ kivonat	~65	6,3± 1,2
Garlic-lipo	liposzóma, SC-CO ₂ kivonat	~90	81,4± 2,2
Fitokondi	vizes kivonat	~1	-
Garlic-oil	SC-CO ₂ kivonat	100	80,0± 2,4

Az abszcizinsav (ABA) koncentrációkat nagy teljesítményű folyadékkromatográfiával határoztuk meg (HPLC-DAD). Az SC-CO₂ rövidítés a szuperkritikus szén-dioxid-kivonásra utal.

A hatóanyagokat 100-200 nm multilamelláris vezikulákba zártuk aktív csapdázási technikát alkalmazva (Mayer et al., 1986). Az elektrosztatikus stabilizációt (Zéta potenciál), a diszperziós tulajdonságokat (polidiszperzitási indexet-PDI) és a nanorészecske méreteloszlást dinamikus fényszórással mértük Zetasizer Ultra műszerrel. A liposzómák méretét transzmissziós elektronmikroszkóppal (TEM) is meghatároztuk. A kivonatok ABA és tiamin tartalmát nagy teljesítményű folyadékkromatográfiával (high-performance liquid chromatography with diode-array detection HPLC-DAD) méréssel detektáltuk.

2.2. Növényi-alapú biostimulátorok *in vitro* antifungális hatása

A kivonatok biostimuláns hatását laboratóriumi körülmények között *Fusarium* fajokon teszteltük (*F. verticilloides* (FGSC 7600), *F. graminearum* (FGSC 9075), *F. oxysporum* (FGSC 9935) - Fungal Genetics Stock Center (FGSC), Kansas State University, Manhattan, USA) és *F. proliferatum* (NRRL 62905 - Joint Genome Institute (JGI), University of California, Berkeley, USA). A toxicitási tesztet, a minimális gátló koncentráció (Minimal Inhibitory Concentration - MIC) meghatározását a Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) mikrodilúció módszere szerint végeztük 10 V/V%-tól félhígítást alkalmazva.

Továbbá papírkorongos gátlási zóna meghatározást is alkalmaztunk (Perczak et al., 2019; Pfaller et al., 2000). A kísérletben a különböző *Fusarium* fajok sajátosságainak megfelelően 7–14 napos spórasuszpenziókat alkalmaztunk. A spórák koncentrációját 5×10^6 db/ml-re állítottuk be, majd 100 µl-t Potato Dextrose Agar (PDA - Merck KGaA, Darmstadt, Germany) táptalaj felszínére oltottunk. Ezt követően a táptalaj közepére helyezett steril szűrőpapírkorongra 10 µl növényi kivonatot adagoltunk. Az inkubációt 25°C-on, három napon keresztül végeztük.

A készítmények hatását *Fusarium* spórasuszpenzióval fertőzött borsó magvak csírázóképeségére teszteltük. A magokat 24 órán át áztattuk 0,5-1% EliceVakcina és Garlic-lipo kivonatban. A fertőzési teszthez 10^4 spóra/ml koncentrációjú *F. oxysporum* spórasuszpenzió használtunk 30 percig. A kezelt magokat nedves szűrőpapírra tettük és szobahőmérsékleten négy napig inkubáltuk.

2.3. Növényi-alapú biostimulátorok kezelése

A Garlic-lipo (240 g/ha) kezelések hatását üvegházi körülmények között *Triticum aestivum* 'Cellule' fajta növények levelére permetezve vizsgáltuk korai vegetatív fázisban. A molekuláris biológiai vizsgálatokhoz leveleket gyűjtöttünk a kezelés előtt (kontroll – 0min) és a kezelés után 15 perccel (15min), 24 órával (24h) és 48 órával (48h) három biológiai ismételten.

A kisparcellás kísérleteket *Pisum sativum* subsp. *sativum* convar. *medullare* var. *pervicax* 'Angela' fajta, *Brassica napus* 'GK Mécses' fajta és *Glycine max* 'ES Director' fajta bevonásával végeztük. A vegetáció alatt az EliceVakcina biostimulátor háromszori kijuttatására

került sor 20 és 240 g/ha dózissal különböző fejlődési stádiumokban (juvenilis/érett vegetatív fázis és reprodukzív fázis). A kisparcellás kezelések után két nappal mintát vettünk a levelekből a molekuláris biológiai vizsgálatokhoz. Így a *P. sativum* és a *B. napus* esetében a reprodukzív fázisban egyszer történt mintavételezés a transzkriptom elemzéshez. A *G. max* esetében pedig háromszor vettünk mintát a kezelések után két-két nappal, azonban a generatív fázisban vett mintákból nem készültek könyvtárak.

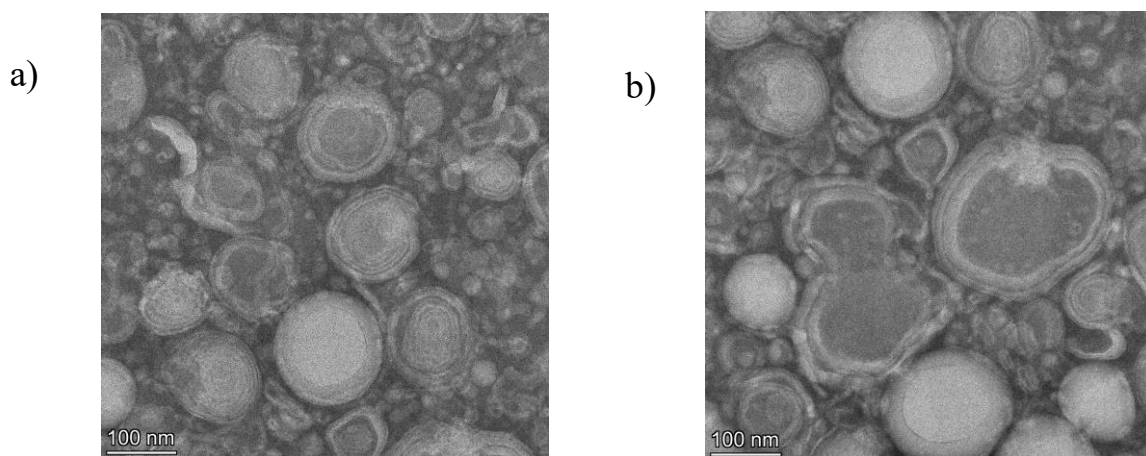
2.4. Növényi-alapú biostimulátorok hatásának vizsgálata bioinformatikai elemzésekkel

A bioinformatikai elemzéseket a kezelt és kezeletlen levélminták újgenerációs szekvenálásával (Next-generation sequencing - NGS) végeztük Illumina NextSeq550 platformon. Az NGS könyvtárak *de novo*, referencia nélküli összerakását választottuk, hogy teljeskörű adatokat kapjunk a génexpresszó változásokról. A páronkénti differenciális expresszió (Differentially expressed genes - DEG) numerikus elemzése a különböző kezelések után gyűjtött két minta génkészletének összehasonlítását tette lehetővé. Majd a legnagyobb szignifikáns különbséggel expresszálódó 50 gén kontigját (Top50 DEG) annotáltuk. A funkcionális annotáció és a génontológiai (Gene Ontology - GO) elemzés az útvonalelemzés (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes Pathway analysis - KEGG) alapjául szolgált. Az időbeli expresszió analízis (Time-course expression analysis) feltárta a bioszintetikus és jelátviteli útvonalakban bekövetkezett változások dinamikáját. Az elemzések során előtérbe került útvonalakat tovább vizsgáltuk, a növényi hormon szignáltranszdukcióban részt vevő gének expresszió szintjének meghatározását egyedi gén expresszió számítással (Reads Per Million mapped read - RPM) végeztük el. A kiemelkedő expresszió szinttel rendelkező gének értékeit valós idejű polimeráz láncreakció (Reverse transcription-quantitative polymerase chain reaction RT-qPCR) analízissel validáltuk.

3. EREDMÉNYEK

3. 1. Magas ABA tartalmú liposzóma formulált gyógynövénykivonatokból álló biostimulátorok fejlesztése

A növény-alapú biostimulátorok liposzóma adatai stabilitást mutattak a szakirodalmi adatok alapján (Hanachi et al., 2022). Az EliceVaccina és a Garlic-lipo készítmények részecskemérete 233 és 149,2 nm, a polidiszperzitási index 0,1733 és 0,13035, a Zéta potenciál pedig -40,66 és -40,53 mV közötti értéket mutatott. Továbbá az előállított liposzómák méretét és szerkezetét jellemeztük transzmissziós elektronmikroszkóppal (TEM) is (1. ábra).



1. ábra. TEM felvételek az (a) EliceVaccina, (b) Garlic-lipo liposzómák szerkezetéről. A multilamelláris liposzómák ~100-200 nm nagyságúak

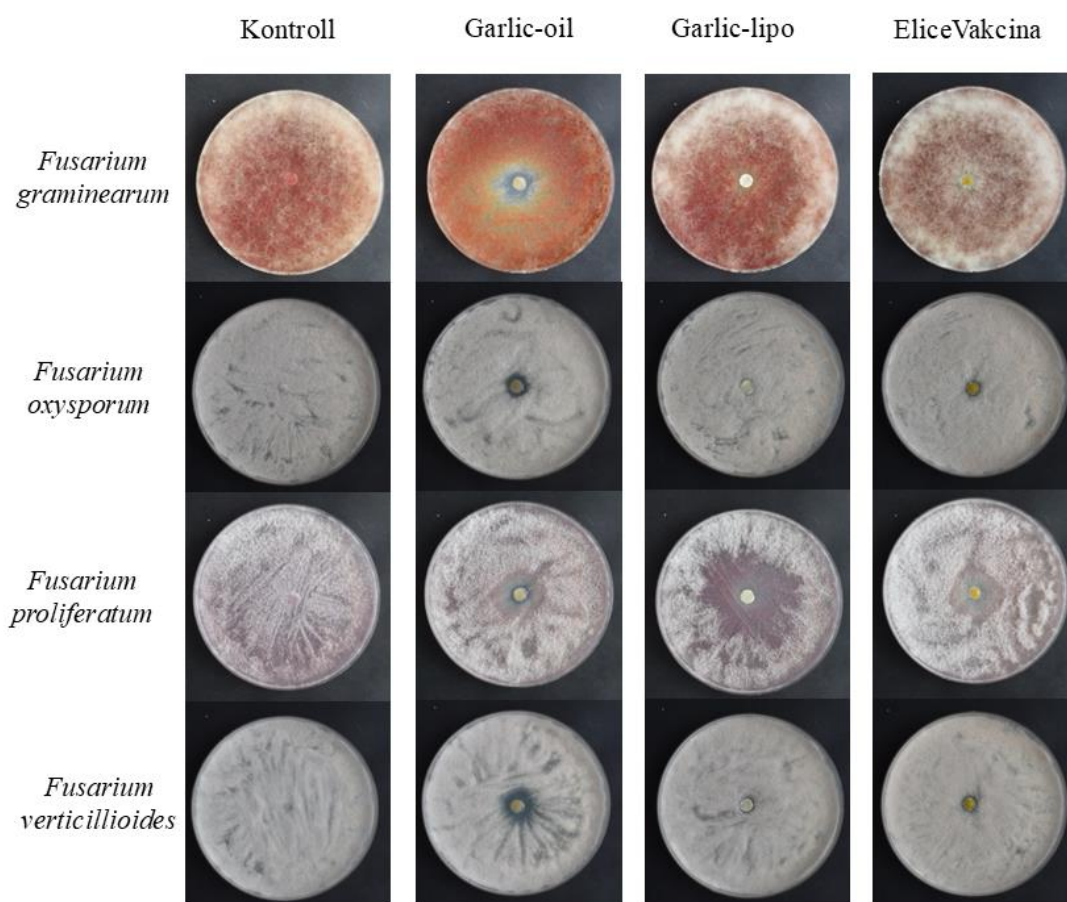
A fokhagymakivonatban más fitohormonokhoz képest az ABA tartalom magas (Atif et al., 2021). HPLC-DAD mérésünk szerint a Garlic-lipo ABA szintje $81,4 \pm 2,2 \mu\text{g/g}$, a fokhagymakivonatot részben tartalmazó EliceVaccina esetében $6,3 \pm 1,2 \mu\text{g/g}$, a liposzóma formulálás nélküli Garlic-oil $80,0 \pm 2,4 \mu\text{g/g}$ volt. A Fitokondi nem tartalmaz ABA hormont. Továbbá a négy növényi-alapú biostimulátor nem tartalmazott tiamint HPLC-DAD mérésünk szerint.

