

DEBRECENI EGYETEM
KERPELY KÁLMÁN DOKTORI ISKOLA

Doktori Iskola vezető:

DR. KAKUSZI-SZÉLES ADRIENN
egyetemi tanár
az MTA doktora

Témavezető:

Dr. Dobránszki Judit
Tudományos tanácsadó
az MTA doktora

**NÖVÉNYI STRESSZMEMÓRIA MOLEKULÁRIS
GENETIKAI MECHANIZMUSAINAK VIZSGÁLATA**

Készítette:

FARKAS DÓRA
doktorjelölt

Debrecen

2026

**NÖVÉNYI STRESSZMEMÓRIA MOLEKULÁRIS GENETIKAI
MECHANIZMUSAINAK VIZSGÁLATA**

**Értekezés a doktori (Ph.D.) fokozat megszerzése érdekében
A növénytermesztési és kertészeti tudományágban**

Írta: **FARKAS DÓRA** okleveles biomérnök

Készült a Debreceni Egyetem Kerpely Kálmán Növénytermesztési és Kertészeti
Tudományok Doktori Iskola
(Növénytermesztési és kertészeti programja) keretében

Témavezető: Dr. Dobránszki Judit, MTA doktora

Az értekezés bírálói:

név	fokozat	aláírás
.....		
.....		

A bírálóbizottság:

	név	fokozat	aláírás
elnök:			
tagok:			
			
			
titkár:			
			

Az értekezés védésének időpontja: 20.... ..

„Hinnünk kell abban, hogy a növényekben is létezik valami, ami a mi tudatunk halvány
mása... [és] az emlékezet vagy szokás valamilyen megfelelője uralkodik bennük.”

Francis Darwin (1908)

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS.....	8
2. CÉLKITŰZÉS	11
3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	12
3.1. Vízhány okozta abiotikus stressz a paradicsomtermesztésben.....	12
3.2. Innovatív növénykondicionálási eljárások: A vegyszermentes, fizikai alapú módszerek térnyerése a precíziós nemesítésben és termesztésben	13
3.2.1. Akusztikus ingerek és ultrahang kezelés hatása a növényekre	16
3.2.2. Az ultrahang priming és a növényi növekedés és fejlődés	18
3.2.3. Paraméter-optimalizálás: A frekvencia, az intenzitás és az expozíciós idő jelentősége a biológiai válasz szempontjából	21
3.3. A szárazság okozta stresszválasz paradicsomban.....	22
3.4. A növényi emlékezet.....	22
3.4.1. Stressz-priming és memória: Hogyan „emlékeznek” a növények?	25
3.4.2. Növényi memória típusai	30
3.4.3. Transzkripció memória	32
3.4.4. Ismételt ingerek hatása a memóriára	40
3.5. Mi a különbség az asszociatív tanulás és kereszt-tolerancia közt?	42
3.5.1. Kereszt-tolerancia (Cross-tolerance)	42
3.5.2. Asszociatív memória és tanulás	44
3.5.3. Kombinált stresszválaszok elemzése: Miért nem egyenlő a kombinált hatás a részhatások összegével?	46
3.6. Módszertani alapvetések és validálási eljárások	47
3.6.1. Teljes genom biszulfid szekvenálás (WGBS) szerepe	48
3.6.1. RNA-seq technológia a modern növénytanban	49
3.6.2. A főkomponens analízis (PCA) szerepe a komplex válaszok vizualizálásában: A transzkriptom-szintű elkülönülés bizonyítéka a kezelések specifikusságára	49
3.6.3. RT-qPCR technika: célgén vizsgálat és validálása.....	50
4. ANYAG ÉS MÓDSZER.....	52
4.1. Növényi alapanyag és nevelési körülmények.....	52
4.2. Kezelési és mintavételi eljárások.....	53
4.3. DNS és RNS izolálás szekvenáláshoz.....	55
4.4. RNS-sekvenálás (RNA-seq) és bioinformatikai elemzés	57
4.4.1. Könyvtárkészítés és szekvenálás	57
4.4.2. Nyers adatok előfeldolgozása és minőségbiztosítása	57

4.4.3. Illesztés és kvantifikálás	57
4.4.4. Differenciális génexpresszió elemzése	58
4.5. Teljes genom-szintű biszulfid szekvenálás (Whole Genome Bisulfite sequencing - WGBS) és bioinformatikai elemzés	58
4.5.1. DNS-könyvtár készítése és szekvenálás	58
4.5.2. Bioinformatikai feldolgozás és illesztés	58
4.5.3. Differenciálisan metilált régiók és gének azonosítása	59
4.5.4. Funkcionális annotáció és vizualizáció	59
4.6. RT-qPCR elemzés	60
4.6.1. RNS-izolálás és minőségellenőrzés RT-qPCR-hez	60
4.6.2. cDNA-szintézis (reverz transzkripció)	60
4.6.3. Primer-tervezés és háztartási gének kiválasztása.....	60
4.6.4. Szekvenálási adatok validálása RT-qPCR módszerrel	61
4.6.5. RT-qPCR vizsgálatok későbbi mintavételi időpontokból származó minták esetén.....	63
4.7. Statisztikai elemzés.....	63
5. EREDMÉNYEK	65
5.1. A transzkriptom-profil globális változásainak értékelése főkomponens-analízissel, hőtérképpel és vulkánplottal.....	65
5.2. Transzkripció és DNS-metilációs válaszok a kezeléseket követő 2. napon	68
5.3. Célgének kiválasztása a transzkripció memória-vizsgálatokhoz és a DEG-analízis validálása RT-qPCR-rel	78
5.4. A transzkripció memória kialakulása és fenntartása, valamint az ismételt ingerek hatása a memória megőrzésére	82
5.5. Asszociatív memória vizsgálata paradicsomban	86
6. KÖVETKEZTETÉSEK, JAVASLATOK.....	89
7. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK	100
8. GYAKORLATBAN ALKALMAZHATÓ EREDMÉNYEK	102
9. ÖSSZEFOGLALÁS.....	103
10. SUMMARY	104
11. IRODALOM.....	105
PUBLIKÁCIÓK AZ ÉRTKEZÉZÉS TÉMAKÖRÉBEN	128
KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS	132
NYILATKOZATOK	133
MELLÉKLETEK	134

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

ABA: Abszcizinsav

AGO / AGO 4, 6, 9: Argonaute fehérjék

ARGOS: a szervméret szabályozásában szerepet játszó ARGOS fehérjét kódoló gén (*Protein auxin-regulated gene involved in organ size* – célgén)

BAM: Bináris illesztési/térképezési fájlformátum (*Binary Alignment Map*)

BER: Csúcsrothadás (*Blossom-end rot* – fiziológiai betegség a paradicsomnál)

BLASTn: Nukleotid-alapú alapvető helyi illesztési keresőeszköz (*Basic Local Alignment Search Tool for nucleotides*)

bp: Bázispár (*base pair*)

BP: Biológiai folyamat (*Biological Process* – a Gén Ontológia alkategóriája)

C: Kontroll minták (*Control*)

CC: Sejtkomponens / Sejtalkotó (*Cellular Component* – a Gén Ontológia alkategóriája)

cDNS: Komplementer dezoxiribonukleinsav (*complementary DNA*)

CG / CHG / CHH: DNS-metilációs szekvenciakörnyezetek (ahol a C a citozint, a G a guanint, a H pedig az adenint, timint vagy citozint jelöli)

CLSY: CLASSY fehérje; Kromatin-átalakító fehérjecsalád növényekben; az RNS-irányított DNS-metiláció (RdDM) upstream szabályozójaként vesz részt a lokuszspecifikus és globális epigenetikus mintázatok kialakításában

CMT2 / CMT3: Kromometiláz 2 és 3 (*Chromomethylase 2 and 3*)

CpG / CHG / CHH: DNS-metilációs szekvenciakörnyezetek (ahol a C a citozint, a G a guanint, a H pedig az adenint, timint vagy citozint jelöli)

CPMCW: Citoszkeleton-plazmamembrán-sejtfal határfelület (*Cytoskeleton-Plasma Membrane-Cell Wall interface*)

Cq: Ciklus-kvantifikáció (*Quantification cycle* – a qPCR mérések kvantifikációs pontja)

CR: Feltételes válasz (*Conditioned Response / Conditioned Reflex*)

CS: Feltételes inger (*Conditioned Stimulus*)

D: Szárazságstressz (*Drought* – a kezelési csoport jelölése)

dB: Decibel

DCL / DCL1, 2, 3, 4: Dicer-szerű fehérjék (*Dicer-Like proteins*)

DDM1: DNS-metiláció csökkenés 1 fehérje (*Decreased DNA Methylation 1*)

DEG / DEG-ek: Differenciálisan kifejeződő gének (*Differentially Expressed Genes*)

DMG / DMG-k: Differenciálisan metilált gének (*Differentially Methylated Genes*)

DMR / DMR-ek: Differenciálisan metilált régiók (*Differentially Methylated Regions*)

DNS: Dezoxiribonukleinsav

DRM1 / DRM2: Domains rearranged metiltranszferáz 1 és 2 (*Domains Rearranged Methyltransferase 1 and 2*)

dsRNS: Kettősszálú RNS (*Double-stranded RNA*)

ELO: Elongációs faktor 1-alfa gén (*Elongation factor 1-alpha* – háztartási gén)

EX: EXORDIUM-szerű 5 fehérje génje (*Protein EXORDIUM-like 5* – célgén)

FDR: Hamis felfedezési arány (*False Discovery Rate*)

GAPDH: Glicerinaldehid-3-foszfát-dehidrogenáz gén (háztartási gén)

GC-tartalom: Guanin-citozin arány a nukleinsav-szekvenciában

GO: Gén Ontológia (*Gene Ontology* – a génfunkciók egységesített osztályozási rendszere)

H3K4me2 / H3K4me3 / H3K27me2: A H3 hisztonfehérje specifikus aminosavainak (lizin 4 és 27) di- és trimetilációs epigenetikai jelölései

H3K9ac / H3T3ph: A H3 hisztonfehérje acetilációs (9. lizin) és foszforilációs (3. treonin) jelölései

H4ac / H4R3me2 / H4K5/8/12/16ac: A H4 hisztonfehérje acetilációs (általános és specifikus lizinek) és metilációs (3. arginin) jelölései

HEN1: HUA ENHANCER 1 (RNS-metiláz enzim)

HS: Hőstressz (*Heat Shock / Heat Stress*)

HSFA2: Hősokk transzkripció faktor A2 (*Heat-Shock Transcription Factor A2*)

HSP: Hősokk-fehérje (*Heat Shock Protein*)

IDN2: INVOLVED IN DE NOVO 2 (az RdDM útvonalon működő RNS-kötő fehérje)

IPCC: Éghajlatváltozási Kormányközi Testület (*Intergovernmental Panel on Climate Change*)

ITAG4.0: Nemzetközi Paradicsom Annotációs Csoport 4.0-s verziója (*International Tomato Annotation Group*)

JA: Jázmonsav

LFC: Log2-szeres változás (*Logarithmic Fold Change / expresszió-változás mértéke*)

lncRNS: Hosszú, nem kódoló RNS (*Long non-coding RNA*)

MAPK: Mitogén-aktivált protein-kináz (*Mitogen-Activated Protein Kinase*)

MCA: Mechanoszenzitív kalcium-áteresztő csatorna család (*Mechanosensitive Calcium-permeable Channel*)

MET1: Metiltranszferáz 1 (*Methyltransferase 1*)

MF: Molekuláris funkció (*Molecular Function* – a Gén Ontológia alkategóriája)

mikroRNS/miRNS: Mikro-RNS (kisméretű, nem-kódoló szabályozó RNS-molekula)

MOM1: Morfogenetikai gátlás feloldódása 1 fehérje (*Morpheus Molecule 1*)

mRNS: Hírvivő ribonukleinsav (*messenger RNA*)

MS: Murashige és Skoog (elterjedt növényi táptalaj típus)

MscS: Kisméretű mechanoszenzitív ioncsatorna család (*Mechanosensitive Channel of Small conductance*)

MYB: MYB24-szerű transzkripció faktor génje (*Transcription factor MYB24-like – célgén*)

NADPH: Nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát (redukált formája, koenzim a ROS-termelésben)

NAT-ok: Természetes antiszensz transzkriptek (*Natural Antisense Transcripts*)

NCBI: Nemzeti Biotechnológiai Információs Központ (*National Center for Biotechnology Information*)

NGS: Új generációs szekvenálás (*Next-Generation Sequencing*)

NRPE1: Az RNA Pol V polimeráz legnagyobb alegysége

OSCA: Hiperozmotikus stressz által aktivált kalciumcsatorna család (*Hyperosmolality-gated Calcium Channel*)

p-adj: Korrigált P-érték (*adjusted P-value*)

PC / PC1 / PC2: Főkomponens / 1. vagy 2. számú főkomponens (*Principal Component*)

PCA: Főkomponens-analízis (*Principal Component Analysis*)

PCR: Polimeráz-láncreakció (*Polymerase Chain Reaction*)

PE150: Páros végű szekvenálási mód 150 bázispár hosszúsággal (*Paired-End 150*)

PEG: Polietilén-glikol (szárazságstressz előidézésére használt ozmotikum)

poly-A: Poliadenilált farok (az mRNS molekulák végén található szakasz)

PPFD: Fotoszintetikusan aktív fotonfluxus-sűrűség (*Photosynthetic Photon Flux Density*)

PTGS: Poszt-transzkripció gécnsendesítés (*Post-Transcriptional Gene Silencing*)

qPCR / RT-qPCR: Kvantitatív polimeráz-láncreakció / Reverz transzkripciót követő kvantitatív PCR

RdDM: RNS-irányított DNS-metiláció (*RNA-directed DNA Methylation*)

RDR / RDR2: RNS-függő RNS-polimeráz (*RNA-Dependent RNA Polymerase*)

REF6: RELATIVE EARLY FLOWERING 6 (hiszton-demetiláz fehérje)

RIN: RNS integritási szám (*RNA Integrity Number*)

RISC: RNS-indukálta gécnsendesítő komplex (*RNA-Induced Silencing Complex*)

RLK: Receptor-szerű kináz (*Receptor-Like Kinase*)

RNA Pol / RNA Pol II, III, IV, V: DNS-függő RNS-polimeráz (*DNA-dependent RNA Polymerase*)

RNAi: RNS-interferencia (*RNA interference*)

RNA-seq: RNS-szekvenálás (*Ribonucleic Acid Sequencing*)

RNS: Ribonukleinsav

ROS: Reaktív oxigénformák (*Reactive Oxygen Species*)

RT-enzim: Reverz transzkriptáz enzim

SEC: Exocisza komplex komponens SEC3A gén (*Exocyst complex component SEC3A* – háztartási gén)

SHH1: SAWDEE homeodomain homolog 1 (DNS- és kromatinkötő fehérje az RdDM útvonalon)

siRNA / siRNS: Kis interferáló RNS (*Small interfering RNA*)

sRNS: Kis RNS-ek (*Small RNA*)

ssRNS: Egyszálú RNS (*Single-stranded RNA*)

TE: Transzpozonok (*Transposable elements*)

TIP: Aquaporin TIP3-2-szerű fehérje génje (*Probable aquaporin TIP3-2-like* – célgén)

Tm: Oladási hőmérséklet (*Melting temperature* – a primerekre jellemző érték)

TPK: Kétpórusú káliumcsatorna család (*Two-pore Potassium Channel*)

UBI: Ubikvitin-riboszomális fehérje eS31 fúziós fehérje-szerű gén (háztartási gén)

UCS: Feltétlen inger (*Unconditioned Stimulus*)

US: Ultrahang (*Ultrasound / Ultrasonic treatment*)

US+D: Ultrahang és szárazságstressz kombinált kezelés

UV-C: Rövidhullámú ultraibolya sugárzás (200–280 nm tartományban)

WGBS: Teljes genom szintű biszulfid szekvenálás (*Whole Genome Bisulfite Sequencing*)

WUE: Vízfelhasználás hatékonysága (*Water Use Efficiency*)

1. BEVEZETÉS

A globális klímaváltozás korunk egyik legmeghatározóbb környezeti és gazdasági kihívása, amely alapjaiban kérdőjelezi meg a hagyományos mezőgazdasági rendszerek fenntarthatóságát és az élelmiszerbiztonság stabilitását (BISBIS et al., 2018). A klímaváltozás következtében fellépő szélsőséges időjárási események - különös tekintettel az aszályos időszakok gyakoriságának és intenzitásának növekedésére - a termesztett növények számára olyan komplex abiotikus stressz-környezetet teremtenek, amelyhez a genetikai alapok és a konvencionális termesztéstechnológiák csak korlátozottan képesek alkalmazkodni. Ebben a kritikus helyzetben a növénybiológiai kutatások fókusza egyre inkább az olyan innovatív, fizikai alapú kondicionáló eljárások felé tolódik el, amelyek a növények természetes élettani plaszticitását és stressz-adaptációs mechanizmusait használják fel a reziliencia fokozására (MERILÄ, 2012).