3. 2. A vizsgált biostimulátorok antifungális hatása

A fokhagymakivonat biostimulátorként való használatát *Fusarium* fajok ellen már publikálták (Hayat et al., 2016; Pinilla et al., 2019). Mikrodilúció toxicitási teszt alapján a fokhagymakivonatokat tartalmazó készítmények gátolják a *Fusarium graminearum*, *F. oxysporum*, *F. proliferatum* és *F. verticilloides* fajok növekedését, a négy faj hasonló reakciót mutatott a kivonatokra. Az abszorbancia mérés szerint szignifikáns különbséget mutatott a 0,625 V/V% dózis használata, a leghatékonyabb a Garlic-lipo (-0,1612) volt, majd az EliceVakcina (0,11755) követte, végül pedig a Garlic-oil (0,62745) szerepelt. Magasabb térfogat százalék használatakor, 2,5-10 V/V% méréseknél a formulált és a formulázás nélküli fokhagymakivonat gátló hatása között nem volt szignifikáns különbség a *Fusarium* fajok növekedésére.

A négy *Fusarium* faj eltérő érzékenységet mutatott a vizsgált gyógynövénykivonatokkal szemben a papírkorongos gátlási zóna meghatározásakor (2. ábra). A legérzékenyebb mindhárom kivonatra a *F. proliferatum* volt, amely különösen erősen reagált a Garlic-lipo kezelésre. Ennek hatására kiterjedt gátlási zóna alakult ki, ahol micélium növekedés nem volt megfigyelhető. A *F. graminearum* esetében a legnagyobb mértékű gátlást a Garlic-oil okozta, mivel a konídiumtartók kizárólag a táptalaj szélén voltak megfigyelhetők. Emellett a Garlic-lipo is jelentősen csökkentette a micélium növekedését. Az *F. verticillioides* micéliumképződését mindhárom kivonat gátolta, azonban a legnagyobb mértékű érzékenységet a Garlic-oil kezelés váltotta ki. Hasonló jelenség figyelhető meg az *F. oxysporum* esetében is, bár enyhébb mértékben. Az EliceVakcina és a Garlic-lipo kivonatok gátolták a micélium növekedését, azonban a Garlic-lipo kezelés során a papírkorong környezetében nem alakult ki gátlási zóna.

Borsó magok csírázókéességét vizsgáltuk az EliceVakcina és Garlic-lipo 0,5-1 % oldatával kezelve. Mindkét biostimulátor csökkentette a csírázókéességet a fertőzés nélküli magokon. A *F. oxysporum* spóraszuszpenzióval megfertőzött magok csírázókéességét viszont elősegítette az 1%-os Garlic-lipo kezelés.

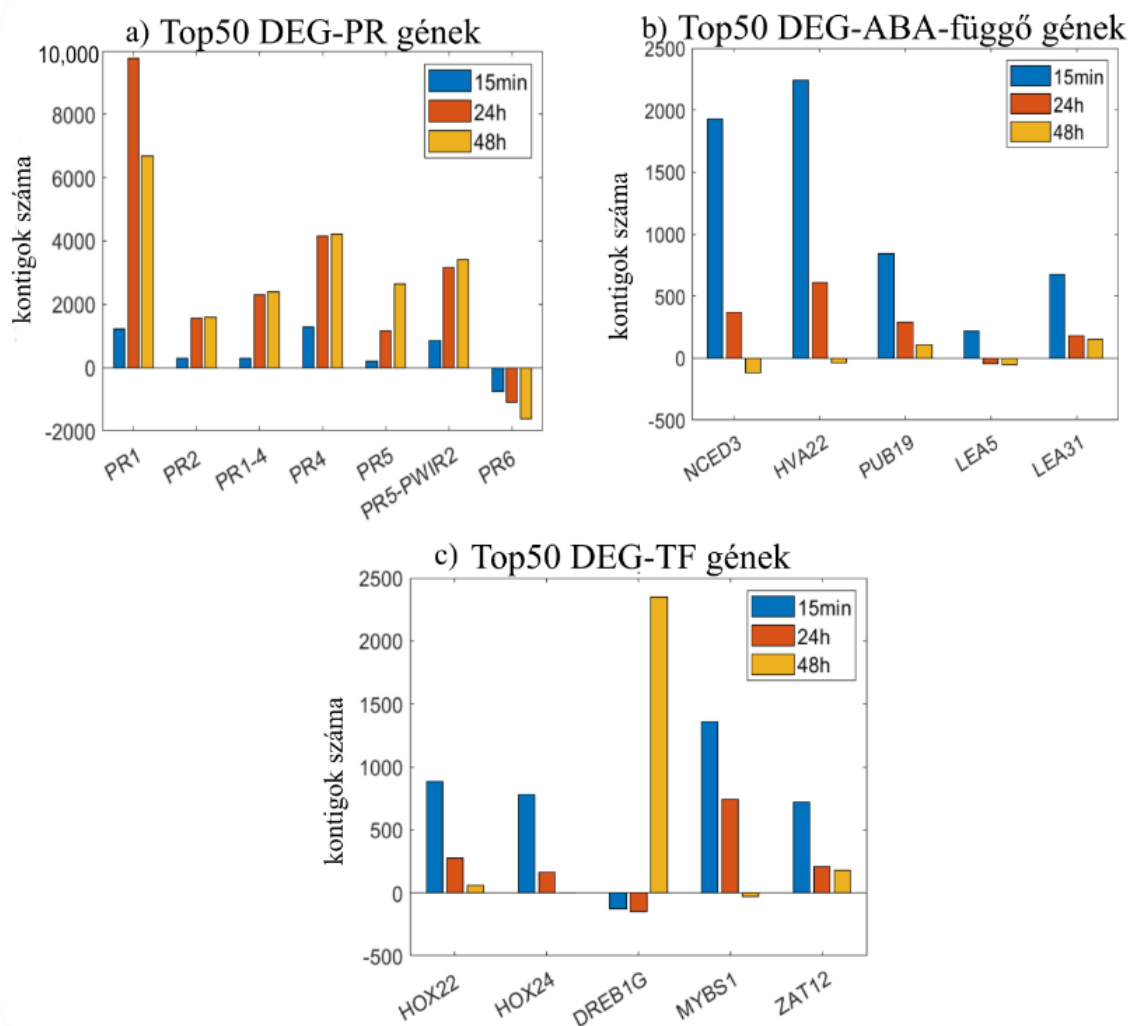


2. ábra. *Fusarium* fajok antifungális hatását mutató papírkorongos gátlási zóna meghatározása

3. 3. A Garlic-lipo biostimulátor genomszintű transzkriptomikai profilozása fókuszálva a növényekben lejátszódó élettani változásokra üvegházi kísérletekben

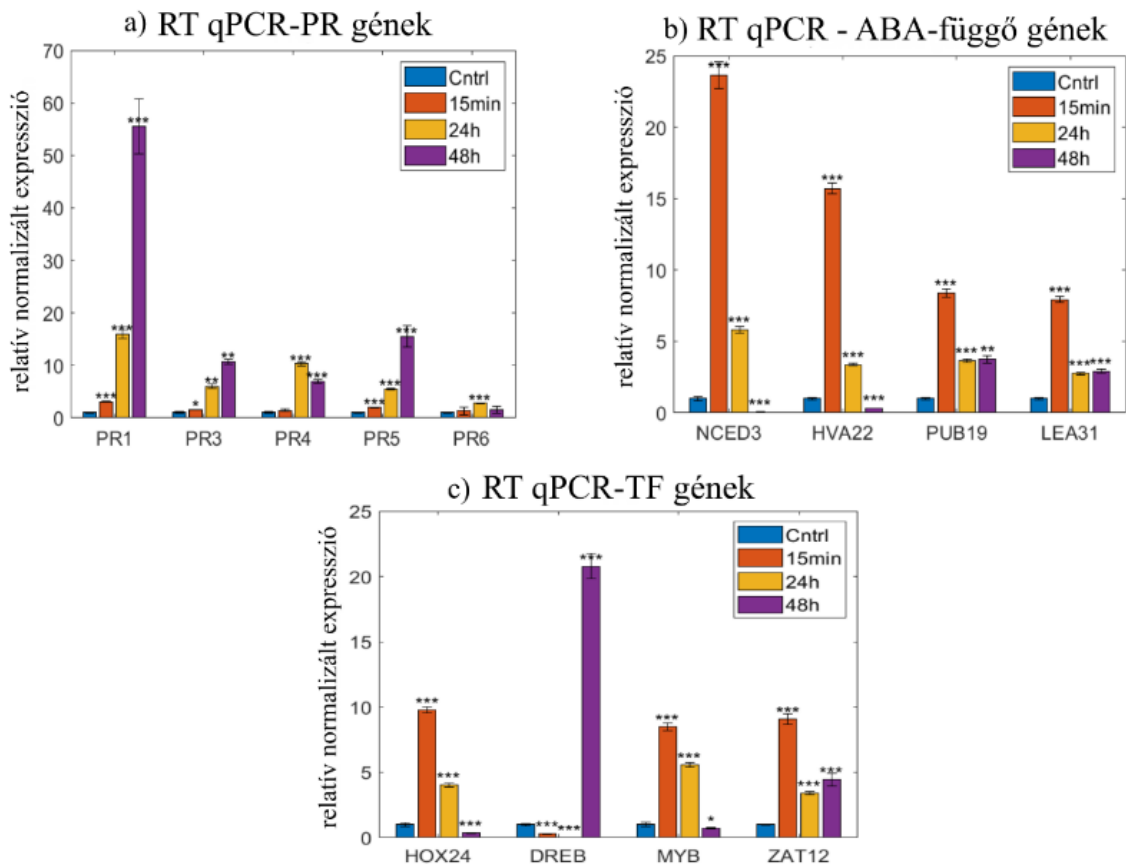
Az üvegházi kísérletek során *T. aestivum* növények Garlic-lipoval történő kezelése után két napon keresztül vettünk mintákat a változások dinamikájának meghatározására (15min, 24h, 48h). A Top50 DEG elemzés kimutatta az ABA bioszintézis és jelátvitel útvonalhoz kapcsolódó gének expresszió szint változását a 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase 3 (NCED3), az ABA által indukált fehérje (early ABA-inducible protein 22- HVA22), az U-box domént tartalmazó protein 19 (U-box domain-containing protein 19 - PUB19), a late embryogenesis abundant protein 31 (LEA31) esetében. A patogenezishez köthető (PR1-5) fehérjék és kapcsolódó transzkripció faktorok (TF) (homeobox-leucine zipper protein 22/24 - HOX22/24, zinc finger protein12 - ZAT12, R1/2-type myeloblastosis S1 - MYBS1, dehydration-responsive element-