A paradicsom (*Solanum lycopersicum* L.) világszerte kiemelt gazdasági jelentőségű kertészeti növény, mely egyúttal a molekuláris növényélettan egyik legfontosabb modellorganizmusa (FAOSTAT, 2024; KIMURA és SINHA, 2008). Gazdasági fontossága és jól dokumentált genomja révén ideális alany a stresszválaszok mögött meghúzódó transzkriptomikai és epigenetikai hálózatok feltárására. A szárazságstressz a paradicsomtermesztés produktivitását leginkább korlátozó tényező, amely a csírázástól a termésképzésig az ontogenezis minden szakaszában kifejti negatív hatását. A vízhiány okozta fiziológiai válaszreakciók, mint a sztómazáródás, a fotoszintetikus hatékonyság romlása és az ebből adódó oxidatív stressz, olyan összetett védekezési stratégiák mozgósítását teszik szükségessé, amelyek jelentős erőforrás-átcsoportosítással járnak, és gyakran a produktivitás mérséklődését eredményezik. Ezért vált szükségessé olyan „priming” módszerek kutatása, amelyekkel a növényi szervezet előzetesen felkészíthető a várható stresszhatásokra (SELEIMAN et al., 2021; ZHOU et al., 2019).

A növénybiológia egyik legmeghatározóbb szemléletváltása az elmúlt évtizedben a növényi emlékezet és a kognitív folyamatok elismerése volt. A növények, rögzített életmódjukból adódóan, nem képesek elmenekülni a kedvezőtlen környezeti feltételek elől, ezért olyan kifinomult biokémiai és molekuláris mechanizmusokat fejlesztettek ki, amelyek lehetővé teszik a környezeti információk tárolását és későbbi felidézését. Ez a szomatikus memória nem egy statikus állapot, hanem a sejtszintű szabályozás dinamikus átrendeződése,

amelynek háttérében komplex epigenetikai folyamatok állnak (TREWAVAS, 2014). A DNS-metiláció és a hiszton-módosítások olyan „molekuláris kapcsolóként” funkcionálnak, amelyek a DNS-szekvencia megváltoztatása nélkül képesek tartósan módosítani a gének hozzáférhetőségét. A teljes genom szintű metilációs vizsgálatok (WGBS) jelentősége éppen abban rejlik, hogy láthatóvá teszik ezeket a rejtett mintázatokat, feltárva, hogyan válik egy átmeneti környezeti hatás - például egy mechanikai ingerlés - maradandó élettani lenyomattá (WIBOWO et al., 2016; ZHANG et al., 2018; GALLUSCI et al., 2023).

A növényi memória kutatása elválaszthatatlan az asszociatív tanulás kérdéskörétől, amely során a növény képessé válik arra, hogy egy semleges környezeti ingert összekapcsoljon egy számára fontos élettani tényezővel, és a későbbiekben már e jelzés hatására proaktív módon módosítsa válaszreakcióit. Ezzel szemben a kereszt-tolerancia az a fiziológiai jelenség, amikor egy adott stresszhatás leküzdése során aktivált védelmi mechanizmusok egy másik, eltérő típusú stresszel szemben is ellenállóvá teszik az egyedet. A fő különbség, hogy az asszociáció külső információkon alapuló tanult viselkedés, míg a kereszttolerancia az átfedő molekuláris jelátviteli útvonalakon nyugvó biokémiai edzettség, amely az általános túlélést szolgálja (GAGLIANO et al., 2016; BHANDAWAT et al., 2020).

Az értekezés központi hipotézise, miszerint az ultrahangos kondicionálás képes intragenerációs memóriát létrehozni, szorosan kapcsolódik a transzkriptomi emlékezet fogalmához. Ez a jelenség túlmutat a pillanatnyi stresszválaszon; lényege, hogy az első ingerhatás (priming) után a növény egy emelt szintű készültséget tart fenn. Ez a „primed” állapot lehetővé teszi, hogy a növény a későbbi, tényleges stresszhelyzetben gyorsabb és energetikailag hatékonyabb molekuláris választ adjon. Kutatásunk során kiemelt figyelmet fordítunk az ismételt ingerek időbeli dinamikájára, hiszen a növényi emlékezet rögzüléséhez elengedhetetlen az ingerek meghatározott rend szerinti ismétlődése. Az ismételt kezelések jelentősége abban áll, hogy ezek képesek a tranziens válaszokat stabil memórianyomokká szilárdítani, megerősítve azokat a jelátviteli útvonalakat, amelyek a szárazságtűrésért felelősek. Jelen értekezés központi témája az ultrahangos kezelés alkalmazhatósága a paradicsom stressztűrő képességének fokozásában. Az ultrahang mint (nem-invazív) fizikai inger, mechanikai vibrációk és kavitációs jelenségek révén képes befolyásolni a sejtek jelátviteli útvonalait, anélkül, hogy vegyszerterhelést jelentene a környezetre. Kutatásunk egyik legfontosabb újdonsága a növényi memória és az asszociatív tanulás koncepciójának

vizsgálata: arra keressük a választ, hogy a növények képesek-e az ultrahangos ingert és a szárazságstresszt egymással összekapcsolni, az egyiket a másik prediktoraként (előjeleként) azonosítva. Ez a képesség lehetővé teszi, hogy a növény ne csupán reagáljon a változásokra, hanem proaktív módon, a korábbi ingerek emlékképei alapján alakítsa ki védelmi stratégiáját.

A transzkriptomi (RNA-seq) és teljes genom szintű metilációs (WGBS) elemzések integrálásával munkánk célja, hogy feltárja azokat a molekuláris ujjlenyomatokat, amelyek bizonyítják az ultrahangos kondicionálást. A kutatás során keressük a választ arra, hogy a fizikai priming képes-e szignifikáns eltolódást okozni a növények génexpressziós profiljában, és hogy ezek az epigenetikai szinten is rögzülő memórianyomok meddig maradnak fenn a növényi szervezetben. Az eredmények nem csupán elméleti jelentőségűek a növényi intelligencia megértésében, hanem közvetlen gyakorlati útmutatást nyújthatnak a klímaváltozás hatásait mérsékelni képes, fenntartható kertészeti technológiák kidolgozásához. A globális adatok hitelességét célzott molekuláris biológiai vizsgálatokkal támasztjuk alá, biztosítva, hogy a transzkriptomikai és epigenetikai szinten azonosított génexpressziós mintázatok módosulásai közvetlen összefüggésbe hozhatók a növényi memória kialakulásával.

A kutatás jelentőségét a gyakorlati hasznosíthatóság és a klímaadaptáció adja. A klímaváltozás okozta aszályos periódusok nem csupán elméleti veszélyt, hanem mindennapi gazdasági realitást jelentenek. Az ultrahangos kezeléshez hasonló, vegyszermentes és fizikai alapú technológiák kutatása kulcsfontosságú a fenntartható mezőgazdaság számára. Ha sikerül bizonyítani, hogy a növények képesek a környezeti ingerek „megtanulására” és egy tartósabb intragenerációs memória fenntartására, az alapjaiban változtathatja meg a növénykondicionálási stratégiáinkat. A kísérleti eredményekből levonható következtetések közvetlenül hozzájárulhatnak olyan precíziós technológiák kidolgozásához, amelyekkel a növények természetes intelligenciáját és adaptív képességeit felhasználva védekezhetünk a szélsőséges környezeti hatások ellen, biztosítva ezzel a kertészeti termelés jövőbeli stabilitását.

2. CÉLKITŰZÉS

Doktori értekezésem központi célja két különböző típusú abiotikus stresszhatás - az ultrahang és a szárazság kezelés - növényi génkifejeződés és epigenetikai mintázatokra (DNS-metilációra) gyakorolt hatásainak feltárása. Kutatásom során a növényi emlékezet molekuláris hátterét és annak gyakorlati alkalmazhatóságát vizsgálom a következő specifikus kérdések mentén:

1. Stressz-specifikus molekuláris mintázatok azonosítása

Annak meghatározása, hogy az alkalmazott stressz-típusok függvényében jelentkeznek-e szignifikáns eltérések a ‘Micro-Tom’ paradicsomfajta transzkriptomikájában és DNS-metilációjában. A génátírásában és DNS-metilációjában az RNA-seq. és WGBS adatok integrált elemzése annak feltárására, hogy az egyes ingerek milyen specifikus molekuláris változásokat okoznak a transzkriptom és az epigenom szintjén.

2. A kezelések kialakítanak-e növényi memóriát?

Annak vizsgálata, hogy a kontrollált körülmények között alkalmazott kezelések kiváltanak-e memóriát és az ilyen válaszok azonosíthatók-e molekuláris szinten. A kutatás ezen része arra irányul, hogy a növény képes-e rögzíteni a korábbi ingereket, vagy csupán átmeneti reakcióról van szó.

3. Ha létezik növényi memória, mi az időbeli dinamikája?

Annak vizsgálata, hogy a stressz-típusok együttes alkalmazása eredményezhet-e intragenerációs memóriát, és hogy az így kialakult memória mennyi ideig marad fenn az egyed életciklusán belül, és az idő múlásával miként módosítják a későbbi stresszválaszokat.

4. Asszociatív tanulás vizsgálata

Annak vizsgálata, hogy létrejöhet-e a növényekben asszociatív memória, ahol az egyik, semleges inger a másik, feltételes inger prediktora lesz. Amennyiben ez bizonyosságot nyer, annak vizsgálata, hogy az asszociatív memória stressz/inger függő-e.

3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

A globális éghajlatváltozás és a kiszámíthatatlan csapadékmintázatok súlyosan veszélyeztetik a mezőgazdasági élelmezésbiztonságot (WHEELER és VON BRAUN, 2013; IPCC, 2023). Mivel a hagyományos nemesítésű fajták csak korlátozottan alkalmazkodnak a fokozódó abiotikus stresszhatásokhoz (ZANDALINAS et al., 2021), elengedhetlenné vált olyan innovatív, fenntartható kondicionáló eljárások kutatása, amelyek a növények természetes fiziológiai plaszticitását használják fel a produktivitás megőrzése érdekében (SAVVIDES et al., 2016).

A kertészeti növények közül a paradicsom (*Solanum lycopersicum* L.) kiemelt jelentőséggel bír, hiszen a burgonya után a második legfontosabb zöldségnövény világszerte (FAOSTAT, 2024). Gazdasági értéke mellett a paradicsom az élettani és molekuláris biológiai kutatások egyik legfontosabb modellorganizmusa (KIMURA és SINHA, 2008). A faj genetikai térképe jól ismert, transzkriptomja szekvenált, ami lehetővé teszi a stresszválaszok mögött meghúzódó génexpressziós hálózatok pontos feltárását (Tomato Genome Consortium, 2012). A kutatások során gyakran alkalmazott ‘Micro-Tom’ fajta törpe növekedése, gyors fejlődési ciklusa és klímakamrai körülmények közötti kiváló adaptációja révén ideális alany a többszörös vagy ismételt stresszhatások, valamint a növényi emlékezet vizsgálatához. A paradicsom stresszbiológiai válaszainak megértése így nem csupán fajspecifikus ismereteket nyújt, hanem referenciaként szolgál más zárvatermő kultúrnövények stressztűrésének fokozásához is (SAITO et al., 2011).

3.1. Vízhány okozta abiotikus stressz a paradicsomtermesztésben

A paradicsom produktivitását és bogyóminőségét számos környezeti tényező befolyásolja, azonban a szakirodalom egyöntetűen a szárazságot nevezi meg a legkritikusabb abiotikus stresszfaktorként (SELEIMAN et al., 2021). A szárazságstressz hatása a növény teljes ontogenezise során megmutatkozik: gátolja a magok duzzadását és csírázását, akadályozza a gyökérzet és a lombozat fejlődését, valamint drasztikusan csökkenti a reprodukív fázis sikerességét (ZHOU et al., 2019). A vízhiány következtében fellépő pollensterilitás és a virágelrűgás közvetlen hozamkiesést eredményez, míg a bogyófejlődés

szakaszában jelentkező vízhiány minőségi romláshoz, például a bogyórepedés vagy a csúcsrothadás (blossom-end rot, BER) kialakulásához vezethet (MEDYOUNI et al., 2021; TOPCU et al., 2022).

Élettani szempontból a szárazság okozta elsődleges kihívás a sejt turgornyomásának fenntartása és a vízpotenciál egyensúlya. A növények a vízhiányra adott válaszként komplex védekező stratégiát alkalmaznak, amelynek első lépése a sztómák záródása (NANKISHORE és FARRELL, 2016). Bár ez a mechanizmus hatékonyan csökkenti a transzspirációs veszteséget, egyúttal korlátozza a mezofill sejtbe jutó szén-dioxid mennyiségét is, ami a fotoszintetikus aktivitás drasztikus csökkenéséhez és a biomassza-produkció visszaeséséhez vezet. A tartós vízhiány emellett megbontja az elektrontranszport-lánc egyensúlyát, reaktív oxigénformák (ROS) felhalmozódását idézi elő, ami sejtszintű oxidatív károsodásokat (lipidperoxidáció, fehérje- és DNS-degradáció) okoz (HASANUZZAMAN et al., 2013).

A szárazság elleni védekezés sikeressége a növény fenotípusos plaszticitásán és az alkalmazott adaptív stratégiák hatékonyságán alapul. A vízhiányra adott válasz nem csupán egy pillanatnyi reakció, hanem egy komplex élettani folyamat, amely közben a növény képessé válik a „stresszmemória” kialakítására (FLETA-SORIANO és MUNNÉ-BOSCH, 2016). Ez a mechanizmus teremti meg a lehetőséget a növényi „priming” alkalmazásához, amely során egy korai, mérsékelt intenzitású inger olyan tartós élettani, biokémiai és molekuláris módosulásokat indukál, amelyek felkészítik a szervezetet a későbbi, súlyosabb stresszhatások kivédésére (HILKER és SCHMÜLLING, 2019). Paradicsom esetében igazolt, hogy a kontrollált vízhiánnyal végzett előkezelés fokozza a későbbi aszálytűrést, mivel optimalizálja a vízfelhasználás hatékonyságát (WUE) és stabilizálja a fotoszintetikus apparátust (ZHOU et al., 2019). Az ilyen típusú adaptív felkészítés nemcsak a túlélést segíti, hanem mérsékelheti a vízhiány okozta drasztikus hozamkiesést is a kritikus fejlődési szakaszokban (SAVVIDES et al., 2016; MA et al., 2025).

3.2. Innovatív növénykondicionálási eljárások: A vegyszermentes, fizikai alapú módszerek térnyerése a precíziós nemesítésben és termesztésben

A modern mezőgazdaság előtt álló kettős kihívás - a növekvő élelmiszerigény kielégítése és a környezeti terhelés radikális csökkentése - szükségessé tette a hagyományos, gyakran

agrokémiail alapú növényvédelmi és kondicionálási stratégiák újragondolását. Az Európai Unió „Termőföldtől az asztalig” („Farm to Fork”) stratégiája és a szigorodó környezetvédelmi szabályozások a növényvédő szerek és műtrágyák használatának jelentős (50%-os) mérséklését irányozzák elő 2030-ig, ami sürgető igényt támaszt az alternatív, fenntartható megoldások iránt (EUROPEAN COMMISSION, 2020). Ebben a tudományos és gazdasági környezetben kerültek az érdeklődés középpontjába az innovatív, fizikai alapú növénykondicionálási eljárások, amelyek nem kémiai anyagok bevitelével, hanem kontrollált fizikai ingerekkel modulálják a növények élettani folyamatait.

Ezek a módszerek -melyeket a szakirodalom gyakran „fizikai priming” néven említ - olyan ingereket alkalmaznak, mint az elektromágneses terek, a hideg plazma, a különböző hullámhosszú lézersugárzás, vagy a mechanikai vibrációk közé tartozó ultrahang kezelés (DUTTA, 2018; KIRÁLY et al., 2025). Ezen eljárások közös jellemzője, hogy kis dózisban alkalmazva nem károsítják a növényi szöveteket (eustressz), hanem aktiválják a növény belső védekező mechanizmusait, ezáltal növelve az abiotikus és biotikus stresszfactorokkal szembeni ellenállóképességet. A fizikai módszerek térnyerését a precíziós termesztésben tovább segíti azok kiváló reprodukálhatósága, automatizálhatósága és a környezeti reziduumok teljes hiánya, ami alapvető elvárás a biotermesztésben és a fenntartható kertészeti rendszerekben (VÁZQUEZ-HERNÁNDEZ et al., 2019).

Az ultrahang (US) alkalmazása ezen eljárások közül az egyik legígéretesebb terület, amely a mechanikai energiát használja fel a sejtbilógiai folyamatok befolyásolására. Az ultrahangos kezelés során a nagyfrekvenciás hanghullámok (20 kHz felett) a közegben haladva mechanikai feszültséget és mikroszkopikus nyomásváltozásokat idéznek elő (DEMEY et al., 2023). Ez a mechanikai ingerlés képes befolyásolni a sejtmembrán permeabilitását, aktiválni a mechanoszenzitív ioncsatornákat és beindítani olyan jelátviteli útvonalakat, amelyek egyébként csak súlyos stresszhatás (például sebzés vagy szárazság) esetén aktiválódnának (HAMAT et al., 2017).

A precíziós nemesítésben és termesztéstechnológiában az ultrahang kezelés két fő irányban fejti ki hatását. Egyrészt közvetlen hatást gyakorol a csírázásélettani folyamatokra: a magok ultrahangos előkezelése során a fizikai behatás apró repedéseket idézhet elő a maghéjon, megkönnyítve a vízfelvételt (imbibíció) és a gázcserét, ami gyorsabb és egyöntetűbb kelést eredményez (MIHAYLOVA et al., 2021; HUANG et al., 2024). Búza

(*Triticum aestivum* L.) esetén bizonyított, hogy olyan géntranszkripció és DNS metiláció változásokat okoz, melynek eredményeképpen fokozott a csíranövények növekedése (HIDVÉGI et al., 2022). Másrészt az ultrahang „priming” ágensként működik, azaz belső válaszreakciók kaszkádját indítja el. Ez az előzetes ingerlés felkészíti a növényi immunrendszert és a stressz-adaptációs apparátust, így amikor a növény egy későbbi, tényleges stresszel (például szárazsággal) találkozik, gyorsabb, intenzívebb és energetikailag hatékonyabb válaszreakciót képes adni (KAWAKAMI et al., 2019).



1. ábra ‘Micro-Tom’ paradicsom modellnövény (Forrás: saját, Nyíregyháza, 2026).

Az ultrahangos technológia adaptálása a kertészeti gyakorlatba ugyanakkor precíz paraméterezést igényel. A frekvencia, az intenzitás és az expozíciós idő optimális megválasztása faj-, sőt fajtaspecifikus, mivel a túl alacsony dózis hatástalan maradhat, míg a túl magas energiabevitel szöveti károsodáshoz és oxidatív stresszhez vezethet (KHAIT et al., 2023; HUSSAIN et al., 2023; KIRÁLY et al., 2025). A ‘Micro-Tom’ paradicsommodell alkalmazása a kutatásokban lehetővé teszi, hogy az ultrahangot, mint „programozható” fizikai ingert vizsgáljuk, feltárva annak lehetőségét, hogy a vegyszermentes kondicionálás

nem csupán a növekedést serkentheti, hanem tartós élettani memóriát kialakítva alapozhatja meg a növények jövőbeli stressztűrését (1. ábra).

3.2.1. Akusztikus ingerek és ultrahang kezelés hatása a növényekre

A növények környezeti ingerekre adott válaszai közül az akusztikus és mechanikai vibrációk érzékelése az egyik legintenzívebben kutatott, újszerű terület. Bár a növények nem rendelkeznek specializált hallószervekkel, evolúciós fejlődésük során komplex mechanorecepciós rendszereket alakítottak ki, amelyek lehetővé teszik a környezetükből érkező fizikai rezgések detektálását és azokra történő adaptív válaszadást (LIU et al., 2017; KHAIT et al., 2019; DOBRÁNSZKI, 2021).

A növények hangérzékelése alapvetően a mechanikai ingerek sejt- és szövetszintű feldolgozásán alapul. A talajból, a vízből vagy a levegőből érkező vibrációk feszültséget generálnak a sejtmembránokban és a sejt falban, aktiválva a mechanoszenzitív ioncsatornákat.

Az ultrahang biológiai rendszerekre gyakorolt hatása egy rendkívül összetett, több szintről építkező folyamat, amely a mechanikai energia és a növényi szövetek közvetlen kölcsönhatásán alapul (BASU és HASWELL, 2017). Bár a növények nem rendelkeznek specializált érzékszervvel az akusztikus ingerek detektálására, számos olyan apparátussal bírnak, amelyek képesek a mechanikai stimuláció érzékelésére. Ezen ingerek feldolgozása a mechanikai behatás intenzitásától függ: míg az alacsonyabb energiájú hullámok a felszíni struktúrákat stimulálják, a nagy amplitúdójú hanghullámok képesek az egész sejtet érintő válaszreakciókat kiváltani. A mechanopercepció molekuláris mechanizmusairól szóló legújabb tanulmányok és modellek szerint a növények három szinten érzékelik és továbbítják a mechanikai erőkből származó információkat: a sejt fal szintjén, a plazmalemma szintjén és a sejt belsejében (2. ábra), amelyet TELEWSKI (2006) citoszkeleton-plazmamembrán-sejt fal kapcsolódási felületként (CPMCW) említ (DOBRÁNSZKI, 2021).

A mechanikai stressz – így az ultrahang is – morfológiai változásokhoz, úgynevezett tigmomorfogenezishez vezethet, amely mögött a citoszkeleton elemeinek polimerizációja vagy az aktinszálak foszforilációs állapotának megváltozása áll. Mivel a citoszkeleton alapvető szerepet játszik a sejtszótódásban és az organellek közötti interakciókban, az

ultrahanghullámok a sejten belüli rezonancia révén közvetlenül befolyásolhatják a sejt szerkezet stabilitását és belső dinamikáját (SIMON et al., 2018; YONEDA et al., 2020;).

A legérzékenyebb szenzoros apparátusok a sejt fal és a plazmamembrán határfelületén (interface) helyezkednek el. Bizonyos fajoknál a trichomák (növényi szőrök) mechanikai antennaként működhetnek, amelyek felerősítik az akusztikus jeleket és segítik a downstream jelátviteli folyamatok elindítását (LIU et al., 2017; MATSUMURA et al., 2022). A mechanikai erő konformációváltozást idézhet elő a mechanoszenzoros fehérjékben, amelyek nemcsak extracelluláris, hanem intracelluláris kötődésekhez is kapcsolódnak (SL3 a 2. ábrán) (DOBRÁNSZKI, 2021). A plazmamembrán, mint rugalmas struktúra, kulcsszerepet játszik ebben a folyamatban: a benne rögzült mechanoszenzitív transzmembrán elemek a hanginger hatására megnyúlnak s elernyednek, megváltoztatva a membrán feszítettségét. Ez a fizikai deformáció ioncsatornák megnyílásához vezet, ami ionáramlást generálva alakítja át a fizikai szignált biokémiai válasszá (HAMANT és HASWELL, 2017).

A folyamat során a sejt fal apró fragmentumai (például oligoszacharidok) is felszabadulhatnak, amelyek a sejt fal-plazmamembrán határfelületén található mechanoreceptorokhoz kötődve módosítják az apoplast és a szimplaszt közötti kémiai és elektromos gradienst (FRULEUX et al., 2019). A mechanikai erők és ingerek közvetlenül hathatnak a sejt falra a pektátszerkezet teherhordó kötéseinek eltorzításával és felbontásával, támogatva és felgyorsítva a növekedést, továbbá Ca^{2+} szabadul fel a gyenge kötésekből (BOYER, 2009) (SL1 a 2. ábrán). A mechanikai ingerek érzékelésében legalább öt mechanoszenzitív ioncsatorna-család és nyúlás-aktivált Ca^{2+} -permeábilis csatorna (MscS-szerű, MCA, TPK, OSCA és Piezo csatornák), transzmembrán fehérjék, valamint a plazmalemmaiban található receptor-szerű kinázok (RLK) vesznek részt (PEYRONNET et al., 2014). A Ca^{2+} , mint másodlagos hírvivő, a jelátviteli folyamatok középpontjában áll, az intra- és extracelluláris pH módosulásával együtt (LI et al., 2019). A mechanikai ingerekre adott rövid távú válaszok a Ca^{2+} -függő pH-változásokhoz és a reaktív oxigénfajták (ROS) termelődéséhez kapcsolódnak (MONHAUSEN et al., 2009), mint plazmalemma transzportfolyamatok (SL2 a 2. ábrán), például a NADPH-oxidáz által közvetített ROS-termelés és a H^+ transzport; ezeket a Ca^{2+} -jelátvitel aktiválja (MONHAUSEN et al., 2013). Ezek módosíthatják a sejt fal nyújthatóságát. A fent leírt Ca^{2+} -jelátviteli útvonalak mellett létezik egy receptor-szerű kináz-függő (RLK-függő) jelátvitel is. Az RLK-k a célfehérjék

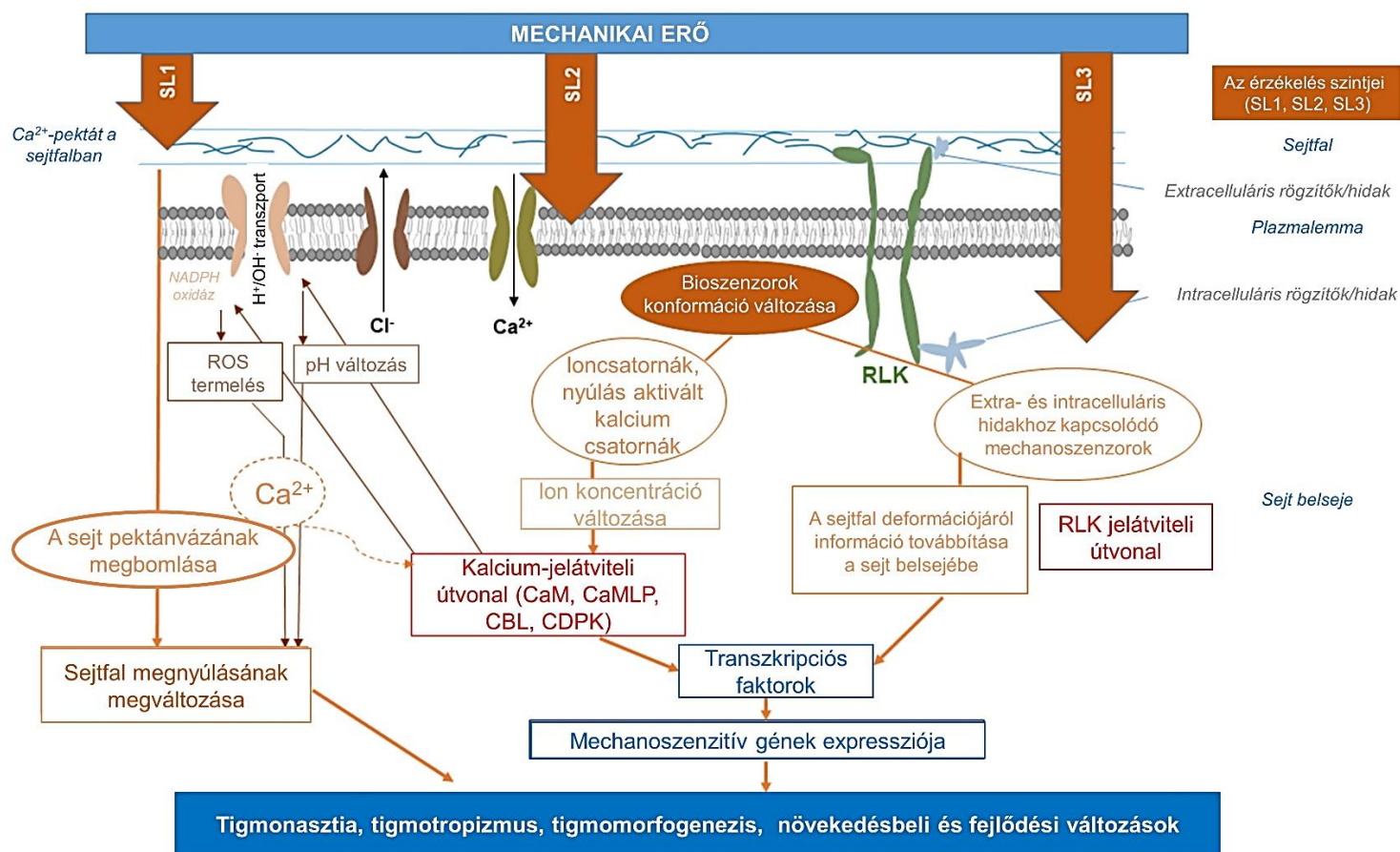
foszforilációján keresztül közvetíthetik a sejt belső részébe a sejtfal deformációjára vonatkozó információkat.

Végezetül, mind a Ca^{2+} -jelátviteli, mind az RLK-jelátviteli útvonalak hatnak a transzkripció faktorokra, és módosítják a mechanoszenzitív gének, valamint a Ca^{2+} -függő csatornák expresszióját, vagy fehérjeszinten hatnak az aktivitás vagy a lokalizáció megváltoztatásával, és tigmonasztiában, tigmotropizmusban, vagy a növekedés és fejlődés módosulásaiban nyilvánulnak meg (MONHAUSEN et al., 2013; PEYRONNET et al., 2014). A mechanikai ingerekre adott jelátviteli útvonalak közösnek tűnnek a kémiai kiváltók jelátviteli útjaival, azaz a külső környezeti jelzéseket és szignálokat az összes bemenet integrálásával, ugyanazon átviteli hálózat használatával dolgozzák fel.

Továbbá, kutatások igazolták, hogy a specifikus frekvenciájú hangingerek befolyásolhatják a gyökérzet növekedési irányát (fonotropizmus), módosíthatják a sztomák vezetőképességét, sőt, fokozhatják a tápanyagfelvételt is (HAMANT és HASWELL, 2017). Az ultrahang kezelés mint abiotikus inger, e mechanikai stimuláció egy intenzívebb, technológiailag kontrollálható formája. Az ultrahang alkalmazása bizonyítottan serkenti a másodlagos metabolitok, például az antioxidáns hatású vegyületek termelését (PESTI-ASBÓTH et al., 2022). Az ultrahangos "priming" így nem csupán egy növekedésserkentő eljárás, hanem egy alkalmas technológia a szárazságtűrés fokozására, mivel előzetesen aktiválja a növény stressz-adaptációs útvonalait.

3.2.2. Az ultrahang priming és a növényi növekedés és fejlődés

A növényélettani kutatásokban az ultrahang kezelés alkalmazása hagyományosan a megnyugalmi állapot megtörésére fókuszált, azonban az utóbbi években a figyelem egyre inkább a fejlődésben lévő, vegetatív stádiumú növények stimulálása felé fordult (JUNG et al., 2020). A már kifejtett levélzettel és aktív fotoszintetikus apparátussal rendelkező egyedek esetében az ultrahang mint abiotikus inger közvetlenül a lombozat és a szár parenchima szöveteiben fejti ki hatását. Ebben a fenológiai fázisban a mechanikai vibrációk nem csupán a vízfelvételt befolyásolják, hanem komplex jelátviteli folyamatokat indítanak el a plazmamembrán mechanoszenzorain keresztül (MONSHAUSEN és HASWELL, 2013).



2. ábra A mechanikai erőhatások érzékelésének és jelátvitelének modellje növényekben; a citoszkeleton-plazmamembrán-sejtfal egység (CPMCW-rendszer) működési vázlata. (Rövidítések: CaM: kalmodulin; CaMLP: kalmodulinszerű fehérje; CBL: kalcineurin B-szerű fehérje; CDPK: Ca^{2+} -függő protein-kináz; RLK: receptorszerű kináz; ROS: reaktív oxigénformák). (Forrás: DOBRÁNSZKI, 2021; szerkesztett).

A szakirodalom rámutat, hogy a vegetatív szövetek akusztikus ingerlése tranziens kalcium-hullámokat generál a citoplazmában, ami alapvető fontosságú a stressz-adaptációs válaszok összehangolásában (MISHRA et al., 2016; JUNG et al., 2018). Ez a folyamat lehetővé teszi, hogy a növény a környezeti fluktuációkat „érzékelje”, és molekuláris szinten felkészüljön a potenciálisan bekövetkező súlyosabb stresszhatásokra.