binding protein 1G - DREB1G) expresszió szintjének változását detektáltuk (3. ábra). A kezelés következtében jelentősen növekedik a PR gének (kontigok száma 9764-1603) és stressz indukált gének expressziója (kontigok száma 2345-214).



3. ábra. A legjobb 50 differenciálisan expresszált gén (Top50 DEG) *in silico* meghatározása a három mintavételi alkalommal. A DEG-ek numerikus elemzését két idő páronkénti összehasonlításában az RSEM és edgeR programokon alapuló OmixBox.BioBam segítségével vizsgáltuk. Ezeket a kvantitatív statisztikai módszereket az egyes gének szignifikanciájának értékelésére a) PR gének; b) ABA útvonalhoz kapcsolódó gének; és c) TF gének expresszió szint változásának vizsgálata

A DEG analízis segítségével meghatározott gének expresszó szintjét RT-qPCR módszerrel validáltuk. A PR1-5 megnövekedett expresszió szintet mutatott a kezelés után 24 és 48 órával. Az ABA útvonalhoz kapcsolódó gének és a TF-ek expresszió szintjében is hasonló változásokat detektáltunk a validáció során, ahogyan azt az *in silico* elemzés jósolta. Ezek a gének a 15min és 24h mintákban mutattak maximális expresszió szintet. Csak a DREB1G TF expresszáldott magasan a 48h mintában a DEG analízisben és ezt RT-qPCR módszerrel megerősítettük (4. ábra).



4. ábra. Az RT-qPCR reakciók eredményei három mintavételi időpontban a kontrollhoz képest. a) PR gének expresszió szintjének változásai; b) ABA útvonalhoz kapcsolódó gének; és c) TF gének. Az értékek átlag $\pm$ SEM ($n = 4$) formában vannak megadva. $p < 0,05$ vs. kontroll, $p < 0,05$ vs. kezelt csoport. Egy csillag statisztikailag szignifikáns különbséget jelöl a kezelt mintakészlet átlaga és az 5%-ra beállított kontroll minta átlaga között; két csillag statisztikailag szignifikáns különbséget jelez 1%-hoz képest; három csillag statisztikailag szignifikáns különbséget jelez 0,1%-ig

A *T. aestivum* növények Garlic-lípival történt kezelésének eredményei szerint a tiamin metabolizmus, a glutation metabolizmus, a fenilpropanoid bioszintézis folyamataiban részt vevő gének aktivitása volt a legmeghatározóbb. A jelátviteli útvonalak közül a mitogén-aktivált proteinkináz (MAPK) kaszkád, a növényi hormon szignáltranszdukció és a növény-patogén interakció génjei mutattak megemelkedett expresszió szintet. A növényi hormon szignáltranszdukció folyamatait tovább vizsgáltuk RPM elemzéssel is. Eredményeink szerint az ABA, valamint a jazmonsav (JA) jelátvitel és bioszintézis folyamatokhoz tartozó gének aktivitása nőtt a vizsgált időszakban.

Annak érdekében, hogy az alkalmazott biostimulátor kezelést követően a búzában zajló élettani folyamatokról bővebb információt kapjunk, a mintákat időbeli változás elemzéssel vizsgáltuk. Az időbeli expresszió változás mérése megfelelő eszköz az RNA-seq technológiából származó adatok kiértékeléséhez, mely olyan géneket reprezentál, amelyek expressziója a kísérleti csoportok között jelentős eltérést mutat a vizsgált időszakban.

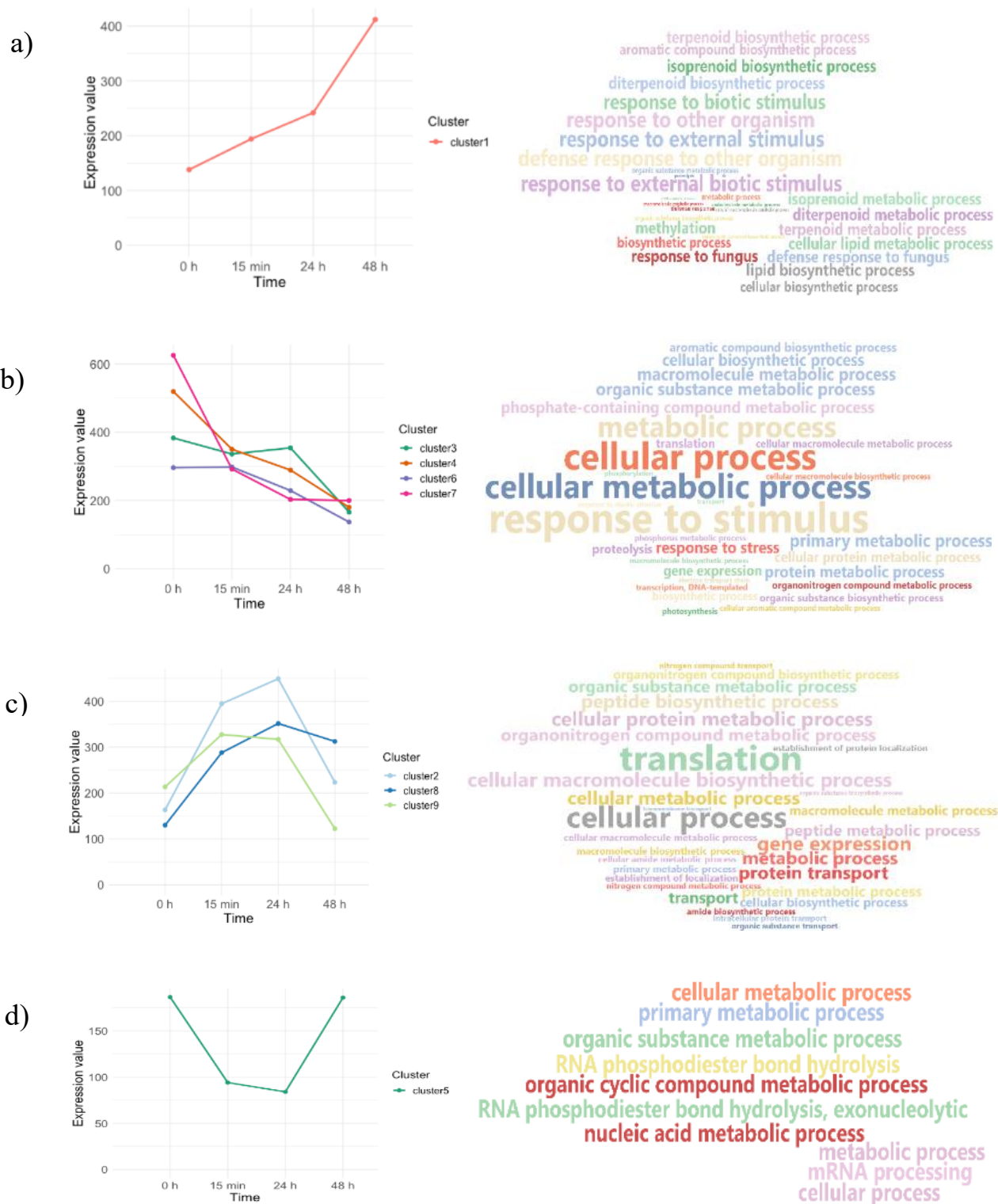
A Transcriptome Shotgun Assembly (TSA) és a CountTable adatok felhasználásával 5287 kontigot teszteltünk és szűrtünk, amit kilenc klaszterbe soroltunk. A kilenc klasztert négy csoportba osztottuk: a) az expresszió szint fokozatosan emelkedett, b) az expresszió szint fokozatosan csökkent, c) az expresszió szint kezdetben emelkedett, majd csökkent, d) az expresszió szint kezdetben csökkent, majd visszatért az eredeti szintre. A szófelhők a GO elemzés alapján készültek, a biológiai folyamatok képviselik az egyes csoportok annotált génjeit összegezve, a betűméret a szekvenciaszámtól függ (5. ábra).

A fokozatosan növekvő expresszió szinttel rendelkező gének csoportja (1. klaszter) főként védekezési válaszreakciókhoz kapcsolódnak, melyek a glutation metabolizmus, a fenilpropanoid, flavonoid és terpenoid bioszintézis, a növény-patogén interakció, a MAPK jelátviteli útvonal és a citokróm P450 általi metabolizmus útvonalak.

A fokozatosan csökkenő expresszió szinttel rendelkező gének csoportjai (3. 4. 6. és 7. klaszter) a sejt szintű bioszintetikus és metabolikus folyamatokhoz kapcsolódnak és alul szabályozottságot mutattak.

A kezdetben emelkedett, majd csökkent expresszió szinttel rendelkező gének csoportjai (2. 8. és 9. klaszter) részt vesznek a különböző transzport- és transzlációs folyamatokban.

A kezdetben csökkent, majd eredeti szintjükre visszatérő expresszió szinttel rendelkező gének csoportja (5. klaszter) transzkripció és anyagcsere-folyamatokhoz kapcsolódik.