A kifejlett növényeknél alkalmazott ultrahangos kezelés egyik legmeghatározóbb élettani következménye a gázcsere-paraméterek és a vízfelhasználási hatékonyság modulálása. Kutatások igazolták, hogy a kontrollált intenzitású mechanikai stimuláció képes befolyásolni a sztóma záródást, ami közvetlen hatással van a transzspiráció mértékére és a növény belső vízpotenciáljára. Ezen túlmenően az ultrahangenergia elnyelődése a levelekben fokozza a védekező fehérjék, például a hősokk-fehérjék (HSP) és az antioxidáns enzimek génexpresszióját (GOSH et al., 2016; DOBRÁNSZKI et al., 2019; TEIXEIRA DA SILVA et al., 2020; HIDVÉGI et al., 2020). Ez a mechanizmus az úgynevezett „fizikai priming” alapja, amely során a növény egy enyhe, nem károsító inger hatására egyfajta metabolikus edzettségre tesz szert. Az irodalmi adatok szerint az így előkezelt növények a későbbi abiotikus stresszhatások, például a hőség vagy a vízhiány során gyorsabb és energetikailag hatékonyabb védekezési stratégiát mutatnak, mivel sejtjeikben már jelen vannak a korai válaszreakcióhoz szükséges mRNS-transzkriptek és védőmolekulák (DEMEY et al., 2023).

Az ismételt akusztikus ingerek hatásmechanizmusa a vegetatív fejlődés során szorosan kapcsolódik a növényi emlékezet és a transzkriptomi memória fogalmához. Amikor egy növényi szervezet szekvenciálisan (sorozatosan) találkozik ugyanazzal a fizikai ingerrel, a válaszreakció minősége eltolódhat az érzékenyítés (sensitization) vagy a hozzászokás (habituation) irányába (GAGLIANO et al., 2014). A vegetatív korban végzett kondicionálás során a cél az adaptív memória kialakítása, amely lehetővé teszi a tartós stressztűrést. Ez a folyamat epigenetikai szinten is nyomot hagyhat, módosítva a kromatin szerkezetét bizonyos stressz-specifikus gének környezetében, ami biztosítja, hogy a növény ne csupán az inger pillanatában reagáljon, hanem fenntartsa egy emelt szintű molekuláris készséget (HE és LI, 2018; HILKER és SCHMÜLLING, 2019). Az ultrahang tehát a vegetatív stádiumban egyfajta programozható fizikai szignálként szolgál, amely képes a növényi plaszticitást a környezeti reziliencia irányába tolni (KIRÁLY et al., 2025).

3.2.3. Paraméter-optimalizálás: A frekvencia, az intenzitás és az expozíciós idő jelentősége a biológiai válasz szempontjából

A növényi priming folyamata nem korlátozódik kizárólag egy adott stresszhatás korai észlelésére, hanem különféle exogén fizikai és kémiai ágensek alkalmazásával is mesterségesen indukálható. Ezen innovatív megoldások közé tartozik az ultrahangos kezelés is. Alkalmazhatósága során azonban kritikus kérdés a fizikai paraméterek pontos meghatározása is, mivel a biológiai válasz jellege és iránya alapvetően a bevitt energia mértékétől és minőségétől függ. A szakirodalom rámutat, hogy nincs univerzális, minden növényfajra egyaránt érvényes optimális dózis; a frekvencia, az intenzitás és az expozíciós idő hármasa egy olyan komplex hatásmechanizmust alkot, amelyet az adott genotípus morfológiai sajátosságaihoz kell igazítani (HUSSAIN et al., 2023). A ‘Micro-Tom’ paradicsomfajta, mint törpe növekedésű modellnövény, kompakt szöveti szerkezete és jól definiált fenofázisai révén kiváló alanyt szolgáltat ezen akusztikus paraméterek precíz, kísérleti úton történő validálásához (GASPARINI et al., 2025).

Az optimalizálás elsődleges célja azon biostimulációs tartomány meghatározása, amelyben az akusztikus energia mértéke már eléri a védekező mechanizmusok és a stresszmemória aktiválásához szükséges küszöbértéket, de még nem lépi át a szöveti tolerancia határát. Ebben a szűk intervallumban az ultrahang nem stresszorként, hanem formatív szignálként hat, amely képessé teszi a növényt a homeosztázis fenntartására az intenzív abiotikus kihívások közepette is (TEIXEIRA DA SILVA és DOBRÁNSZKI, 2014). Paprikával végzett vizsgálatok (YAKUPOĞLU, 2023) rávilágítottak arra, hogy az expozíciós idő túlnyújtása vagy a túl nagy akusztikus intenzitás alkalmazása kontraproduktív lehet, mivel a növényi szövetek adaptációs képességét meghaladó energiafelvétel gátolhatja a növekedést. Ezzel szemben a megfelelően kalibrált kezelés szinergikus módon fokozza az antioxidáns kapacitást és a metabolikus aktivitást (PAGANO et al., 2024). Ez az optimalizálási folyamat biztosítja, hogy az ultrahang valódi priming ágensként funkcionáljon, növelve a transzkriptom-szintű plaszticitást anélkül, hogy veszélyeztetné a növény vitalitását.

3.3. A szárazság okozta stresszválasz paradicsomban

A szárazságstressz a paradicsomtermesztés produktivitását leginkább korlátozó környezeti tényező, amely a növény életciklusának minden szakaszában komplex és többszintű adaptációs kényszert vált ki (GROZEVA et al., 2024). A vízhiány érzékelése a gyökérzet és a hajtásrendszer közötti hidraulikus és kémiai jelátviteli folyamatok aktiválásával kezdődik, amelynek elsődleges célja a sejt turgornyomásának és a növény vízháztartási egyensúlyának megőrzése. Ennek a védekezési stratégiának a leggyorsabb eleme a sztómák záródása, amely bár hatékonyan minimalizálja a transzspirációs veszteséget, egyúttal fiziológiai korlátot is szab a fotoszintetikus gázcserének (CONTI et al., 2023). A belső szén-dioxid-koncentráció csökkenése miatt a fotoszintetikus elektrontranszport-lánc egyensúlya felborul, ami reaktív oxigénformák (ROS) felhalmozódásához és potenciális oxidatív károsodásokhoz vezet (CHEN et al., 2025). A paradicsom válaszreakcióit molekuláris szinten az abszcizinsav (ABA) vezérelte jelutak, valamint ABA-független mechanizmusok összehangolt működése szabályozza, biztosítva a növény számára a túléléshez szükséges élettani plaszticitást (XU et al., 2025).

A szárazság elleni védekezés alapja az aktív ozmoreguláció, mely során felhalmozódó ozmoprotektánsok (pl. prolin, glicin-betain) a vízpotenciál csökkentésével biztosítják a vízfelvételt és védik a sejtstruktúrákat a denaturációtól (HAYAT et al., 2012; SELEIMAN et al., 2021; XIE et al., 2023). Ezzel szinergiában a növény egy összetett enzimatikus (pl. szuperoxid-dizmutáz, kataláz) és nem-enzimatikus (pl. aszkorbinsav, glutation) antioxidáns rendszert mozgósít a káros reaktív oxigénformák semlegesítésére (MISHRA et al., 2023; MACHADO et al., 2023; NIYAZOVA et al., 2024). A szárazságtűrést és a metabolikus stabilitást végső soron ezen biokémiai útvonalak aktiválásának gyorsasága és hatékonysága határozza meg a vízhiány során (DERE et al., 2022; MACHADO et al., 2023).

3.4. A növényi emlékezet

Bár paradigmaváltásnak tűnik és a mai napig heves viták tárgya (VAN LOON, 2016; GAGLIANO et al., 2018; CALCO et al., 2020; MALLATT et al., 2021; NICK, 2021), hogy a növények képesek-e tanulni, az első erre irányuló kísérleteket már több mint egy

évszázaddal ezelőtt elvégezték. PFEFFER 1873-ban leírta a *Mimosa pudica* L. érzékenységének csökkenését az ismétlődő mechanikai ingerekre (érintésre) – ezt a jelenséget habituációnak (hozzászokásnak) nevezte. Szintén a múlt század elején BOSE (1906) bebizonyította, hogy a növények képesek különbséget tenni az ingerek között: reagáltak az ujj érintése okozta mechanikai ingerre akkor is, amikor a vízcseppek okozta ingerhez már hozzászoktak.

GAGLIANO és munkatársai (2014) kimutatták, hogy a *Mimosa pudica* L. leveleinek összezáródása ismételt fizikai stimuláció hatására megszűnt. A mimóza gyors levélzárása egy védekezési taktika a növényevők ellen. Amikor azonban a mechanikai ingerlés ismételten, de növényevő támadása nélkül történt, a növény megtanulta nem összezárni a leveleit. Ez az emlék tartósnak bizonyult, azaz a növény még 28 nap elteltével is emlékezett a megszerzett információra.

2017-ben REED-GUY és munkatársai szintén vizsgálták a mimóza levélzáródási idejét érintés után, és azt találták, hogy bizonyos esetekben a zárvatartás ideje a próbák számával növekedett, ami arra utal, hogy szenzitizáció (érzékenyebbé válás) is előfordulhat. Ez az eredmény nem cáfolta GAGLIANO és társai megállapításait (2014), mivel az ingerekre adott válasz függ azok erősségétől és a kitettség időtartamától. Az ezekben a kísérletekben alkalmazott ingerek, az érintések száma és az időtartam eltérő volt.

A tanulás – funkcionális megközelítésben – egy élőlény vagy akár egy mesterséges rendszer vagy részrendszere tartós és adaptív változásaként írható le, amely a környezettel való interakció eredményeként jön létre. A tanult viselkedés akkor alakul ki, ha az elősegíti a növekedést és a szaporodást az aktuális környezeti feltételek mellett. A tanulás továbbá feltételezi az emlékezet jelenlétét a megszerzett információ tárolásához. A növényi emlékezet a növények azon képességére utal, amellyel az ingereknek való korábbi kitettség után információkat tárolnak és hívnak le, növelve ezzel az életképességüket (fitness). A növények számára a múltbeli tapasztalatokból származó információk megőrzése előnyös lehet a későbbi alkalmazkodáshoz, máskor viszont hátráltathatja a regenerációt vagy a fejlődést, ezért bizonyos körülmények között a memória „törlése” válik szükségessé (HILKER et al., 2016). A kromatinállapot visszaállításához és az epigenetikai memória törléséhez speciális ellenőrzőpontokra van szükség, amelyekben kulcsszerepet játszanak a DDM1 és MOM1 fehérjék, megakadályozva például a transzgenerációs emlékezet

kialakulását (IWASAKI és PASZKOWSKI, 2014). A memória törlésének mechanizmusa a tárolás formájától függ: a fehérje alapú információk fehérjedegradációval (HILKER és SCHMÜLLING, 2019), míg az RNS-alapú memóriák (pl. mikro-RNS-ek felhalmozódása) az RNS-metabolizmus, például exonukleázos lebontás vagy géncsendesítési útvonalak (PTGS, RdDM) révén törlődnek (CRISP et al., 2019; CHRISTIE et al., 2011). A hisztonmódosításokban (pl. H3K27me3) tárolt információk gyakran a fejlődési fázisváltások során, például az embriogenezis korai szakaszában íródnak felül a transzkripció reaktiváció érdekében. Bár az egyeden belüli (intergenerációs) epigenetikai jelek fenntartása alapvető a fejlődéshez, a generációk közötti öröklődés megakadályozására irányuló törlési mechanizmusok pontos szabályozása még nem teljesen tisztázott (BORG et al., 2020). Ez az információtároló és törlő kapacitás teszi lehetővé a növények számára, hogy megbirkózzanak a jelenlegi és későbbi környezeti változásokkal (HILKER és SCHMÜLLING, 2019; COOPER et al., 2022; HARRIS et al., 2023).

A növények ideális növekedési feltételei fajonként változnak. Minden környezeti paraméter leírható egy haranggörbével, amely megmutatja az optimális, a szuboptimális és a letális (halálos) körülményeket. Természetesen a növények képesek kedvezőtlen feltételek mellett is növekedni, de ez komoly hátrányt jelenthet a szaporodás és a termés hozam szempontjából. Bármilyen biotikus (baktériumok, vírusok, gombák, kórokozók) vagy abiotikus (szárazság, só, hőség, hideg, érintés, szél, sérülés stb.) környezeti jelzés és szignál stresszforrássá válhat. A stressz a növekedés különböző szakaszaiban jelentkezhet, ezért a hatása a növény állapotától függően változhat.

A stresszorok olyan molekuláris eseményeket indíthatnak el, amelyek középpontjában epigenomikai változások állnak – beleértve specifikus transzkriptomikai változásokat is –, és ezek memória kialakulásához vezethetnek a növényekben. A növény válaszreakcióját tekintve – a stressz/inger/jel észlelésétől a feldolgozáson át az emlékező képesség kialakulásáig – létezik egy térbeli szerveződési hierarchia, amely az ökológiai, a teljes növényi, a citológiai-biokémiai, valamint a molekuláris (beleértve a kromatin és a transzkriptoma) szinteket foglalja magában (GALVIZ et al., 2022).

3.4.1. Stressz-priming és memória: Hogyan „emlékeznek” a növények?

Az inger minden olyan külső vagy belső környezeti változás (szignál), amelyet a növény érzékelni képes és amelyre biológiai választ ad. Ezzel szemben a stressz olyan inger (vagy ingerek összessége), amely mértéke vagy tartama miatt már kimozdítja a növényt a fiziológiai egyensúlyi állapotából, és a normál életműködésektől eltérő, jelentős energia-befektetéssel járó adaptációs válaszokat kényszerít ki. Minden stresszhatás egyben inger is, hiszen a növénynek először érzékelnie kell azt, de nem minden inger minősül stressznek (LICHTENTHALER, 1996).

A növényi élettan egyik legizgalmasabb és legdinamikusabban fejlődő területe a környezeti ingerekre adott válaszok időbeli dimenziójának kutatása, amely rávilágított arra, hogy a növények nem csupán reaktív módon válaszolnak a jelenben ható stresszre, hanem képesek a korábbi informatív ingerek/tapasztalataik integrálására is. Az elsődleges inger és a későbbi kiváltó inger közötti időbeli eltérés ezért megköveteli az információk tárolását és fenntartását (LICHTENTHALER, 1996; HILKER és SCHMÜLLING, 2019). A növényi memória fogalma ezen adaptív képességet takarja: a szervezet képes az elszenvedett stresszhatások információit tárolni, majd azokat egy későbbi időpontban a túlélési esélyek javítására felhasználni (THELLIER és LÜTTGE, 2013).

Az emlékezet jelenlétéről nemcsak a növények esetében számoltak be, hanem az élőlénycsoportok széles körénél, beleértve a mikrobákat (ALEKLETT és BODDY, 2021; ZHANG et al., 2023), a gerincteleneket (MILUTINOVIĆ és KURTZ, 2016) és a gerinceseket is (SHARROCK és SUN, 2020). A komplex idegrendszerrel rendelkező élőlényeknél az emlékezeti tárolás alapvetően a sejtek közötti érintkezés speciális helyszínein (az idegrendszeren belüli idegsejteket összekötő szinapszisokon) és azok változásain alapul (MARTIN et al., 2000; ROSENBERG et al., 2014). Más országokban (beleértve a gombákat – különösen a *Saccharomyces cerevisiae* élesztőgombát –, a baktériumokat és a növényeket) is végeztek vizsgálatokat, hogy feltárják a "priming" (felkészítés/előfeszítés) és a memóriaképzés mechanizmusainak mélységeit.

Azon élőlények esetében, amelyek nem rendelkeznek idegrendszerrel, az emlékezet általános fogalmára vonatkozó ismereteink még gyerekcipőben járnak (HILKER et al., 2016). Ezen organizmusoknál az emlékezetet két fő kategóriára osztják: külső és belső, azaz

szomatikus memóriára. A külső memória a külső környezetben elhelyezett jelekre utal (például a sokfejú nyálkagombák elkerülik azokat a helyeket, ahol korábban nyálkát hagytak hátra), míg a szomatikus memória nem genetikai jellegű sejtfiziológiai és/vagy epigenetikai változások eredménye (REID et al., 2012; SOLÉ et al., 2019).

Ez az emlékezet növények esetében sem idegi alapú, hanem sejt- és molekuláris szintű folyamatok hálózatára épül, amely lehetővé teszi, hogy a növény „tanuljon” a környezeti fluktuációkból (TURGUT-KARA et al., 2020). Az emlékezet tartóssága és jellege alapján több szintet különíthetünk el, kezdve a rövid távú, szomatikus memórián (amely az egyed élete során, vagy egy szakaszán marad fenn), továbbá az intergenerációs memórián át (mely a következő nemzedéknél is fennmarad), egészen a transzgenerációs emlékezetig, amely során a stressz-információ a több utódnemzedékbe is átöröklődik (VIRLOUVET és FROMM, 2015; CONRATH et al., 2015; HE és LI, 2018).

A növényi emlékezet egyik legközvetlenebb formája a szomatikus memória és a stressz-priming, amely során az első, gyakran enyhébb inger (stressz, pl. szárazság) egy olyan tartós nyomot hagy a szervezetben, amely alapjaiban módosítja a későbbi, akár súlyosabb stresszhatásra adott választ (CONRATH et al., 2006; LÄMKE és BÄURLE, 2017). Ez a folyamat biztosítja a növényi plaszticitás fenntartását, lehetővé téve, hogy az ismételt ingerekre adott reakció ne egy energetikailag költséges, teljes körű stresszválasz legyen, hanem egy finomhangolt, optimalizált alkalmazkodás (HILKER et al., 2016). Az emlékezet ezen formája teszi lehetővé a „stressz-edzettség” kialakulását, ahol a növény molekuláris apparátusa egyfajta készenléti állapotba kerül az első stresszhatás után, biztosítva a gyorsabb és hatékonyabb adaptációt az ismétlődő stresszre (MAUCH-MANI et al., 2017; GALVIZ et al., 2020).

Az akklimatizáció, az edzés (hardening), az ismerőssé válás (familiarization) vagy a tréning szinonimákat olyan esetekben használják, amikor az első stresszhatásnak vagy ingernek való kitettség ismétlődő jellegű. A folyamatos stressz megváltoztatja a növény környezeti ingerekre adott válaszreakciójának intenzitását. Abban az esetben, ha a válaszreakció ereje csökken – vagyis a növény megtanulja figyelmen kívül hagyni az ártalmatlan ingert –, az ismerőssé válás és a habituáció kifejezéseket alkalmazzák (THELLIER és LÜTTGE 2013; GALVIZ et al., 2022). Az ismétlődő ingerek detektálása során a növény egyfajta molekuláris összehasonlítást végez: az aktuális inger paramétereit

veti össze a tárolt imprinting nyomokkal. Ha az inger megegyezik a korábbival, a memória-alapú válasz lép életbe, amely gyakran a védekező fehérjék, például a chaperonok vagy antioxidáns enzimek célzottabb és energiatakarékosabb termelését jelenti (WALTERS és HEIL, 2007; FRIEDRICH et al., 2019). Ez a stratégia megvédi a növényt a „stressz-kimerültségtől”, mivel elkerüli a felesleges, teljes körű metabolikus átrendeződést olyan ingerek esetén, amik ártalmatlanok (BRUCE et al., 2007; AVAMORA, 2015). Ez a folyamat tehát egy dinamikus élettani szűrőként is funkcionál, amely a környezeti zajból kiemeli a növény túlélése szempontjából releváns, visszatérő fenyegetéseket, és tartós rezilienciát biztosít anélkül, hogy a növekedési és fejlődési folyamatokat tartósan gátolná (VAN HULTEN et al., 2006).

Bizonyos esetekben a válaszkészség csökkenése az effektor (végrehajtó szerv) fáradtságának vagy szenzoros adaptációnak tulajdonítható, így ezen alternatív magyarázatok kizárásához bizonyos tesztekre lehet szükség. Az effektor mechanizmusok létfontosságúak a válaszreakciók megfelelő működéséhez. Effektor fáradtság akkor következik be, ha ezek a funkciók nem tudnak megfelelően működni (például kavitációs fáradtság a napraforgóknál, a válaszrendszerek kimerülése miatt) (STILLER és SPERRY, 2002). A fáradtság kizárására az úgynevezett „diszhabituáció” eljárást alkalmazzák, melynek során a növények egy másodlagos ingert kapnak, amely kiváltja a célreakciót. Ha a másodlagos ingerrel történő kezelés után az eredeti inger ismét a korábbi eredményeket mutatja, az effektor fáradtság kizárható (ABRAMSON és CHICAS-MOSIER, 2016). Más esetekben, amikor a tartós stresszhatás eredményeként az érzékelőszervek változnak meg, szenzoros adaptációról beszélünk. A szenzoros adaptáció arra a jelenségre utal, amikor az ingernek való kitettség után az érzékenység csökkenése következik be (például alacsony szintű auxinnak való kitettség után a kukorica koleoptil-szegmensének válaszkészség-növekedése nem volt párhuzamos a hormonfelvétel mértékével) (VESPER és EVANS 1978). Amennyiben az ingereknek való folyamatos kitettség után a válaszreakció intenzitása növekszik, szenzitivizációról (érzékenyítésről) beszélünk. Szenzitivizáció esetén egy kellemetlen vagy fájdalmas inger hatására a növények egyre hevesebb reakciókat mutathatnak (THELLIER és LÜTTGE 2013).

A növényi stressz-priming és a memória kialakulásának folyamata során a növényi szervezetben egy strukturális és funkcionális átrendeződés megy végbe, amely az első

stresszhatás lecsengése után is fennmarad (KOVALCHUK, 2023). Ez a „nyugalmi állapotú emlékezet” biztosítja, hogy a növény ne térjen vissza a stressz előtti naiv állapotba, hanem egy magasabb készenléti szinten, az úgynevezett primed állapotban kerüljön.

Egy inger négy fő típusú változást eredményezhet a növényben: fiziológiai, transzkripció, metabolikus és epigenetikai változásokat. Bár ezen változások többsége az eredeti inger megszűnésével eltűnik, bizonyos módosulások tartósak maradhatnak, ami memória kialakulásához vezet (MAUCH-MANI et al., 2017).

A fiziológiai változások közé tartozik például a fitohormonszint ingadozása (pl. az abszizinsav (ABA), a jázmonsav (JA) bioszintézisének és más abiotikus stresszhez kapcsolódó gének fokozott expressziója szalicilsavas kezelés vagy hideg-priming, majd azt követő enyhe fagyási stressz után) (WANG et al., 2021). A priming okozta transzkripció változások csoportjába a transzkripció faktorok, valamint a (megváltozott vagy fenntartott) poszt-transzkripció módosítások tartoznak. A metabolikus változások közé soroljuk például a Ca^{2+} - és a ROS-szint (reaktív oxigénfajták) eltolódásait (YANG et al., 2022). Az első inger hatására olyan jelátviteli molekulák, mint a mitogén-aktivált protein-kinázok (MAPK) vagy specifikus transzkripció faktorok, inaktív, de könnyen mobilizálható formában halmozódnak fel a citoplazmában vagy a sejtmagban (BECKERS et al., 2009; CONRATH et al., 2015). Amikor a növény egy második, ismételt ingerrel találkozik, ezek a már jelen lévő komponensek lehetővé teszik a jelátviteli kaszkád azonnali, robbanásszerű aktiválódását, kikerülve a lassabb, *de novo* szintézist igénylő lépéseket (JASKIEWICZ et al., 2011). Ez a fiziológiai „gyorsítás” alapozza meg a növényi memória hatékonyságát, ahol a válaszadás sebessége és intenzitása nagyságrendekkel felülmúlja a kontroll egyedek reakcióját (MAUCH-MANI et al., 2017).

A stresszmemorizálás egy másik csoportosítási lehetősége a molekuláris mechanizmusokon alapul. E kategória szerint az epigenetikai folyamatok (DNS-metiláció és hiszton poszt-transzláció módosítások), a szabályozó fehérjék módosulásai, valamint a látens jelzővegyületek (molekulák, kulcsfontosságú metabolitok) felhalmozódása hozzájárul a növényi memóriához, amely akár az utódoknak is átadható. Ezen változások időtartama főként a priming stressz jellegétől és hosszától, valamint a mögöttes mechanizmusoktól függ (LIU et al., 2022).

A fenotípus kialakításában nemcsak genetikai, hanem epigenetikai mechanizmusok is szerepet játszanak. Együttműködésük eredménye a fenotípusos variancia, amely lehetővé teszi a növények számára, hogy a környezeti változásokra reagálva módosítsák növekedési viselkedésüket (DOPP et al., 2021). E folyamat során a környezeti hatásokra adott specifikus epigenetikai válaszok képezik a „tervrajzot”, amely révén a növény alkalmazkodni tud a környezeti változásokhoz. A kromatin-szerkezet dinamikus átrendeződése jelenti azt a közvetítő közeget, amely a külső jeleket stabil, de reverzibilis molekuláris módosításokká fordítja le. Ez a szabályozási szint közvetlenül meghatározza a gének hozzáférhetőségét, aminek eredményeként a megváltozott génátírási mintázatok alakítják ki az adott környezethez adaptált aktuális fenotípust (DOPP et al., 2021; GALLUSCI et al., 2023).

Magát a megváltozott transzkripciós választ elsődlegesen az epigenetikai módosítások (így pl. a DNS-metilációs mintázatok változásai és a hisztonok poszttranszlációs módosításai) határozzák meg, amelyeket a szabályozó fehérjék szintjének eltolódása, a specifikus jelzőmolekulák és metabolitok felhalmozódása, valamint a génexpressziót finomhangoló transzkripciós visszacsatolási hurkok egészítenek ki (SAZE, 2008).

A génexpresszió (génkifejeződés) szintje a DNS nukleotid-szekvenciájának természetétől (genom) és annak epigenetikai állapotától (epigenom, epigenetikai memória) függ. Az epigenom egy gyűjtőnév, amely magában foglalja a kromatin összes epigenetikai jelölését; ezek olyan DNS-en bekövetkező kémiai változások eredményei, amelyek nem módosítják a DNS bázissorrendjét, de megváltoztatják a gének átírását (transzkripcióját) (GUARINO et al., 2022). Az epigenom állapota határozza meg a gének elcsendesítését (silencing) vagy aktiválását az eu- és heterokromatin állapotok módosításával. Eukromatin elrendeződés esetén a kromoszóma szerkezete lazább, a DNS nincs szorosan a hisztonfehérjékhez kötve. Ebben az elrendeződésben a génexpresszió aktív lehet a megfelelő transzkripciós faktorok jelenlétében, mivel az átíró gépezet hozzáfér a DNS-hez. Ezzel szemben a heterokromatin tömörebb, és általában kevésbé hozzáférhető a sejtszintű és transzkripciós folyamatok számára; az ilyen szerkezetű kromatinról nem történik génexpresszió, így a gének elnémulnak. A kromatinszerkezet átrendeződése többféle módon is végbemehet (GUARINO et al., 2022). Az epigenetikai memória kromatin-remodellingből, hiszton-módosításokból, DNS-metilációból, nukleoszóma-felosztásból és nem-kódoló RNS-közvetített szabályozásból áll, ami egy rendkívül összetett rendszert alkot (WIBOWO et al., 2016;

ZHANG et al., 2018; GALLUSCI et al., 2023;). A legújabb „omikai” kutatások alapján a növényi memória „tervrajza” az epigenomban található (AGIUS et al., 2023). Ennek módosulása a génexpresszió megváltozásán keresztül hat, ami olyan anyagcsere- és élettani elmozdulásokat eredményez, amelyek a növény életképességének és stressztűrésének növeléséért felelősek. A metiláció, acetiláció és egyéb epigenetikai jelek eltérő eloszlásával és szintjével rendelkező, létező epigenetikai mintázatok epi-alléleket hozhatnak létre, amelyek stabilan öröklődnek a jövő nemzedékekre (CANDELA-FERRE et al., 2024).

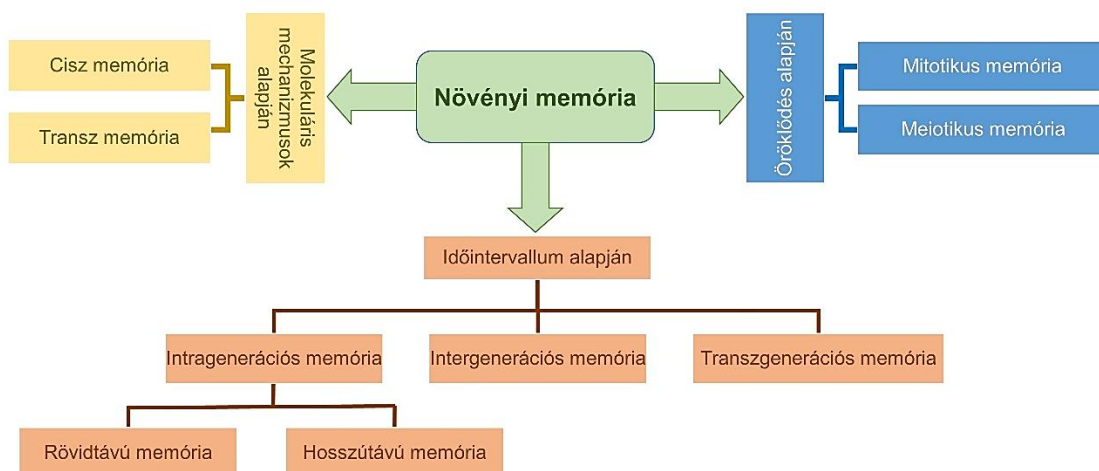
3.4.2. Növényi memória típusai

A növényi emlékezet típusai többféleképpen csoportosíthatók az öröklődés, a génaktiváció vagy -csendesítés időtartama, valamint a molekuláris mechanizmusok alapján. Az öröklődés szerint mitotikus és meiotikus memória kategóriákat különíthetünk el (SAZE, 2008, 3. ábra).

A mitotikus memória klonális szaporodás és mitotikus sejtosztódások révén marad fenn. Bizonyos esetekben ez megegyezik a szomatikus vagy intragenerációs (generáción belüli) memóriával, mivel főként a faj aktuális generációját érinti. Ez a memóriatípus – amely akár a növény teljes élettartama alatt kitarthat – stresszindukált és főként transzkripciós alapú (BRENDA et al., 2021; LIU et al., 2022; GARAI és SOPORY, 2023). Fontos megjegyezni, hogy e folyamat hátterében is állhatnak epigenetikai módosulások, azonban ezek általában átmeneti jellegűek, és a stresszhatás megszűnését követően gyorsan reverzibilissé válnak, lehetővé téve a fiziológiai rugalmasságot (3. ábra).

A meiotikus memória a jövőbeni ivaros generációkra is hatással lehet, mivel a meiotikus sejtosztódásokon keresztül is fennmarad (LIU et al., 2022). Ez az emlékezet az elkövetkező néhány nemzedékben is kitarthat anélkül, hogy az utódokat ismételtén kitennék az adott stresszhatásnak (BRENDA et al., 2021). Érdekes, hogy a patogén flagellin peptiddel vagy UV-C sugárzással kezelt *Arabidopsis* növényeknél megemelkedett homológ rekombinációs szintet tapasztaltak (RIES et al., 2000; LUCHT et al., 2002). Az ilyen, emelkedett homológ rekombinációval rendelkező egyedek kezeletlen utódai ugyanezeket a tulajdonságokat mutatták négy vagy akár több generáción keresztül is. Ez az eredmény arra utal, hogy az epigenetikai memória domináns tulajdonságként viselkedik, amely meiotikus úton (legyen

az anyai vagy apai ágú) örökíthetővé válhat a következő nemzedékek számára (DANCHIN et al., 2019; 3. ábra).



3. ábra A növényi memória osztályozási rendszere a molekuláris mechanizmusok, az öröklődés típusa és az emlékezet időbeli tartóssága alapján. (Forrás: saját szerkesztés)

Az emlékezet megtartásának időtartama alapján a memória három fő osztályát különböztetjük meg: az intra-, inter- és transzgenerációs memóriát. Az intragenerációs memória az egyedi növényt érinti, és egyetlen generáció élettartama alatt zajlik le. Amennyiben az emlékezet felidézése csak korlátozott ideig tart, rövid távú memóriának nevezzük (ez általában néhány naptól pár hétig terjed). Ezzel szemben a hosszú távú memória esetén a tárolt információ az aktuális életcikluson belül több fejlődési szakaszon keresztül is fennmaradhat (LIU et al., 2022; GARAI et al., 2023).

Ezen memóriatípusok stabilitását eltérő epigenetikai mechanizmusok biztosítják (1. táblázat): míg az egyedi szintű (szomatikus) válaszoknál a miRNS-ek gyors szabályozása és a rugalmas hiszton-módosítások a meghatározóak, az intergenerációs átadás során már az anyai ági kisméretű RNS-ek és az embrió saját hiszton-mintázatának átrendeződése válik hangsúlyossá. A legstabilabb, transzgenerációs emlékezet rögzüléséért az RdDM-útvonalon keresztül megvalósuló, elsődleges DNS-metiláció felel, amely a korábbi ideiglenes változásokat stabil, örökíthető információvá alakítja (1. táblázat). Ez a hierarchikus felépítés magyarázza, hogy az intergenerációs memória miért csupán a közvetlen utódra terjed ki, míg a transzgenerációs memória miért képes két vagy több nemzedéken át is megmaradni,

anélkül, hogy az utódokat újabb ingereknek tennék ki. Egyre több bizonyíték mutatja, hogy e két kategória elkülönítése szükséges, mivel az alkalmazott molekuláris mechanizmusok stabilitásától függően egy adott inger emléke több nemzedéken keresztül fokozatosan elhalványulhat (LIU et al., 2019).