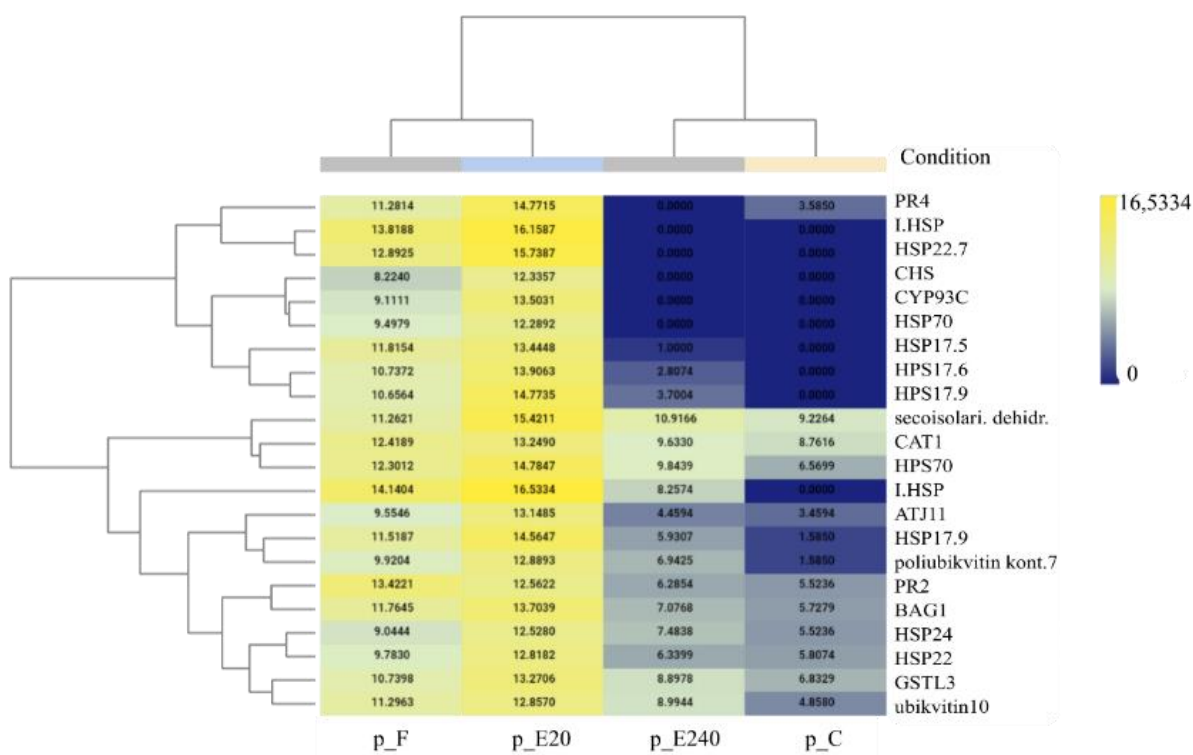


5. ábra. Időbeli-változás elemzés: az egyes géncsoportok medián szintű expresszióját (szignifikancia szint 0,05; R-négyzet határértéke 0,7) mutatja az idő függvényében. A szófelhők a GO - biológiai folyamatokat mutatják, a betűméret a szekvenciaszámtól függ. A szignifikánsan eltérő expresszió szinttel rendelkező géneket a változás dinamikája szerint 9 klaszterbe soroltuk: a) az expresszió szint fokozatosan emelkedett, b) fokozatosan csökkent, c) kezdetben emelkedett, majd csökkent, d) kezdetben csökkent, majd visszatért az eredeti szintre

3. 4. Az EliceVakcina biostimulátor genomszintű transzkriptomikai profilozása fókuszálva a növényekben lejátszódó élettani változásokra kisparcellás kísérletekben

Az üvegházi kísérletben igazoltuk, hogy a növényi védekező válaszban szerepet játszó folyamatok vizsgálatára alkalmas a kezelés után két nappal történő mintavételezés, ezért az EliceVakcinával kezelt *P. sativum*, *B. napus* és *G. max* kisparcellás kísérletekben csak ebben az időpontban vettünk mintát.

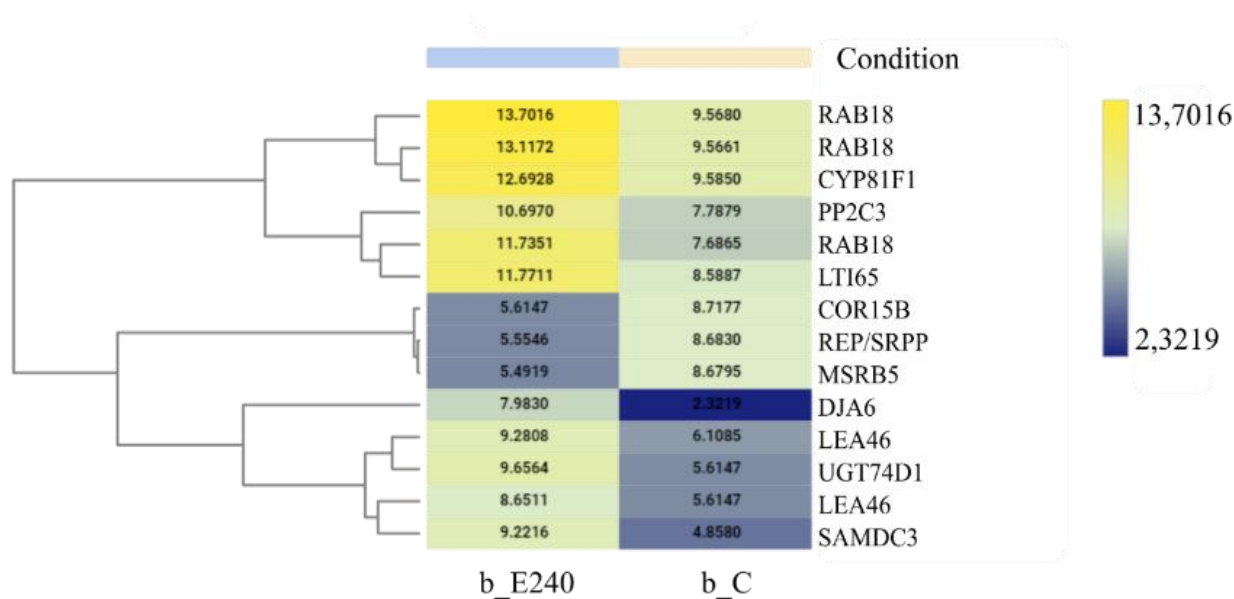
P. sativum minták Top50 DEG elemzése stressz védelmi válaszban részt vevő gének aktivitását mutatta mind alacsony (20 g/ha) (6. ábra), mind magas dózis (240 g/ha) használatakor. A búza mintákban megfigyeltékhez hasonlóan felül expresszáltak PR2/4, a glutation metabolismus génjei, a flavonoid bioszintézissel összefüggésbe hozható gének (kalkon szintáz - CHS, izoflavon szintáz - CYP93C, izoflavon 3'-hidroxiláz - CYP81E9, kaffeoil-CoA metiltranszferáz CCOAOMT), valamint a sejtek védelmét szolgáló kataláz (CAT) és számos hősokk protein (HSP).



6. ábra. *P. sativum* Top50 DEG hőterkép részlet (p_C vs. p_E20), ahol a kezeletlen a referencia (C kontroll) és az EliceVakcina 20 g/ha (E20) a kezelt minta került összehasonlításra. Az elemzés során találatot adott gének expresszió szintjét az EliceVakcina 240 g/ha (E240) és Fitokondi 4 l/ha (F) kezelt mintákban is mutatja

P. sativum minták KEGG útvonal elemzése szerint az EliceVakcina kezelés után magas szintű különbséget mutatott a glutation metabolizmus, a fenilpropanoid bioszintézis, a B1 vitamin metabolizmus és a karotenoid bioszintézis. A jelátviteli útvonalak közül a MAPK jelátvitel, a növényi hormon szignáltranszdukció, valamint a növény-patogén interakció génjei mutattak magas expresszió szintet. Borsó mintákban a növényi hormon szignáltranszdukció RPM elemzése során az EliceVakcina kezelés után az ABA-függő gének, a JA útvonal génjei, valamint a szalicilsav (SA) útvonalban szerepet játszó gének mutattak nagyfokú aktivitást.

B. napus mintákban a kezelés következtében megváltozott aktivitású ABA kapcsolatos enzimeket detektáltunk a Top50 DEG elemzés során, mint pl. LEA46, a protein phosphatases 2C3 (PP2C3), a dehydrin Rab18 (RAB18) és a low-temperature-induced 65 kDa protein (LTI65). Továbbá megfigyeltünk egy másik stresszel kapcsolatos növényi hormon, a JA kapcsolatos fehérjék (UDP-glycosyltransferase 74D1 - UGT74D1, indol-3-yl-methylglucosinolate hydroxylase - CYP81F1) felül expresszálságát. Továbbá a poliamin szintézisben szerepet játszó S-adenosylmethionine decarboxylase proenzyme 3 (SAMDC3) és az ubikvitinációban részt vevő enzimek génjeinek mutattak nagyfokú aktivitást (7. ábra).

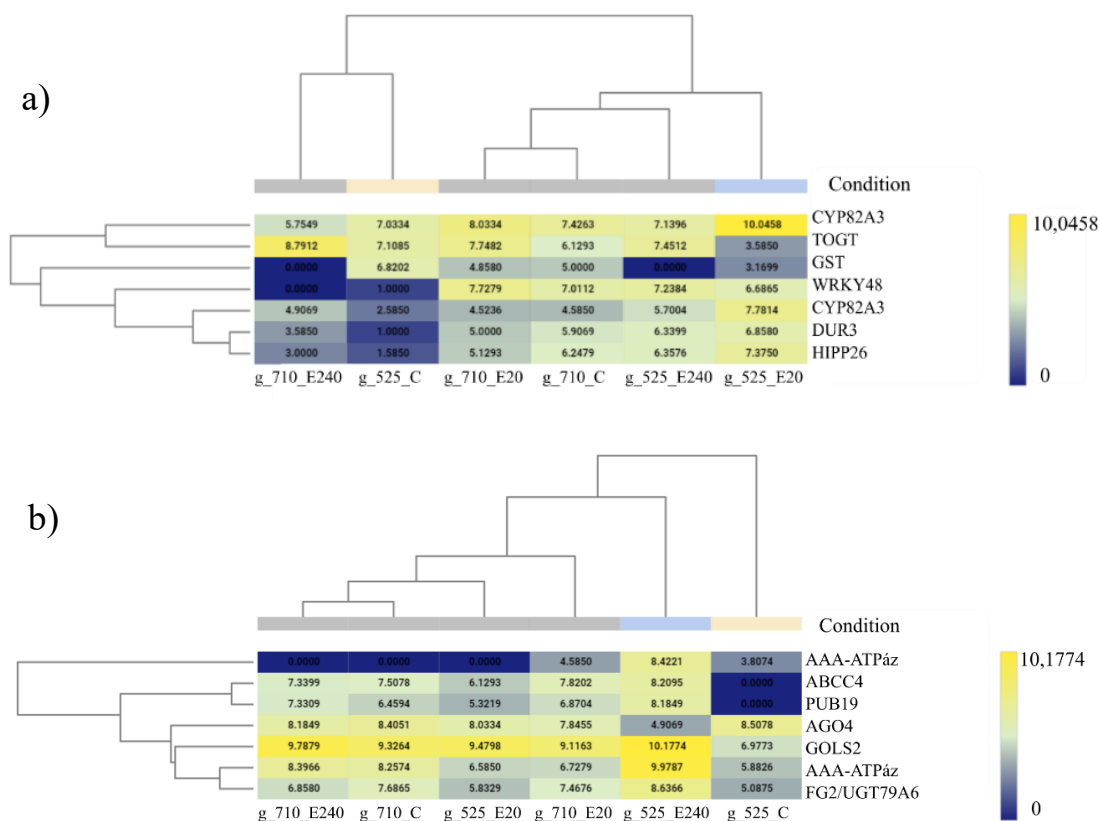


7. ábra. *B. napus* Top50 DEG hő térkép részlet a magas dózisú kezelés összehasonlítása a kezeletlen mintával: b_C vs. b_E240