1. táblázat Az intra-, inter- és transzgenerációs memória molekuláris hátterének összehasonlítása. (Forrás: saját szerkesztés)

Memória típusa	Időtartama	Hisztón-módosítások	DNS-metiláció	sRNS szabályozás
Intragenerációs (Szomatikus)	Egyeden belül (napoktól teljes élethosszig)	Domináns (pl. H3K4me3)	Ideiglenes (instabil)	miRNS (gyors szabályozás)
Intergenerációs	Szülő és F1 utód	Embrió-specifikus mintázatok	Átmeneti módosulások	Vándorló siRNS és miRNS (anyai ági)
Transzgenerációs	F2+ generációk	Kiegészítő szerep	Elsődleges (stabil)	24nt siRNS (RdDM útvonala)

3.4.3. Transzkripció memória

A transzkriptomi emlékezetről akkor beszélünk, ha egy korábbi stresszhatás eredményeképpen megváltozott génkifejeződési mintázatot tart fenn a növény, illetve egy ismételt inger hatására az előzőtől eltérő transzkripciós választ ad. Ez a molekuláris szintű bevésoedés alapvetően határozza meg a növény későbbi reakcióit, hiszen az első alkalommal tapasztalt stresszhatás során végbemenő transzkripciós átrendeződés egyfajta „molekuláris lenyomatot” hagy a genomban (AVRAMOVA, 2015; CRISP et al., 2016). Ennek következtében a növény egy ismételt ingerrel találkozva már nem egy érintetlen, hanem egy előhangolt (primed) apparátussal válaszol, ami lehetővé teszi a korábbi tapasztalatok érvényesítését a génműködés szintjén (AVRAMOVA, 2015; HARRIS et al., 2023).

A transzkriptomi emlékezet mechanizmusa két alapvető válaszmintázatban nyilvánulhat meg: a szenzitizáció és a habituáció folyamatában BRUCE és munkatársai szerint (2007). Szenzitizáció esetén az előzetes ingerlés hatására a növény képessé válik arra, hogy egy későbbi, hasonló jellegű környezeti terhelésre sokkal intenzívebb és gyorsabb génexpressziós

választ adjon (HILKER et al., 2016). Ebben az esetben a transzkripció gépezet már „élesített” állapotban van, a specifikus hírvivő RNS-ek felhalmozódása pedig nagyságrendekkel hatékonyabb, mint a korábban ingerlésnek ki nem tett egyedeknél. Ezzel szemben a habituáció során a növény egyfajta molekuláris toleranciát alakít ki, amelynek köszönhetően a visszatérő inger már nem vált ki drasztikus, energetikailag megterhelő válaszreakciót, lehetővé téve a homeosztázis gyorsabb helyreállítását és az erőforrások optimálisabb elosztását (GALVIZ et al., 2020). Ez a típusú emlékezet szoros összefüggésben áll a transzkripció faktorok és a kromatin szerkezetének tartós módosulásával. Az első ingerhatás során bizonyos géncsoportok promóter régiói hozzáférhetőbbé válnak - például a H3K4me3 vagy H3K27me3 hiszton-módosítások révén - a transzkripció apparátus számára, és ez a nyitott állapot az inger megszűnése után is, egy meghatározott ideig fennmaradhat (LÄMKE és BÄURLE, 2017). Ez a „nyitott kapu” mechanizmus biztosítja, hogy az ismételt ingerléskor a jelátviteli útvonalak végpontjai közvetlenül és akadálytalanul kapcsolódhassanak a célgénekhez. A transzkriptomi memória tehát nem csupán a gének pillanatnyi be- vagy kikapcsolását jelenti, hanem a genom válaszkészségének hosszú távú kalibrálását, amely a növény számára stratégiai előnyt biztosít a kiszámíthatatlanul változó környezeti feltételek, például az ismétlődő szárazsági periódusok vagy mechanikai ingerek elviselésében (KAPPEL et al., 2023).

OBERKOFER és munkatársai (2021) kutatásaikban rávilágítottak, hogy ezek a folyamatok a transzkripció memória körébe sorolhatók, amelynek két alapvető típusát különíthetjük el a kiváltó inger és az expressziós szint időbeli kapcsolata alapján (4. ábra).

Az 1-es típusú, vagy tartós indukciós memória lényege, hogy a génexpresszió időtartama túlnyúlik magán a kiváltó ingeren. Ebben az esetben a génkifejeződés szintje az első stresszhatást követően nem tér vissza az eredeti alapvonalhoz, hanem tartósan magasabb vagy alacsonyabb marad, fenntartva a módosult állapotot a stressz megszűnése után is (OBERKOFER et al., 2021).

Ezzel szemben a 2-es típusú transzkripció memória, az úgynevezett módosított újraindukció során a génexpresszió az ingerek között visszatér az alapállapothoz. A memória jelenléte itt abban mutatkozik meg, hogy egy ismételt, hasonló stresszhatás esetén a válaszreakció mértéke már jelentősen eltér a naiv (első) választól: a növény fokozott vagy éppen mérsékelt reakcióval „emlékezik” a korábbi tapasztalatra.

A 2-es típusú memória négy altípust foglal magában (DING et al., 2013), attól függően, hogyan változik az expresszió a kiváltó (priming) inger, majd az ismételt stimulus hatására (4. ábra):

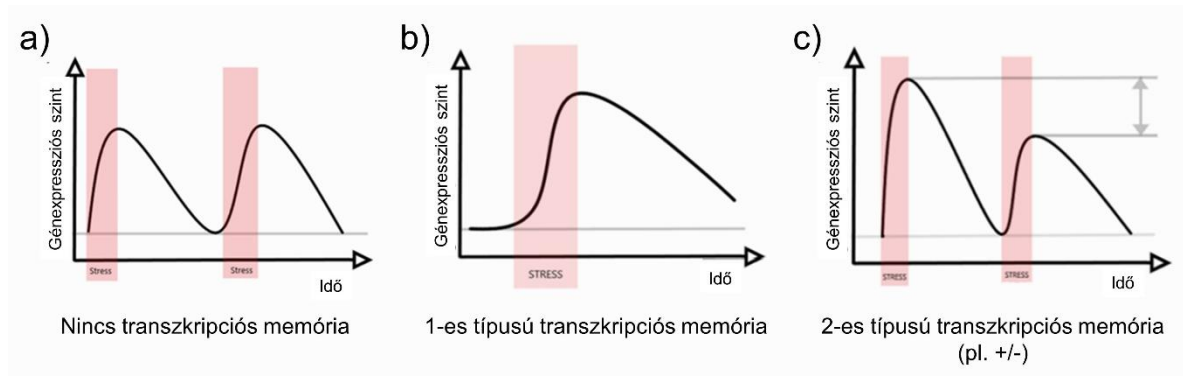
1. A $+/+$ mintázat (fokozott válasz): Ez a típus a védelmi funkciók hatékonyabb mozgósítását szolgálja. A priming utáni magasabb expressziós szintet az ismételt inger hatására egy még intenzívebb génkifejeződés követi. Jellemző példája ez az abiotikus stresszkezeléseknek, például amikor a szalicilsavas vagy hidegkezelés után a növény fokozott abszcizinsav- (ABA) vagy jázmonsav-szintézissel (JA) reagál a fagyra. Hasonló folyamat zajlik le a hősokk-fehérjék és chaperonok képződésekor, vagy az ozmopriminget követő dehidrin-felhalmozódás során (VIRLOUVET et al., 2015).
2. A $+/-$ mintázat: Ebben az esetben a kezdeti emelkedett expressziós szintet egy mérsékeltebb másodlagos válasz követi. Ez a minta főként a dehidratációs stressz memóriagénjeire jellemző (pl. ABA, auxin, gibberellinsav útvonalak), valamint bizonyos membránhoz kapcsolódó fehérjék expressziójánál figyelhető meg.
3. A $-/+$ mintázat: Itt a priming hatására az expresszió az alapvonal alá süllyed, majd az ismételt inger hatására a naiv szintnél magasabbra emelkedik. Bár ehhez a csoporthoz kevésbé rendelhető specifikus sejtszintű stratégia, a gének többsége a kloroplasztisz és a membránépítés funkcióihoz köthető.
4. A $-/-$ mintázat (csökkentett válasz): Ez a folyamatos visszاسzorítás mintázata, ahol a génexpresszió mind a priming, mind az ismételt inger után elmarad az alapszinttől. Elsősorban az energiaigényes folyamatok – mint a fotoszintézis, a keményítő-szintézis vagy a riboszómális funkciók – korlátozása során figyelhető meg, segítve a növényt az erőforrások átcsoportosításában.

Fontos kiemelni, hogy e kategóriák nem merevek: ugyanazok a géntermékek több alcsoportba is tartozhatnak. A kifejeződés pontos mintázatát és mértékét ugyanis alapvetően meghatározza az adott stressz típusa, az érintett faj sajátosságai, sőt a növény aktuális fejlődési (fenológiai) fázisa is (DING et al., 2013, 4. ábra).

A gének kifejeződési szintjének ezen tartós eltolódása biztosítja, hogy a növény ne csupán túlélje a környezeti stresszt, hanem aktívan alakítsa saját fejlődési programját a várható jövőbeli kihívásokhoz igazodva. Ez a molekuláris szintű rugalmasság a növényi plaszticitás

alapköve, amely a modern transzkriptomikai vizsgálatok - például az RNA-seq alapú hálózatelemzések - fókuszában áll, feltárva, hogy a növények hogyan képesek a környezeti információkat biológiai szoftverként futtatni a túlélés érdekében (GALLUSCI et al., 2023).

A transzkripció memória fenntartásához és generációkon átívelő stabilitásának megértéséhez elengedhetetlen a szabályozási folyamatok mélyebb, molekuláris szintű ismerete, amelyeket az információ tárolásának helye és módja alapján cisz- és transz-memória kategóriákba sorolhatunk.



4. ábra A transzkripció memória típusai ismételt stresszhatás esetén. A diagramok a génexpresszió szintek időbeli változását szemléltetik a stressz-események (piros sávok) függvényében. a) Nincs transzkripció memória: a növény minden egyes stresszhatásra azonos intenzitású választ ad; a génkifejeződés a stresszmentes időszakban visszaáll az alapvonalra. b) 1-es típusú transzkripció memória: Az első stresszhatást követően a génexpresszió tartósan magas marad a stresszmentes periódus alatt is, fenntartva a módosult élettani állapotot. c) 2-es típusú transzkripció memória (pl. +/-): A növény „emlékezik” az első ingerre, de a második stresszhatásra a korábbtól eltérő (például mérsékeltebb vagy éppen fokozott) intenzitással reagál. Ez a típus a habituáció vagy a szenzitizáció molekuláris alapja lehet (Forrás: OBERKOFER et al., 2022 alapján; FARKAS et al., 2024, szerkesztett).

A cisz-memória információja fizikailag magában a kromatinban tárolódik, ami magában foglalja a DNS-metilációt és a hisztonok poszt-transzlációs módosításait. Ez a memóriatípus kulcsszerepet játszik például a vernalizációs folyamatban (ERDMANN et al., 2016; WASSENEGGER et al., 1994, 3. ábra).

A transz-memória transz-ható (távolra ható) visszacsatolási hurkokat alkalmaz (3. ábra). Fenntartása elsősorban diffúzióra képes jelmolekulák koncentrációján alapul, amelyek a citoszol összetétele révén adódnak tovább, és visszacsatolási hurkok tartják fenn (LIU et al., 2022; ALVES DE FREITAS GUEDES et al., 2019; BERRY et al., 2015). Nemrégiben egy

öröklődő szabályozási visszacsatolási hurkot írtak le az *Arabidopsis thaliana* esetében (LIU et al., 2019). A REF6-HSFA2 (RELATIVE EARLY FLOWERING 6 - HEAT-SHOCK TRANSCRIPTION FACTOR A2) pozitív visszacsatolási hurok a hőstressz (HS) utáni adaptációban működik. A REF6 és a HSFA2 kölcsönösen segítik egymás átírását (transzkripcióját). Egymás expressziójának folyamatos aktiválásával – ahogy a sejt nő és osztódik – e két komponens koncentrációja állandó marad. Így a HSFA2 aktív állapotának fenntartásával ez a visszacsatolási hurok memóriát hoz létre, amely örökölhető, és ezáltal elősegíti az inta- és esetleg transzgenerációs emlékezet kialakulását.

A növények célzott DNS-metilációt főként az RNS-irányított DNS-metiláció (RdDM) révén érnek el. Az RdDM fontos szerepet játszik a *de novo* DNS-metilációban és annak fenntartásában minden szekvenciakörnyezetben, idegen DNS esetén pedig a transzkripció elcsendesítés elindításában. Az RdDM folyamatában olyan RNS-molekulák vesznek részt, mint a kis interferáló RNS-ek (small interfering RNA; siRNA) vagy a hosszú, nem kódoló RNS-ek (long non-coding RNA; lncRNA), amelyek az enzimeket meghatározott DNS-régiókhoz irányítják, hogy ott metilsoportokat kapcsoljanak hozzájuk. Metilkötő fehérjék sorozata kapcsolódhat a metilált citozinhoz, módosítva a kromatinszerkezetet, ami megakadályozza, hogy a transzkripció gépezet hozzáférjen a DNS-hez. Ezért az RdDM a transzpozonok (transposable elements, TE) aktivitását is szabályozza (elnyomja), ami az RdDM visszacsatolási hurka révén örökölhető lehet (5.ábra).

Az RdDM és a környezeti adaptáció közötti közvetlen kapcsolatot jól példázzák a stressz-indukált metilációs vizsgálatok. BOYKO és munkatársai (2010) arról számoltak be, hogy a só- vagy hőstressz által kiváltott DNS-metilációs változásokhoz számos RdDM-hez kapcsolódó fehérje szükséges, ami arra utal, hogy az RdDM létfontosságú a stresszel összefüggő DNS-metilációs mintázatok fenntartásához. Megállapították, hogy a stressz emlékezete még az eredeti inger hiányában is örökölhető az *Arabidopsis* növényekben. Az RdDM géncsendesítés (silencing) természete szintén az emlékezet egy formájaként szolgál, mivel egy korábbi fertőzést követően a genomba integrálódott transzpozonok (TE) vagy vírusok elcsendesítve maradnak. Sőt, ezek az integrált szekvenciák egyfajta „receptként” szolgálnak a hasonló ágensek jövőbeli inváziói elleni küzdelemben. Következésképpen a növényi epigenom az RdDM révén potenciálisan módosítható és fenntartható, lehetőséget

biztosítva a jövőbeli stresszválaszok modulálására mind a jelenlegi, mind a jövő nemzedékekben.

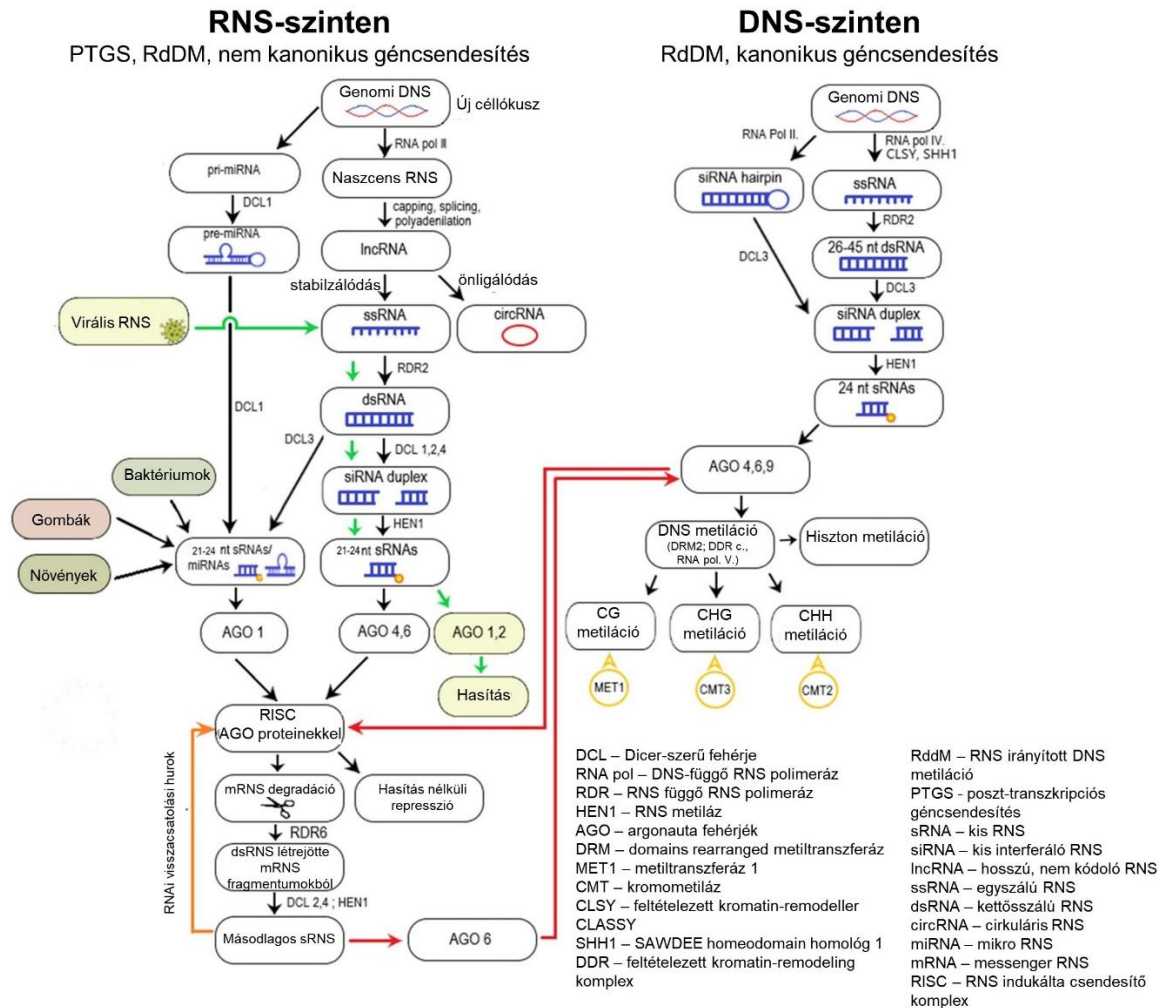
Az RdDM a DNS-függő RNS-polimerázok (RNA Pol), az RNS-függő RNS-polimerázok (RDR), a Dicer-szerű fehérjék (endoribonukleázok, DCL), az RNS-metiláz (HEN1) és az Argonaute fehérjék (AGO) együttműködésén alapul. A DNS-metiláció kialakulását a domains rearranged metiltranszferáz 1,2 (DRM1,2) toborzása révén érik el, fenntartását pedig a metiltranszferáz 1 (MET1) vagy a chromomethylase 2, 3 (CMT2, CMT3) végzi. Az RdDM végbemehet kanonikus és nem-kanonikus módon is; a fő különbség köztük a folyamatban részt vevő sRNS-ek (small RNA, kis RNS) eredetében és biogenezisében rejlik (NAUMANN et al., 2011) (5. ábra).

A kanonikus RdDM útvonal – amely során a DNS-elcsendesítés és a gátló hiszton-módosítások hosszú távú fenntartása történik – két fő folyamatra osztható: 1) a kis RNS-ek (sRNS) biogenezise, valamint 2) a cél-lókuszok DNS-metilációja és a hiszton-módosítások. Ez a folyamat pozitív visszacsatolási hurkokon keresztül erősíti meg a már létező DNS-metilációs mintázatokat. Az sRNS-termelés során az RNA Pol IV-et a CLASSY (feltételezett kromatin-remodeller, CLSY) és a SHH1 (SAWDEE homeodomain homolog 1, DNS- és kromatinkötő fehérje) toborozza az elcsendesítendő cél-lókuszokhoz, ahol megkezdődik az ssRNS-ek (simple strand RNA, egyszálú RNS) átírása. Ezt követően az RDR2 létrehoz egy második RNS-szálat, így kialakul a dsRNS (double strand RNA, kettősszálú RNS), majd a DCL3 általi hasítás következik, amely sRNS-eket eredményez. Szinte minden sRNS-t az RNA Pol IV, az RDR2 és a DCL3 együttműködése hoz létre (kivéve a hajtú-struktúrákat, ahol csak az RNA Pol II-re és a DCL3-ra van szükség). Az sRNS egyik szála az AGO fehérjékbe (AGO 4, 6 vagy 9) töltődik be, egy fehérje-RNS duplexet alkotva. Ez a duplex képes megkeresni és hozzákapcsolódni egy komplementer RNS-szekvenciához egy RNS-váz (scaffold) mentén (amelyet korábban a növény-specifikus RNA Pol V hozott létre). Ez a struktúra – más komplexek (pl. IDN2 paralóg komplex és az RNA Pol V NRPE1 alegysége) segítségével – toborozza a DRM2-t, amely metilálja a közeli DNS-szakaszokat (5. ábra).

A nem-kanonikus RdDM a kanonikus megfelelőjéhez képest viszonylag kevés lókuszt céloz meg, miközben létrehozza a kezdeti *de novo* DNS-metilációt és a poszt-transzkripció géncsendesítést (PTGS). Az útvonal az sRNS-biogenezissel kezdődik (a kanonikus úthoz hasonlóan). Az első lépés a naszcensz (újonnan képződő) RNS átírása a genomi DNS-ről

(intergenikus régiók, TE-inzertációk, intronok, exonok, transzpozonok, repetitív szekvenciák, kódoló régiók, NAT-ok, vírusok) RNS-polimerázok (RNA Pol II, III, IV, V) segítségével, amelyet capping/splicing/poliadeniláció követ, eredményül pedig lncRNS-eket (hosszú nem-kódoló RNS, mi- vagy siRNS-prekurzor) kapunk (5. ábra).

RNS-interferencia/elcsendesítés



5. ábra Az RNS-interferencia és az RdDM molekuláris mechanizmusai növényekben. Bal oldalon az RNS-szintű folyamatok (PTGS, nem-kanonikus RdDM) láthatók, ahol a RISC komplex mRNA-degradációt vagy transzlációs gátlást idéz elő az RNAi-visszacatolási hurok segítségével. Jobb oldalon a DNS-szintű (kanonikus) RdDM útvonal látható, amely a kromatin módosításával (DNS- és hiszton-metiláció) hoz létre stabil csendesítést. Az ábra jelöli a szimmetrikus (CG, CHG) és aszimmetrikus (CHH) metiláció fenntartásáért felelős specifikus enzimeket (MET1, CMT3, CMT2) is (Forrás: FARKAS et al., 2024).

Ezek az lncRNS-ek önhurkolódhatnak cirkuláris RNS-eket alkotva, vagy stabilizálódhatnak egyszálú RNS-eket (simple strand RNA; ssRNA) hozva létre. Az ssRNS-ekből az RDR2 enzim kettősszálú RNS-eket (double strand RNA, dsRNS) képez, majd egy endoribonukleáz (DCL1, 2, 3, 4) kisebb darabokra (si/miRNS duplexekre) hasítja őket. Ezután a HEN1 RNS-metiláz metilcsoportot ad hozzájuk, 21–22 nukleotid hosszúságú sRNS-eket, miRNS-eket létrehozva. Ezek az sRNS-ek AGO fehérjékhez kötődnek (fehérje-sRNS duplexet alkotva), majd betöltődnek az RNS-indukálta géncsendesítő komplexbe (RNA induced silencing complex, RISC). A RISC az RNS-interferencia alapvető eleme. Az RNS-interferencia (RNAi) egy sejtfolyamat, amely során speciális kicsi, nem-kódoló RNS-ek (sRNS-ek, pl. siRNS, miRNS) komplementer RNS-szekvenciákhoz kötődnek, ezáltal gátolják a fehérjetermelést a cél-RNS-ekről (hasítás nélküli represszió révén). Az RNAi felelős a szekvencia-specifikus poszt-transzkripció géncsendesítésért (PTGS) is, ami azt jelenti, hogy a nem-kanonikus RdDM a PTGS-útvonalak mellékterméke is lehet. A RISC központi komponensei az sRNS-ekkel kötött AGO fehérjék, amelyek hasítást idéznek elő a cél-mRNS-ben. Ezáltal olyan abnormális szekvenciákat hoznak létre, amelyeket a szervezet nem ismer fel, és ezért lebont. Egyszerűen fogalmazva: az RNAi gátolja a génkifejeződést az mRNS-ek lebontásával vagy a cél-mRNS molekulák transzlációjának blokkolásával. Az mRNS lebontásával a szervezet új töredékeket generál, amelyek másodlagos sRNS-ként működhetnek, pozitív visszacsatolási hurkot hozva létre. Miután a kezdeti elcsendesített állapot kialakult, az RNA Pol IV, valamint a CLSY és SHH1 fehérjék a lókuszhoz toborzódnak, és megkezdődik a kanonikus géncsendesítés (SLOTKIN és MARTINESSEN 2007).

Miközben mind az RNAi (nem-kanonikus RdDM), mind a kanonikus RdDM RNS-molekulákat alkalmaz és hozzájárul a génszabályozáshoz, különböző szinteken működnek: az RNAi elsősorban az RNS-molekulákra hat, míg a kanonikus RdDM a DNS-t módosítja RNS-molekulák irányítása mellett (5. ábra) (SLOTKIN és MARTINESSEN 2007).

A szimmetrikus (CG) és félig-szimmetrikus (CHG) szekvenciakörnyezetben már létező DNS-metiláció közvetlenül az S-fázis után, a DNS szemikonzervatív replikációja során is fenntartható. A DNS-metiltranszferáz enzimek az sRNS-től független módon másolják át a metilációs mintázatot az újonnan szintetizált, metilálatlan szálra. Ezek az enzimek a növény-specifikus CMT3 és MET1. Az egymást követő DNS-replikációs körökön keresztül ezek a

mintázatok fennmaradnak az anyasejttől a leánysejtekig, lehetővé téve a növény számára a változások öröklését. Azonban az aszimmetrikus (CHH) metilációs mintázatok esetében a metiláció szemikonzervatív replikációja elméletileg lehetetlen. Ezért a folyamatos, sRNS-függő *de novo* DNS-metilációs aktivitás elengedhetetlen a mintázat megőrzéséhez. Emiatt ez a folyamat egy önmagát erősítő hurok (5. ábra) (CHAN et al., 2006).

3.4.4. Ismételt ingerek hatása a memóriára

A növényi emlékezet kialakulásának és megszilárdulásának kritikus eleme az ingerek időbeli eloszlása és azok ismétlődésének gyakorisága. Az egyszeri stresszhatás gyakran csak átmeneti élettani választ vált ki, amely az inger megszűnésével fokozatosan elhalványul. Ezzel szemben a meghatározott időközönként - például pár napos vagy annál hosszabb intervallumokban - érkező ismételt impulzusok alapvető fontosságúak a tranziens válaszok stabil, hosszú távú memórianyomná történő átalakításában (LÄMKE et al., 2015). Az időfaktornak ez a szerepe a növényi „tanulási” folyamatban biztosítja, hogy a szervezet különbséget tudjon tenni a véletlenszerű környezeti zaj és a rendszerszerűen visszatérő, adaptációt igénylő kényszerfeltételek között (DING et al., 2012; WALTER et al., 2013).

Az ismételt ingerek hatásmechanizmusa a sejt szintjén egyfajta megerősítési folyamatként értelmezhető. Az első ingerhatást követő regenerációs szakaszban a növényi szervezet egy érzékenyített állapotban marad, ahol a jelátviteli útvonalak és a transzkripció apparátus bizonyos elemei emelt készenléti szinten vannak jelen (AVRAMOVA, 2015). Ha a második inger egy kritikus időablakon belül érkezik, az nem egy érintetlen rendszert ér, hanem a már meglévő molekuláris nyomokra építve katalizálja a védekező válaszokat (CRISP et al., 2016). Ez az ismétlődés elengedhetetlen a transzkriptomi memória elmélyítéséhez, mivel minden egyes újabb impulzus megerősíti a specifikus géncsoportok expressziós mintázatát, és hozzájárul a kromatin szerkezetének tartósabb átrendeződéséhez (DING et al., 2012; LÄMKE és BÄURLE, 2017). Az első pár nap környékén vagy azt követően alkalmazott ismételt kezelések jelentősége abban rejlik, hogy ez az időtartam már elegendő a korai, gyors válaszreakciók lecsengéséhez, így a megjelenő újabb válasz már egyértelműen a memórialapú, adaptív szabályozás eredménye (VIRLOUVET és FROMM, 2015).

Az ismételt stimuláció hatására kialakuló memóriaforma lehetővé teszi a növény számára a „kereszt-kondicionálást” is, ahol a rendszeres mechanikai vagy egyéb fizikai ingerek által fenntartott éberségi állapot képessé teszi a növényt más típusú, például vízhiány okozta stresszhatások hatékonyabb kivédésére is (WALTER et al., 2013). A szekvenciális (sorozatos) ingerlés során a növényi plaszticitás egy új szintre lép: a szervezet megtanulja az erőforrásait úgy csoportosítani, hogy a védekező fehérjék és másodlagos anyagcseretermékek szintézise ne gátolja tartósan a vegetatív növekedést (BRUCE et al., 2007). Ez az időbeli finomhangolás biztosítja, hogy a növény ne csupán reaktív módon válaszoljon a környezetre, hanem proaktív módon tartsa fenn azt az élettani puffertkapacitást, amely a kiszámíthatatlanul visszatérő környezeti stresszorok túléléséhez szükséges (HILKER et al., 2016). Az ismételt ingerek így a növényi intelligencia és adaptáció alapvető eszközeivé válnak, lehetővé téve a dinamikus környezethez való hosszú távú, stratégiai alkalmazkodást (TREWAVAS, 2014).

Az epigenetikai szabályozás jelenti azt a molekuláris hidat, amely az átmeneti transzkripció változásokat stabil, hosszú távon is megmaradó memórianyomokká alakítja (LÄMKE és BÄURLE, 2017). Míg a génkifejeződés pillanatnyi módosulása gyors választ tesz lehetővé, a környezeti ingerek fizikai rögzüléséért a DNS-szekvencia megváltoztatása nélkül bekövetkező, örökíthető módosítások felelősek (KINOSHITA és SEKI, 2014). Ebben a folyamatban a DNS-metiláció és a kromatinszerkezet átrendeződése játsza a központi szerepet, lehetővé téve a növény számára, hogy a korábban tapasztalt stresszhatások információit sejtszinten konzerválja (GALLUSCI et al., 2017) és tárolja (BOYKO és KOVALCHUK, 2011).

A DNS-metiláció során metilcsoportok kapcsolódnak a citozin bázisokhoz, ami közvetlenül befolyásolja a gének hozzáférhetőségét a transzkripció apparátus számára (LAW és JACOBSEN, 2010). Stresszhatás alatt a genom bizonyos régióiban hipo- vagy hipermetiláció következhet be, ami specifikus stressz-reagáló gének aktiválódását vagy csendesítését eredményezi (DOWEN et al., 2012). Ezek a metilációs mintázatok az inger megszűnése után is fennmaradhatnak, sőt, a sejtosztódások során is átadódhatnak, biztosítva a szomatikus memória folytonosságát (HOLESKI et al., 2012). Ez a mechanizmus teszi lehetővé, hogy a növény hetekkel vagy hónapokkal egy korábbi inger után is "emlékezzen"

a környezeti kihívásra, és egy ismételt inger esetén már a módosult metilációs profilnak megfelelő, optimalizált választ adjon (MIROUZE és PASZKOWSKI, 2011).

A nukleinsavak kémiai módosítása mellett a hisztonfehérjék poszt-transzlációs módosításai (például acetiláció, metiláció vagy foszforiláció) szabályozzák a kromatin állapota közötti átmenetet (KOUZARIDES, 2007). A lazább, transzkripciós szempontból aktív eukromatin és a tömör, inaktív heterokromatin közötti dinamikus egyensúly eltolódása alapvetően meghatározza a génkifejeződési potenciált (BANNISTER és KOUZARIDES, 2011). Egy korábbi stresszhatás gyakran egyfajta "nyitott" kromatinállapotot hagy maga után bizonyos promóter régiókban, amit a szakirodalom transzkripciós primingként definiál (CONRATH et al., 2015). Ebben az állapotban a transzkripciós faktorok sokkal gyorsabban és nagyobb affinitással képesek kötődni a célgénekhez, mint a naiv sejtekben. Ez a kromatinszintű emlékezet biztosítja az ismételt ingerekre adott válaszreakciók sebességét és intenzitását, megteremtve a növényi emlékezet fizikai alapjait, amely nélkülözhetetlen a környezeti reziliencia és a szekvenciális stresszhatásokhoz való alkalmazkodás szempontjából (AVRAMOVA, 2015; KIM et al., 2015).