B. napus növényekben történt változásokat az EliceVakcina kezelése után útvonalelemzéssel is vizsgáltuk. A növényi stressz védekezési válaszokban részt vevő folyamatok közül a glutation metabolizmus, növény-patogén interakció, a növényi hormon szignáltranszdukció, a MAPK

jelátvitel, a B1 vitamin metabolizmusa és a fenilpropanoid bioszintézis mutatott szignifikáns különbséget. A növényi hormon szignáltranszdukció RPM elemzése szerint az ABA, JA jelátvitel és bioszintézis útvonalhoz köthető gének magas expresszió változást mutattak, a SA-függő gének aktivitása részben volt megfigyelhető.

G. max növényeket kezeltük EliceVakcina 20 és 240 g/ha dózissal. A Top50 DEG elemzés során különböző stresszválasz gének mutattak aktivitás (8. ábra): a redox reakció katalízisében részt vevő cytochrome P450 82A3 (CYP82A3), a heavy metal-associated isoprenylated plant protein 26 (HIP26), valamint a nitrogén hiány stresszre reagáló urea-proton symporter (DUR3) és a baktérium támadásra reagáló zinc-finger protein WRKY48 TF. Továbbá a SA növényi hormonhoz köthető AAA-ATPase, az auxinhoz (AUX) köthető WALLS ARE THIN1 (WAT1) gén. Az ABA-függő galaktinol-szintáz 2 (GOLS2) és a PUB19, valamint transzport folyamatokhoz tartozó stresszválasz gének (ABC transporter C family member 4 - ABCC4, UDP-glycosyltransferase 79A6 - FG2) is megnövekedett aktivitást mutattak.

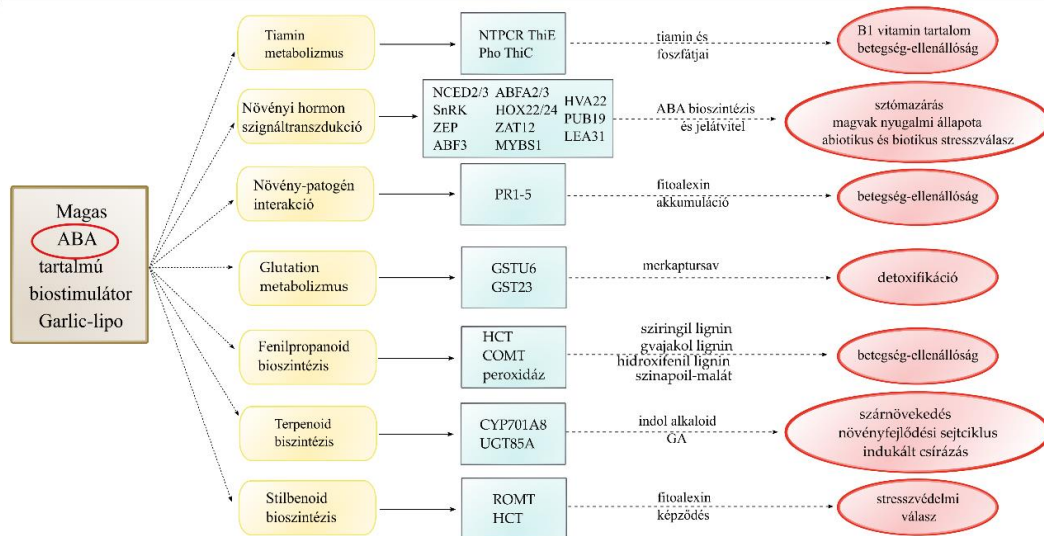


8. ábra. *G. max* Top50 DEG hőtérkép részlet a) alacsony és b) magas dózisú kezelés összehasonlítása a kezeltetlen mintával: g_525_C vs. g_525_E20. A többi minta adatai is feltüntetésre kerültek (g_525_E240, g_710_E20, g_710_E240, g_710_C)

G. max növények EliceVaksinával történt kezelésének kontrollhoz viszonyított eredményei szerint a glutation metabolizmus, a fenilpropanoid bioszintézis folyamataiban részt vevő gének mutattak megemelkedett expresszió szintet. Az előző mintákhoz hasonlóan a szójában is megmutatkozott a B1 vitamin metabolizmusához tartozó gének aktiválódása. A jelátviteli útvonalak közül a MAPK jelátvitel és a növényi hormon szignáltranszdukció, továbbá a növény-patogén interakció aktivitása markánsan nőtt a kezelések után gyűjtött mintákban. A növényi hormon szignáltranszdukció RPM elemzés adatai kevés találatot adtak az ABA útvonal génjeire. Azonban a JA és SA útvonalhoz kapcsolódó géneket illetően a mért adatok számos esetben felfelé szabályozottságot mutattak.

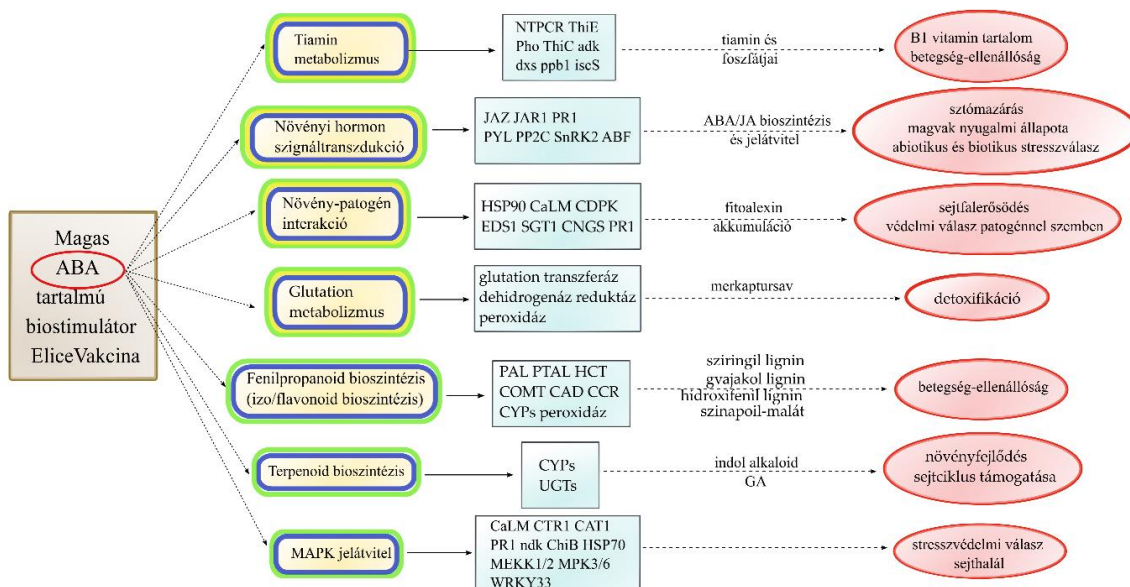
3. 5. Az előállított biostimulátorok növényi hormon jelátvitel és védelmi válaszhoz köthető útvonalakra gyakorolt hatásának összehasonlító vizsgálata

Az összes *in silico* elemzést áttekintve elmondható, hogy a Garlic-lipo kezelés olyan növényfejlődés és stressz védelmi mechanizmust befolyásoló géneket aktiválhat, melyek az ABA jelátvitel és bioszintézis útvonal erős szabályozására utal. Az ABA növényi hormon szintézisének kulcsszerepe van a növény fejlődésében és az adaptív stresszreakciókban (Cutler et al., 2010). Bár az ABA hormont általában növényi növekedésgátlónak tekintik, számos kísérlet bizonyította, hogy dózistól függően képes fokozni a növekedést mind a gyökerekben, mind a hajtásokban (Humplík et al., 2017; Zhang and Davies, 1990). Valamint az ABA potenciális szabályozó szerepét detektálták a tiamin bioszintézisében só- és ozmotikus stressz körülmények között (Rapala-Kozik et al., 2012). Továbbá központi molekula más jelátviteli folyamatokban a növényt ért stressz esetén (Bulgakov et al., 2019). A Garlic-lipo készítménnyel kezelt mintákban kimutattuk a PR gének aktivitását. Mind a szisztémás szerzett rezisztenciát (PR1, PR2 és PR5), mind pedig a lokális szerzett rezisztenciát (PR3, PR4) magában foglaló PR gének mutattak felül expresszálságot. Ezen túlmenően a kezelt minták KEGG útvonal analízise számos olyan felül szabályozott gént detektált, melyek a tiamin metabolizmus, a növényi hormon szignáltranszdukció, a növény-patogén interakció, a fenilpropanoid, terpenoid és sztilbenoid bioszintézis, valamint a glutation metabolizmus folyamataiban vesz részt. Ezen útvonalak eredménye a stressz védelmi válasz, a betegség-ellenállóság, az abiotikus és biotikus stresszválasz, a detoxifikáció, továbbá a növényfejlődés elősegítése (9. ábra).



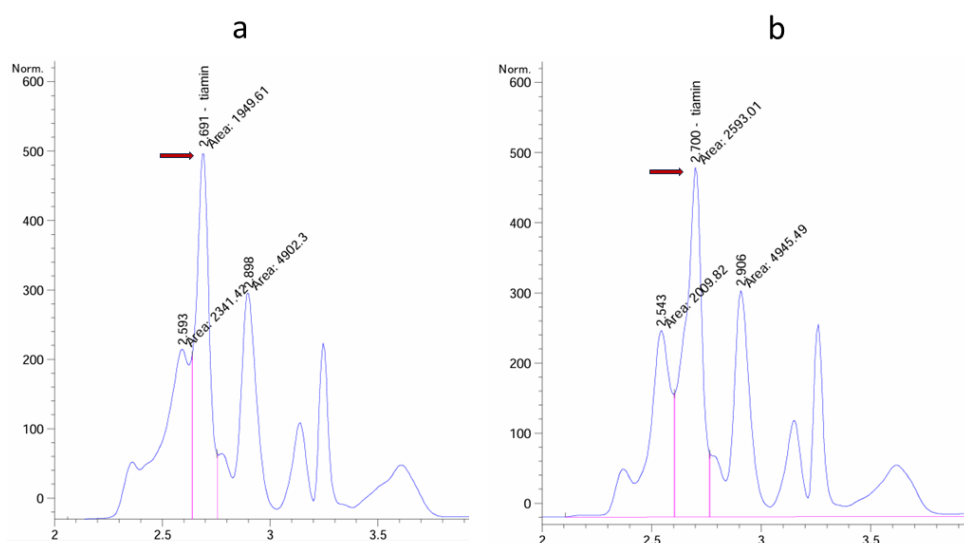
9. ábra. Összefoglaló a Garlic-lipo kezelés hatásáról búzában KEGG útvonalelemzés alapján. Az aktiválódott útvonalak sárgával, gének kékkel, folyamatok pirossal jelölve

Összeségében a kisparcellás kísérleteket vizsgálva a magas ABA tartalmú növényi-alapú biostimulátor kezelések után mindhárom kultúrában a B1 vitamin metabolizmus, glutation metabolizmus, a növényi hormon jelátvitel (ABA, JA, SA) és a növény-patogén interakció útvonalak aktivitása volt megfigyelhető (10. ábra).



10. ábra. Összefoglaló az EliceVaccina kezelés hatásáról a három kisparcellás kísérletben KEGG útvonalelemzés alapján. Az aktiválódott útvonalak sárga, gének kék, a folyamatok piros téglalapban vannak feltüntetve. Az útvonal téglalapokat szegélyező színek jelzik, hogy melyik kultúrában aktív az adott útvonal: zöld - borsó, sárga - repce, kék – szója

Számos publikáció leírta, hogy a növényt érő stresszhatáskor az ABA endogén felhalmozódásával potenciális központi szabályozó szerepet játszik az abiotikus stressztoleranciában (Sah et al., 2016), a tiamin metabolizmusban (Rapala-Kozik et al., 2012), valamint a növényi hormonok működésében. A tiamin metabolizmus nagyfokú aktivitását mutatott az útvonalelemzések szerint, ezért az EliceVakcina 20 g/ha kezelés után borsó növény termést tartalmazó hajtások tiamin és metabolitjai tartalmát megmértük HPLC-DAD készülékkel (5. ábra). A kezelést követő 5 nap alatt 8%, 10 nap alatt 14,3%-kal megnőtt a hajtás tiamin és metabolitjait detektáló standard jel alatti terület nagysága a kromatogram szerint (11. ábra).



11. ábra. Tiamin HPLC-DAD mérése borsónövényekben. Kezeletlen (a) és EliceVakcina kezelt növények (b) tiamin tartalma tíz nappal a kezelés után

Az ABA és az AUX együtt szabályozza a növények növekedésének és fejlődésének számos aspektusát, a magok csírázását, a primer gyökérnövekedést (Sun and Li, 2014); az etilénnel kölcsönhatásban a sztómazáródás szabályozását (Harrison, 2012); a jázmonátokkal a növényi védekezést és a génexpressziót (Anderson et al., 2004). A szakirodalmi leírásokkal megegyező összefüggéseket detektáltunk elemzéseink során.

Azonban különbségeket is tapasztaltunk a három növény vizsgálata során. Csak a borsó és szója növények kezelése után erősödött meg a MAPK kaskád, a fenilpropanoid bioszintézis, a hősokk proteinek, SA hormon és PR gének aktivitása. Az ABA komplex jelátviteli hálózata révén más jelátviteli útvonalakkal is integrálódik (Kumar et al., 2019). A MAPK kaskád

számos ABA-függő válaszban vesz részt, mint a magok csírázásában, a védősejt-jelátvitelben és az antioxidáns védekezésben (Jammes et al., 2009; Xing et al., 2008; Zhang et al., 2012).

Továbbá az ABA szerepet játszik biotikus stresszfaktorok, pl. a gombák elleni védekezési stratégiában is. A növények antioxidáns másodlagos metabolitokat termelnek (fenilpropanoidok, terpenoidok), melyek az ABA szubsztrátjai és elősegítik szintézisét. Az ABA megnövekedett szintézise korrelál *Fusarium oxysporum* rezisztenciájával, mint a növény fertőzésre adott korai válaszána pozitív szabályozója (Boba et al., 2020). A kórokozókkal szembeni reakció magában foglalja a PR fehérjék, köztük a glükánázok, kitinázok és peroxidázok, pektináz inhibitorok termelődését. Továbbá a sejtfal megváltozását is eredményezi, különösen a pektin metilészterezésével és a lignifikációval fizikai akadályt képez a gomba növekedésének (Wojtasik et al., 2011). A kórokozók fertőzése során különösen fontos szerepet játszik a SA hormon, csökkenti a növények kórokozók fertőzésére való érzékenységet (Di et al., 2016).

Mindezen ismeretek fényében feltételezhető, hogy a megfelelő ABA koncentrációjú biostimulátor kezelés növeli a növények abiotikus és biotikus stressztűrését, valamint tápértéktulajdonságait.

4. AZ ÉRTEKEZÉS ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEI

1. Liposzóma formulált biostimulánsok előállítása és jellemzése

Előállításra került két új, szuperkritikus szén-dioxid kivonással készült növényi kivonatokat tartalmazó liposzóma formuláció, az EliceVakcina és a Garlic-lipo, melyek biostimulátor aktivitással rendelkeznek. A készítmények magas abszcizinsav-tartalommal rendelkeznek: Garlic-lipo esetében $81,4 \pm 2,2 \mu\text{g/g}$, míg EliceVakcina esetében $6,3 \pm 1,2 \mu\text{g/g}$ érték került meghatározásra.

2. Gombaellenes hatás igazolása *Fusarium* fajokkal szemben

Kimutatásra került, hogy az abszcizinsavban gazdag, liposzóma formulált biostimulánsok, mint az EliceVakcina és a Garlic-lipo, hatékony gombaellenes aktivitást mutatnak növénypatogén *Fusarium* fajokkal szemben, úgymint *F. oxysporum*, *F. graminearum*, *F. verticillioides* és *F. proliferatum*. A vizsgált 0,625 v/v% koncentrációban az optikai denzitás (ABS_{600}) értéke EliceVakcina esetében 0,11755, míg Garlic-lipo esetében $-0,1612$ volt, ami jelentős gátló hatásra utal.

3. Stresszválaszutak preventív aktiválása

Bizonyítást nyert, hogy az EliceVakcina és a Garlic-lipo preventív módon aktiválják a növényi stresszvédekezési mechanizmusokat. A hatás taxonómiailag eltérő növényfajokon (*Triticum aestivum*, *Pisum sativum*, *Brassica napus* és *Glycine max*) is megfigyelhető volt, ami a készítmények széles körű alkalmazhatóságát támasztja alá.

4. Patogenezishez köthető és stressz-indukált gének expressziójának fokozása búzában

A Garlic-lipo kezelést követően *Triticum aestivum* növényekben jelentős mértékben nőtt a patogenezishez köthető gének (9764–1603 kontig) és a stressz-indukált gének (2345–214 kontig) expressziója, ami a védekezési és stresszválasz gének transzkripciók aktiválódását igazolja.

5. A B1-vitamin szintézisének serkentése szántóföldi növényekben

Megállapítást nyert, hogy az EliceVakcina elősegíti a környezeti stresszel szembeni ellenállóképességet olyan szántóföldi növényekben, mint a *Pisum sativum*, *Brassica napus* és *Glycine max* a tiamin (B1-vitamin) bioszintézisének aktiválása révén. A tiamin-bioszintézissel kapcsolatos differenciáltan expresszált szekvenciák száma (*P. sativum*: 125; *B. napus*: 57; *G.*

max: 54) jelentősen meghaladta a klasszikus fitohormon-útvonalakhoz kapcsolódó gének számát (*P. sativum*: 11; *B. napus*: 8; *G. max*: 7), ami egy új, abszcizinsav-alapú stresszadaptáció mechanizmus lehetőségét vetíti előre.

6. A B1-vitamin szintjének emelkedése borsóban

Pisum sativum esetében kimutatásra került, hogy a magas abszcizinsav-tartalmú biostimuláns kezelés hatására fokozódik a tiamin bioszintézis génjeinek expressziója, amelyhez 14,3%-os növekedés társult a B1-vitamin és metabolitjai tartalomában a kezelést követő 10. napon.

5. AZ EREDMÉNYEK GYAKORLATI HASZNOSÍTHATÓSÁGA

A vizsgált növényi-alapú biostimulátorok gyakorlati alkalmazása az agráriumban több területen is előnyös:

1. Termésminőség és beltartalom javítása: Az EliceVakcina növeli a B1 vitamin (tiamin) mennyiségét a borsóban, ami táplálkozás-élettani szempontból előnyös.

2. Stressztűrő képesség fokozása: A biostimulátorok aktiválják az ABA-függő jelátviteli útvonalakat, így segítik a növényeket az abiotikus (szárazság, hőstressz) és biotikus (kórokozók) stressz leküzdésében. A biostimulátorok kijuttatása, mint exogén ABA kezelés alkalmazható, mely az ABA-függő jelátviteli útvonalakon keresztül aktivál más jelátviteli útvonalakat fokozva a növény stressztoleranciáját.

3. Biofungicid hatás: A liposzóma formulált fokhagymakivonatok hatékonyan gátolják a *Fusarium* fajok növekedését, csökkentve a termésvesztést. A mikrodilúció toxicitási teszt szerint *F. graminearum*, *F. oxysporum*, *F. proliferatum* és *F. verticilloides* fajok növekedését visszaszorították. A vizsgált gombafajok közül a *F. proliferatum* micéliumnövekedését gátolták legjobban, különösen erősen reagált a Garlic-lipo kezelésre kiterjedt gátlási zónát mutatva.

4. Hatékonyabb hatóanyag-kijuttatás: A nanoliposzóma technológia növeli a hatóanyagok stabilitását, csökkenti a párolgást és fokozza a felszívódást, így kisebb mennyiségű extraktum is elegendő lehet a kívánt hatás eléréséhez. E formulálás segíti az alacsony vízzoldékonyság, a környezet okozta oxidáció elkerülését, továbbá a bioaktív anyagok felszabadulási sebessége szabályozhatóvá válik a hőmérséklet, a pH, a kibocsátó közeg ionerőssége vagy biotikus és/vagy abiotikus stresszorok által. Újszerű megközelítés a bioaktív összetevőkkel kapcsolatos negatív fizikai-kémiai tulajdonságokkal rendelkező gyógynövénykivonatok kijuttatására, melynek helye van az agrár célú felhasználásban.

5. Széles körű alkalmazhatóság: A kísérletek több növénykultúrában (búza, borsó, repce, szója) is pozitív hatásokat mutattak, így a technológia többféle termesztési rendszerbe beilleszthető.

6. Összességében az előállított biostimulátorok alkalmazása hozzájárulhat a fenntartható mezőgazdasághoz, csökkentheti a kémiai növényvédő szerek használatát és növelheti a termésbiztonságot.

6. IRODALOMJEGYZÉK

1. Abdollahdokht, D.-Gao, Y.-Faramarz, S.-Poustforoosh, A.-Abbasi, M.-Asadikaram, G. - Nematollahi, M. H.: 2022. Conventional agrochemicals towards nano-biopesticides: An overview on recent advances. *Chemical and biological technologies in agriculture*: 9. 1-19.
2. Anderson, J. P.-Badruzsaufari, E.-Schenk, P. M.-Manners, J. M.-Desmond, O. J.-Ehlert, C.-Maclean, D. J.-Ebert, P. R. -Kazan, K.: 2004. Antagonistic interaction between abscisic acid and jasmonate-ethylene signaling pathways modulates defense gene expression and disease resistance in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*: 16. 3460-3479.
3. Aroca, R.-del Mar Alguacil, M.-Vernieri, P. -Ruiz-Lozano, J. M.: 2008. Plant responses to drought stress and exogenous ABA application are modulated differently by mycorrhization in tomato and an ABA-deficient mutant (sitiens). *Microbial Ecology*: 56. 704-719.
4. Atif, M. J.-Amin, B.-Ghani, M. I.-Ali, M.-Liu, X.-Zhang, Y. -Cheng, Z.: 2021. *Allium sativum* L.(Garlic) bulb enlargement as influenced by differential combinations of photoperiod and temperature. *Food Chemistry*: 338. 127991.
5. Boba, A.-Kostyn, K.-Kozak, B.-Wojtasik, W.-Preisner, M.-Prescha, A.-Gola, E. M.-Lysh, D.-Dudek, B. -Szopa, J.: 2020. Fusarium oxysporum infection activates the plastidial branch of the terpenoid biosynthesis pathway in flax, leading to increased ABA synthesis. *Planta*: 251. 1-14.
6. Bulgakov, V. P.-Wu, H.-C. -Jinn, T.-L.: 2019. Coordination of ABA and chaperone signaling in plant stress responses. *Trends in Plant Science*: 24. 636-651.
7. Campbell, P. I.: 1983. Toxicity of some charged lipids used in liposome preparations. *Cytobios*: 37. 21-26.
8. Chan, Z.: 2012. Expression profiling of ABA pathway transcripts indicates crosstalk between abiotic and biotic stress responses in *Arabidopsis*. *Genomics*: 100. 110-115.
9. Chawda, P. J.-Shi, J.-Xue, S. -Young Quek, S.: 2017. Co-encapsulation of bioactives for food applications. *Food Quality and Safety*: 1. 302-309.
10. Cutler, S. R.-Rodriguez, P. L.-Finkelstein, R. R. -Abrams, S. R.: 2010. Absciscic acid: emergence of a core signaling network. *Annual review of plant biology*: 61. 651-679.
11. Decsi, K.-Hegedűs, G.-Kutasy, B. -Virág, E.: 2022a. RNA-seq datasets of field rapeseed (*Brassica napus*) cultures conditioned by Elice16Indures® biostimulator. *Data in Brief*: 45. 108602.
12. Decsi, K.-Kutasy, B.-Hegedűs, G.-Alföldi, Z. P.-Kálmán, N.-Nagy, Á. -Virág, E.: 2023. Natural immunity stimulation using ELICE16INDURES® plant conditioner in field culture of soybean. *Heliyon*. e12907.
13. Decsi, K.-Kutasy, B.-Kiniczky, M.-Hegedűs, G. -Virág, E.: 2022b. RNA-seq datasets of field soybean cultures conditioned by Elice16Indures® biostimulator. *Data in Brief*: 42. 108182.

14. Del Valle, J.-Mena, C. -Budinich, M.: 2008. Extraction of garlic with supercritical CO₂ and conventional organic solvents. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*: 25. 532-542.
15. Di, X.-Takken, F. L. -Tintor, N.: 2016. How phytohormones shape interactions between plants and the soil-borne fungus *Fusarium oxysporum*. *Frontiers in plant science*: 7. 170.
16. Emami, S.-Azadmard-Damirchi, S.-Peighambaroust, S. H.-Valizadeh, H. -Hesari, J.: 2016. Liposomes as carrier vehicles for functional compounds in food sector. *Journal of Experimental Nanoscience*: 11. 737-759.
17. González-Morales, S.-Solís-Gaona, S.-Valdés-Caballero, M. V.-Juárez-Maldonado, A.-Loredo-Treviño, A. -Benavides-Mendoza, A.: 2021. Transcriptomics of biostimulation of plants under abiotic stress. *Frontiers in Genetics*: 12. 583888.
18. Hanachi, A.-Bianchi, A.-Kahn, C. J.-Velot, E.-Arab-Tehrany, E.-Cakir-Kiefer, C. -Linder, M.: 2022. Encapsulation of Salmon Peptides in Marine Liposomes: Physico-Chemical Properties, Antiradical Activities and Biocompatibility Assays. *Marine Drugs*: 20. 249.
19. Harrison, M. A.: 2012. Cross-talk between phytohormone signaling pathways under both optimal and stressful environmental conditions. *Phytohormones and abiotic stress tolerance in plants*. 49-76.
20. Hayat, S.-Cheng, Z.-Ahmad, H.-Ali, M.-Chen, X. -Wang, M.: 2016. Garlic, from remedy to stimulant: evaluation of antifungal potential reveals diversity in phytoalexin allicin content among garlic cultivars; allicin containing aqueous garlic extracts trigger antioxidants in cucumber. *Frontiers in plant science*: 7. 1235.
21. Hegedűs, G.-Kutasy, B.-Kiniczky, M.-Decsi, K.-Juhász, Á.-Nagy, Á.-Pallos, J. P. -Virág, E.: 2022. Liposomal formulation of botanical extracts may enhance yield triggering PR genes and phenylpropanoid pathway in Barley (*Hordeum vulgare*). *Plants*: 11. 2969.
22. Humplik, J. F.-Bergougnoux, V. -Van Volkenburgh, E.: 2017. To stimulate or inhibit? That is the question for the function of abscisic acid. *Trends in Plant Science*: 22. 830-841.
23. Jammes, F.-Song, C.-Shin, D.-Munemasa, S.-Takeda, K.-Gu, D.-Cho, D.-Lee, S.-Giordo, R. -Sritubtim, S.: 2009. MAP kinases MPK9 and MPK12 are preferentially expressed in guard cells and positively regulate ROS-mediated ABA signaling. *Proceedings of the National Academy of sciences*: 106. 20520-20525.
24. Jogaiah, S.-Singh, H. B.-Fernandes-Fraceto, L. -De Lima, R.: 2021. Advances in nano-fertilizers and nano-pesticides in agriculture: Elsevier.
25. Kumar, M.-Kesawat, M. S.-Ali, A.-Lee, S.-C.-Gill, S. S. -Kim, H. U.: 2019. Integration of abscisic acid signaling with other signaling pathways in plant stress responses and development. *Plants*: 8. 592.

26. Kutasy, B.-Decsi, K.-Hegedűs, G. -Virág, E.: 2023. Dataset of conditioning effect of herbal extract-based plant biostimulants in pea (*Pisum sativum*). *Data in Brief*: 46. 108800.
27. Kutasy, B.-Decsi, K.-Kiniczky, M.-Hegedűs, G. -Virág, E.: 2022. Time-course gene expression profiling data of *Triticum aestivum* treated by supercritical CO₂ garlic extract encapsulated in nanoscale liposomes. *Data in Brief*. 108287.
28. Manchikanti, P.: 2019. Bioavailability and environmental safety of nanobiopesticides. *Nano-Biopesticides Today and Future Perspectives*. 207-222.
29. Mayer, L. D.-Bally, M. B.-Hope, M. J. -Cullis, P. R.: 1986. Techniques for encapsulating bioactive agents into liposomes. *Chemistry and physics of lipids*: 40. 333-345.
30. Nuruzzaman, M.-Liu, Y.-Rahman, M. M.-Dharmarajan, R.-Duan, L.-Uddin, A. F. M. J. -Naidu, R.: 2019. Nanobiopesticides: Composition and preparation methods. In *Nano-biopesticides today and future perspectives*: Elsevier. pp. 69-131.
31. Perczak, A.-Gwiazdowska, D.-Marchwińska, K.-Juś, K.-Gwiazdowski, R. -Waśkiewicz, A.: 2019. Antifungal activity of selected essential oils against *Fusarium culmorum* and *F. graminearum* and their secondary metabolites in wheat seeds. *Archives of microbiology*: 201. 1085-1097.
32. Pfaller, M.-Messer, S.-Mills, K. -Bolmstrom, A.: 2000. In vitro susceptibility testing of filamentous fungi: comparison of Etest and reference microdilution methods for determining itraconazole MICs. *Journal of Clinical Microbiology*: 38. 3359-3361.
33. Pinilla, C. M. B.-Thys, R. C. S. -Brandelli, A.: 2019. Antifungal properties of phosphatidylcholine-oleic acid liposomes encapsulating garlic against environmental fungal in wheat bread. *International Journal of Food Microbiology*: 293. 72-78.
34. Rapala-Kozik, M.-Wolak, N.-Kujda, M. -Banas, A. K.: 2012. The upregulation of thiamine (vitamin B1) biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* seedlings under salt and osmotic stress conditions is mediated by abscisic acid at the early stages of this stress response. *BMC plant biology*: 12. 1-14.
35. Rouphael, Y. -Colla, G.: 2020. Toward a sustainable agriculture through plant biostimulants: From experimental data to practical applications: MDPI, pp. 1461.
36. Sah, S. K.-Reddy, K. R. -Li, J.: 2016. Absciscic acid and abiotic stress tolerance in crop plants. *Frontiers in plant science*: 7. 571.
37. Sun, J. -Li, C.: 2014. Cross talk of signaling pathways between ABA and other phytohormones. *Absciscic acid: Metabolism, transport and signaling*. 243-253.
38. Travaglia, C.-Reinoso, H.-Cohen, A.-Luna, C.-Tommasino, E.-Castillo, C. -Bottini, R.: 2010. Exogenous ABA increases yield in field-grown wheat with moderate water restriction. *Journal of Plant Growth Regulation*: 29. 366-374.

39. Virág, E.-Kiniczky, M.-Kutasy, B.-Nagy, Á.-Pallos, J. P.-Laczkó, L.-Freytag, C. -Hegedűs, G.: 2023. Supplementation of the Plant Conditioner ELICE Vakcina® Product with β -Aminobutyric Acid and Salicylic Acid May Lead to Trans-Priming Signaling in Barley (*Hordeum vulgare*). *Plants*: 12. 2308.
40. Wojtasik, W.-Kulma, A.-Kostyn, K. -Szopa, J.: 2011. The changes in pectin metabolism in flax infected with *Fusarium*. *Plant Physiology and Biochemistry*: 49. 862-872.
41. Xing, Y.-Jia, W. -Zhang, J.: 2008. AtMKK1 mediates ABA-induced CAT1 expression and H₂O₂ production via AtMPK6-coupled signaling in *Arabidopsis*. *The Plant Journal*: 54. 440-451.
42. Yakhin, O. I.-Lubyanov, A. A.-Yakhin, I. A. -Brown, P. H.: 2017. Biostimulants in plant science: a global perspective. *Frontiers in plant science*: 7. 2049.
43. Zhang, J. -Davies, W.: 1990. Does ABA in the xylem control the rate of leaf growth in soil-dried maize and sunflower plants? *Journal of Experimental Botany*: 41. 1125-1132.
44. Zhang, M.-Pan, J.-Kong, X.-Zhou, Y.-Liu, Y.-Sun, L. -Li, D.: 2012. ZmMKK3, a novel maize group B mitogen-activated protein kinase kinase gene, mediates osmotic stress and ABA signal responses. *Journal of plant physiology*: 169. 1501-1510.

7. AZ ÉRTEKEZÉS TÉMÁJÁBAN SZÜLETETT PUBLIKÁCIÓK ÉS TOVÁBBI KÖZLEMÉNYEK



**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

Nyilvántartási szám: DEENK/59/2025.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Kutasy Barbara
Doktori Iskola: Kerpely Kálmán Doktori Iskola
MTMT azonosító: 10048758

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

Idegen nyelvű tudományos közlemények külföldi folyóiratban (6)

1. **Kutasy, B.**, Kiniczky, M., Decsi, K., Kálmán, N., Hegedűs, G., Alföldi, Z. P., Virág, E.: 'Garlic-lipo'4Plants: liposome-Encapsulated Garlic Extract Stimulates ABA Pathway and PR Genes in Wheat (*Triticum aestivum*).
Plants-Basel. 12 (4), 1-18, 2023. ISSN: 2223-7747.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/plants12040743>
IF: 4
2. **Kutasy, B.**, Decsi, K., Hegedűs, G., Virág, E.: Dataset of conditioning effect of herbal extract-based plant biostimulants in pea (*Pisum sativum*).
Data in Brief. 46, 1-17, 2023. ISSN: 2352-3409.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.dib.2022.108800>
IF: 1
3. Decsi, K., **Kutasy, B.**, Hegedűs, G., Alföldi, Z. P., Kálmán, N., Nagy, Á., Virág, E.: Natural immunity stimulation using ELICE16INDURES plant conditioner in field culture of soybean.
Heliyon. 9 (1), 1-19, 2023. ISSN: 2405-8440.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e12907>
IF: 3.4
4. Decsi, K., Hegedűs, G., **Kutasy, B.**, Virág, E.: RNA-seq datasets of field rapeseed (*Brassica napus*) cultures conditioned by Elice16Indures® biostimulator.
Data in Brief. 45, 1-7, 2022. EISSN: 2352-3409.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.dib.2022.108602>
IF: 1.2
5. Decsi, K., **Kutasy, B.**, Kiniczky, M., Hegedűs, G., Virág, E.: RNA-seq datasets of field soybean cultures conditioned by Elice16Indures® biostimulator.
Data in Brief. 42, 1-7, 2022. EISSN: 2352-3409.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.dib.2022.108182>
IF: 1.2





6. **Kutasy, B.**, Decsi, K., Kiniczky, M., Hegedűs, G., Virág, E.: Time-course gene expression profiling data of *Triticum aestivum* treated by supercritical CO₂ garlic extract encapsulated in nanoscale liposomes.
Data in Brief. 42, 1-7, 2022. EISSN: 2352-3409.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.dib.2022.108287>
IF: 1.2

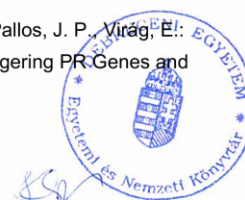
Idegen nyelvű absztrakt kiadványok (1)

7. Virág, E., **Kutasy, B.**, Decsi, K., Hegedűs, G.: Time-course gene expression analysis of the effect of SC-CO₂ garlic extract encapsulated in nanoscale liposomes.
In: *Bioinformatics and Data Science in Genomic Studies : Book of abstracts, Debreceni Egyetem Metagenomikai Intézet, Debrecen, 8, 2022.*

További közlemények

Idegen nyelvű tudományos közlemények külföldi folyóiratban (12)

8. Virág, E., Nagy, Á., Bartáné Tóth, B., **Kutasy, B.**, Pallos, J. P., Máthéné Szigeti, Z., Máthé, C., Kardos, G., Hegedűs, G.: Master regulatory transcription factors in B-Aminobutyric Acid-induced resistance (BABA-IR): a perspective on phytohormone biosynthesis and signaling in *Arabidopsis thaliana* and *Hordeum vulgare*.
Int. J. Mol. Sci. 25 (17), 1-23, 2024. ISSN: 1661-6596.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms25179179>
IF: 4.9 (2023)
9. Virág, E., Kiniczky, M., **Kutasy, B.**, Nagy, Á., Pallos, J. P., Laczkó, L., Freytag, C., Hegedűs, G.: Supplementation of the Plant Conditioner ELICE Vakcina® Product with β -Aminobutyric Acid and Salicylic Acid May Lead to Trans-Priming Signaling in Barley (*Hordeum vulgare*).
Plants-Basel. 12 (12), 1-19, 2023. ISSN: 2223-7747.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/plants12122308>
IF: 4
10. Hegedűs, G., **Kutasy, B.**, Kiniczky, M., Decsi, K., Juhász, Á., Nagy, Á., Pallos, J. P., Virág, E.: Liposomal Formulation of Botanical Extracts may Enhance Yield Triggering PR Genes and Phenylpropanoid Pathway in Barley (*Hordeum vulgare*).
Plants-Basel. 11 (21), 1-22, 2022. EISSN: 2223-7747.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/plants11212969>
IF: 4.5





11. Mutuku, C., **Kutasy, B.**, Urbán, P., Melegh, S., Herczeg, R., Gazdag, Z., Virág, E.: Plasmid sequence dataset of multidrug-resistant Enterobacterales isolated from hospital effluents and wastewater treatment plant.
Data in Brief. 45, 1-9, 2022. EISSN: 2352-3409.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.dib.2022.108736>
IF: 1.2
12. Hegedűs, G., Nagy, Á., Decsi, K., **Kutasy, B.**, Virág, E.: Transcriptome datasets of Beta-Aminobutyric acid (BABA)-primed mono- and dicotyledonous plants, *Hordeum vulgare* and *Arabidopsis thaliana*.
Data in Brief. 41, 1-7, 2022. EISSN: 2352-3409.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.dib.2022.107983>
IF: 1.2
13. Virág, E., Hegedűs, G., **Kutasy, B.**, Decsi, K.: Transcriptome profiling dataset of different developmental stage flowers of soybean (*Glycine max*).
Data in Brief. 43, 1-8, 2022. EISSN: 2352-3409.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.dib.2022.108426>
IF: 1.2
14. **Kutasy, B.**, Farkas, Z., Kolics, B., Decsi, K., Hegedűs, G., Kovács, J., Taller, J., Tóth, Z., Kálmán, N., Kazinczi, G., Virág, E.: Detection of Target-Site Herbicide Resistance in the Common Ragweed: Nucleotide Polymorphism Genotyping by Targeted Amplicon Sequencing.
Diversity. 13 (3), 1-16, 2021. EISSN: 1424-2818.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/d13030118>
IF: 3.029
15. Székvári, K., Szabolcsi, Z., **Kutasy, B.**, Hegedűs, G., Virág, E.: New complete mitogenome datasets and their characterization of the European catfish (*Silurus glanis*).
Data in Brief. 38, 1-8, 2021. ISSN: 2352-3409.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.dib.2021.107418>
16. **Kutasy, B.**, Takács, Z., Kovács, J., Bogaj, V., Razak, S. A., Hegedűs, G., Decsi, K., Székvári, K., Virág, E.: Pro197Thr Substitution in Ahas Gene Causing Resistance to Pyroxsulam Herbicide in Rigid Ryegrass (*Lolium Rigidum* Gaud.).
Sustainability. 13 (12), 1-10, 2021. EISSN: 2071-1050.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/su13126648>
IF: 3.889
17. Kolics, É., Parrag, T., Házi, F., Szepesi, K., Heltai, B., Mátyás, K., **Kutasy, B.**, Virág, E., Taller, J., Orbán, L., Kolics, B.: An Alternative, High Throughput Method to Identify Csd Alleles of the Honey Bee.
Insects. 11 (8), 1-12, 2020. EISSN: 2075-4450.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/insects11080483>
IF: 2.769





18. Mátyás, K. K., Hegedűs, G., Taller, J., Farkas, E., Decsi, K., **Kutasy, B.**, Kálmán, N., Nagy, E., Kolics, B., Virág, E.: Different expression pattern of flowering pathway genes contribute to male or female organ development during floral transition in the monoecious weed *Ambrosia artemisiifolia* L. (Asteraceae).
PeerJ. 7, 1-40, 2019. EISSN: 2167-8359.
DOI: <http://dx.doi.org/10.7717/peerj.7421>
IF: 2.379
19. Nagy, E., Hegedűs, G., Taller, J., **Kutasy, B.**, Virág, E.: Illumina sequencing of the chloroplast genome of common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L.).
Data in Brief. 15, 606-611, 2017. ISSN: 2352-3409.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.dib.2017.10.009>

Egyéb folyóiratközlemények (1)

20. Decsi, K., **Kutasy, B.**, Hegedűs, G., Alföldi, Z. P., Kálmán, N., Nagy, Á., Virág, E.: Corrigendum to "Natural immunity stimulation using ELICE16INDURES plant conditioner in field culture of soybean" [*Heliyon* 9 (1), (January 2023) Article e12907].
Heliyon. 9 (3), 1, 2023. EISSN: 2405-8440.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e13954>

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 41,066

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):

12

A DEENK a Jelölt által a Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudományometriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2025.02.18.