Az epigenetikai átrendeződések előtt a növények egy még gyorsabb, poszt-transzkripciós szabályozó mechanizmust is mozgósítanak a mikro-RNS-ek (miRNS-ek) révén. Ezek a kisméretű RNS-molekulák képesek a stresszre válaszul azonnal lebontani a cél-mRNS-eket vagy gátolni azok transzlációját, így biztosítva a génkifejeződés gyors és finomhangolt megváltoztatását még a tartósabb kromatinszintű memórianyomok kialakulása előtt (BEJ és BASAK, 2014; CRISP et al., 2016). A miRNS-ek tehát a memória 'gyorsreagálású' komponenseiként szolgálnak, amelyek az ismételt ingerek során segítenek a sejt fehérjekészletének azonnali átstrukturálásában.

3.5. Mi a különbség az asszociatív tanulás és kereszt-tolerancia közt?

3.5.1. Kereszt-tolerancia (Cross-tolerance)

A kereszt-tolerancia (cross-tolerance) elméleti koncepciója a modern növényélettan egyik legfontosabb pillére, amely rávilágít a növényi adaptációs stratégiák rendkívüli rugalmasságára és gazdaságosságára (FOYER et al., 2016). Ez a jelenség akkor következik

be, amikor egy adott típusú primer stresszor - legyen az fizikai, kémiai vagy biológiai természetű - olyan általános és specifikus védekező mechanizmusokat aktivál a szervezetben, amelyek képessé teszik a növényt egy későbbi, minőségileg teljesen eltérő szekunder stresszhatás hatékonyabb elviselésére (HOSSAIN et al., 2018). A kereszt-tolerancia létezése a növényi jelátviteli hálózatok belső architektúrájának köszönhető, amely nem egymástól elszigetelt csatornákon, hanem szorosan összefonódó, egymást moduláló útvonalakon, úgynevezett molekuláris keresztbeszélgetéseken (cross-talk) keresztül dolgozza fel a környezeti információkat (KNIGHT és KNIGHT, 2001). Ennek eredményeként a különböző típusú ingerek gyakran közös másodlagos hírvivőket, például kalcium-ion hullámokat, reaktív oxigénformákat vagy szisztémás jelzőmolekulákat indítanak el, amelyek végpontjai ugyanazon stressz-reagáló géncsoportok aktiválásához vezetnek (ZHANG et al., 2023).

A kereszt-tolerancia kialakulásának központi eleme a növény élettani állapotának átmenete egy „naiv” fázisból egy úgynevezett primed, vagyis előhangolt állapotba (CONRATH et al., 2015). Az első ingerhatás során a növényi sejt olyan védelmi komponenseket halmoz fel - például hősokk-fehérjéket (HSP), antioxidáns enzimeket vagy ozmoprotektánsokat -, amelyek univerzális védelmet nyújtanak a sejtszintű homeosztázis fenntartásához. Ezek a molekulák mintegy élettani pufferkapacitásként funkcionálnak: a chaperon fehérjék megakadályozzák a fehérjék denaturációját, függetlenül attól, hogy a károsító hatást hő, mechanikai feszültség vagy dehidratáció váltja-e ki (PARK és SEO, 2015), míg az antioxidáns apparátus képes semlegesíteni a különböző forrásokból származó szabadgyököket (FOYER és NOCTOR, 2005). Ez a pre-adaptív válasz energetikai szempontból rendkívül kedvező a növény számára, hiszen a már meglévő védekező apparátus révén a szekunder stressz bekövetkeztekor elkerülhető a pánikszerű, metabolikusan költséges és gyakran önpusztító túlreakció, helyette egy kontrollált, célzottabb válaszreakció jön létre (MARTINEZ-MEDINA et al., 2016).

A kereszt-tolerancia vizsgálata túlmutat az egyedi élettani válaszok leírásán; ez a koncepció a növényi reziliencia globális értelmezését teszi lehetővé (TREWAVAS, 2014). Az elmélet azt sugallja, hogy a növények képesek integrálni környezetük ingereit, és a korábbi tapasztalataikat - még ha azok más természetűek is voltak - felhasználni a jövőbeli kihívásokra való felkészüléshez (GALVIZ et al., 2020). Ebben a folyamatban a transzkriptom-szintű plaszticitás játszik döntő szerepet, ahol a korábbi inger hatására

bekövetkező génexpressziós átrendeződés egy olyan módosult molekuláris környezetet teremt, amelyben a későbbi stresszor már nem egy védtelen, hanem egy élettani szempontból „edzett” rendszert ér (HILKER et al., 2016). A kereszt-tolerancia tehát a növényi intelligencia és stratégiai adaptáció egyik leglátványosabb megnyilvánulása, amely lehetőséget ad arra, hogy enyhe, kontrollált kondicionáló ingerek segítségével növeljük a növények globális stressztűrő képességét a kiszámíthatatlanul változó környezeti feltételek mellett is (SAVVIDES et al., 2016).

3.5.2. Asszociatív memória és tanulás

A növénytani kutatások paradigmaváltásának korát éljük, amelyben a növényeket már nem csupán reaktív automatákként, hanem komplex információfeldolgozó rendszerekként kezeljük (TREWAVAS, 2014). Ennek a megközelítésnek a központjában a kombinált stresszhatások és az asszociatív tanulás állnak. A természetes környezetben a növények szinte soha nem egyetlen abiotikus tényező változására válaszolnak; a valóságban a stresszorok - mint a hő, a fény, a mechanikai vibráció és a vízhiány – gyakran egyidejűleg érik a szervezetet (MITTLER, 2006). A tudományos diskurzusban egyre meghatározóbbá válik az a felismerés, hogy a növények képesek az időben elkülönülő ingerek közötti szekvenciális összefüggések felismerésére és tárolására (GAGLIANO, 2017). Az asszociatív tanulás növényi kontextusban azt a képességet jelenti, amely során a szervezet egy biológiailag kezdetben neutrális vagy enyhe ingert összekapcsol egy későbbi, a túlélést közvetlenül veszélyeztető stresszfaktorról, és később már a kezdetben neutrális inger hatására kiváltódik a másik, a túlélését veszélyeztető stresszre adott reakció (GAGLIANO et al., 2016).

Az elmúlt évtizedben egyre több bizonyíték látott napvilágot a növények azon képességével kapcsolatban, hogy asszociációkat alakítsanak ki, és memóriájukat asszociatív módon használják. Borsóval (*Pisum sativum* L. cv. Massey Gem) kísérletezve GAGLIANO és munkatársai (2016) bebizonyították, hogy az Y-útvesztőben nevelt borsónövények képesek voltak asszociációt kialakítani, és a megszerzett információkat asszociatív módon felhasználni. A fény felé történő növekedést, amely a növényeknél biológiailag fontos inger (a kék fény játszott a feltétlen inger, azaz az UCS szerepét), egy társított semleges jelzés

(légáramlás, mint feltételes inger, azaz CS) hatására tették lehetővé, amely megjósolta, hol fog megjelenni a fény, még a növényben uralkodó fény-tropizmus ellenére is (NOVOPLANSKY, 2015). Bebizonyosodott, hogy térben és időben is képesek érzékelni az ingert (fényt), és mind pozitív, mind negatív asszociációkat építeni. Bár MARKEL (2016) egy megismételt kísérletben megpróbálta cáfolni GAGLIANO és munkatársai (2016) eredményeit, GAGLIANO és munkatársai (2020) azzal válaszoltak, hogy MARKEL (2016) eltérő kísérleti elrendezése alkalmatlan volt az eredményeik reprodukálására. GAGLIANO ezen válaszát MARKEL (2020) tovább vitatta, rámutatva, hogy a reprodukálhatóság hiánya nem magyarázható a kísérleti elrendezések különbségeivel. Mindazonáltal ez inkább a reprodukálhatóságra, mintsem az ismételhetőségre irányuló kísérlet volt, figyelembe véve az anyagok (eltérő genotípusok, eltérő növények) és a módszerek (például világítás, talaj stb.) variációit (PLESSER, 2018). Ezek az anyag- és módszerbeli különbségek eltérő élettani tulajdonságokat, ezáltal pedig eltérő érzékenységet, válaszkészséget és különböző memóriaállapotokat okozhatnak mindkét kísérlet alanyaiban (CVRČKOVÁ és KONRÁDOVÁ, 2022).

BHANDAWAT és munkatársai (2020) tanulmánya volt az első és eddig az egyetlen, amely transzkriptomi bizonyítékokkal szolgált a növények asszociatív memóriahasználatára vonatkozóan. Tanulmányukban a hang (zöld zene, 50 dB) volt az az indikátor (UCS), amely asszociatív módon kiváltotta az abiotikus stresszre, a hőre (CS) adott választ az *Arabidopsis*-ban. Öt olyan gén (*HSFA3*, *ATHSSP101*, *ATCTL1*, *SMXL7* és *CHIP*) expressziós intenzitását vizsgálták, amelyekről ismert, hogy részt vesznek a magas hőmérsékletre és hősokk-válaszra adott reakciókban. Mind az öt hőérzékeny gén kifejeződésének fokozódását mutatták ki különböző mértékben, de szignifikánsan a kondicionált növényekben a zene után, de hősokk nélkül. Ezen gének expressziójának fokozódása szignifikánsan magasabb volt, mint a csak zenével kezelt (nem kondicionált) növényeknél. A *HSFA3* és *ATCTL1* hőérzékeny gének tűntek a legjobb jelölteknek az asszociatív tanulás jelzésére *Arabidopsis* növényekben.

Míg az asszociatív tanulás során a növény egy tanult jelzésre (pl. hang vagy légáramlás) alapozva indítja be a védekezést, a kereszt-tolerancia mechanizmusa során egy konkrét stresszhatás (pl. sóstressz) közvetlenül növeli a növény ellenálló képességét egy másik, eltérő típusú stresszel (pl. szárazság) szemben. A kereszt-tolerancia hátterében nem egy tanult

asszociáció, hanem a közös jelátviteli útvonalak – például a reaktív oxigénfajták (ROS) felhalmozódása vagy az abszcizinsav (ABA) szintjének emelkedése – állnak, amelyek több stresszfaktor ellen is védelmet nyújtanak (HOSSAIN et al., 2018). A fő különbség tehát abban rejlik: a kereszt-tolerancia egyfajta általános élettani edzettség, ahol az egyik stressz közvetlenül 'felkészíti' a növényt a másokra a közös jelátviteli útvonalak miatt, míg az asszociatív tanulásnál a növény egy olyan semleges környezeti jelet használ fel prediktorként, amely önmagában semmilyen élettani károsodást vagy védelmi reakciót nem okozna.

Az asszociatív tanulás önmagában nem igényel tudatosságot vagy idegrendszert. Bár biokémiai és genetikai hálózatok alapján ez még az egysejtű élőlények számára is lehetséges lehet, a növények ezen képességét még mindig vitatják, annak ellenére, hogy elméleti alapon sem zárható ki. A kérdés eldöntését az sem segíti, hogy jelenleg nagyon kevés célzott kísérlet létezik a növények asszociatív tanulásával kapcsolatban. Az a lehetőség azonban, hogy a növények az állatokhoz hasonlóan asszociatív módon használhatják memóriájukat, izgalmas távlatokat nyithat meg.

3.5.3. Kombinált stresszválaszok elemzése: Miért nem egyenlő a kombinált hatás a részhatások összegével?

A növényi stresszfiziológia egyik legfontosabb felismerése, hogy a különböző környezeti ingerek együttes fellépése során a növény által adott válaszreakció nem vezethető vissza az egyes stresszorokra adott válaszok egyszerű számtani összegére (MITTLER, 2006). Amikor egy növényi szervezetet szimultán vagy szekvenciális módon ér többféle abiotikus hatás, a kialakuló élettani állapot egy minőségileg új, egyedi transzkriptom-szintű és metabolikus konfigurációt eredményez (RASSMUSSEN et al., 2013). Ez a jelenség a növényi jelátviteli hálózatok komplexitásából adódik, ahol a különböző ingerek által aktivált útvonalak nem párhuzamosan és elszigetelten futnak, hanem pontszerű találkozásokon, úgynevezett „cross-talk” mechanizmusokon keresztül módosítják egymás intenzitását és irányát (KNIGHT és KNIGHT, 2001).

A kombinált hatás és a részhatások összege közötti különbséget a molekuláris hierarchia több szintjén is megfigyelhetjük (ZANDALINAS és MITTLER, 2022). Egyrészt léteznek

közös válaszelemek, ahol a különböző ingerek ugyanazokat a transzkripció faktorokat vagy védekező géneket aktiválják; ilyenkor egyfajta szinergia jöhet létre, ami a válaszreakció felerősödését eredményezi (HILKER et al., 2016). Másrészt azonban felléphetnek antagonisztikus interakciók is, ahol az egyik stresszhatásra adott válasz gátolhatja, vagy éppen mérsékelheti a másik stresszre, például a szárazságra adott tipikus reakciót, mint a sztómák drasztikus bezáródását (CHOUDHURY et al., 2017). Ez a fajta nem-lineáris kölcsönhatás teszi lehetővé a növény számára, hogy ne csupán reaktív módon válaszoljon a környezetre, hanem az erőforrásait optimalizálva, a túlélést és a növekedést egyensúlyban tartva adaptálódjon a komplex kihívásokhoz (MITTLER, 2006).

A kombinált stresszválasz elemzése során tehát nem a változók egyszerű összeadását, hanem azok kölcsönhatási mátrixát kell vizsgálni. A kísérleti adatok és a bioinformatikai elemzések éppen azért válnak döntő fontosságúvá, mert képesek láthatóvá tenni ezeket a nem-lineáris eltolódásokat, feltárva, hogy az egyik stressz nem csupán hozzáadódik a másik hatásához, hanem alapjaiban írja felül a növény molekuláris védekezési stratégiáját (GALVIZ et al., 2020).

Ez a nem-lineáris összefüggés az asszociatív memória esetében is tetten érhető: a kondicionáló és a környezeti stresszhatás együttes jelenléte olyan egyedi molekuláris mintázatot eredményez, amely messze túlmutat az izolált ingerekre adott válaszok egyszerű összegén.

3.6. Módszertani alapvetések és validálási eljárások

A növényi stresszbiológia és az emlékezetkutatás molekuláris szintű feltárása megköveteli a legmodernebb, nagy áteresztőképességű analitikai eljárások alkalmazását, amelyek képesek a genom-szintű változások dinamikus követésére (YU et al., 2025). A kísérleti eredmények hitelessége és reprodukálhatósága érdekében a módszertani architektúrát úgy kell felépíteni, hogy az a globális DNS metilációs és transzkriptom-profil feltérképezésétől a specifikus génkifejeződési szintek precíziós méréséig terjedjen. A metodikai „arany standard” az eltérően metilált és az eltérően expresszált régióknak bázispontos feltérképezése WGBS és RNA-seq módszerekkel. Ebben a folyamatban az új generációs szekvenálási technológiák (NGS) és a valós idejű kvantitatív PCR (qPCR) eljárások egymást kiegészítve

biztosítják az adatok statisztikai és biológiai validitását (STARK et al., 2019; UPTON et al., 2023). Ez a fejezet bemutatja azokat a technológiai alapokat és bioinformatikai munkafolyamatokat, amelyek lehetővé teszik a szárazság és az ultrahang kezelés hatására bekövetkező komplex molekuláris átrendeződések számszerűsítését és értelmezését.

3.6.1. Teljes genom biszulfid szekvenálás (WGBS) szerepe

Az epigenetikai emlékezet, különösen az RdDM-útvonalon keresztül megvalósuló DNS-metiláció pontos feltérképezéséhez elengedhetetlen a citozin bázisok metilációs állapotának bázispár szintű felbontása. Erre a célra jelenleg a teljes genom biszulfid szekvenálás (Whole Genome Bisulfite Sequencing; WGBS) a leghatékonyabbnak tekintett eljárás, amely lehetővé teszi a metilációs mintázatok kvantitatív elemzését a teljes genomban. A technológia alapja a DNS nátrium-biszulfidos kezelése, amely során a metilálatlan citozin bázisok uracillá alakulnak (majd a szekvenálás során természetesen látszódnak), miközben az 5-metilcitozinok változatlanok maradnak. Ez a kémiai átalakítás a szekvenálási adatok bioinformatikai feldolgozása során lehetővé teszi a metilált és nem metilált régiók pontos megkülönböztetését minden szekvenciakörnyezetben (CG, CHG és CHH) (RAO et al., 2024).

A WGBS alkalmazása a stresszmemória kutatásában különösen kritikus, mivel segítségével azonosíthatók a differenciálisan metilált régiók (DMR), amelyek a növény „epigenetikai tervrajzát” alkotják egy korábbi stresszhatás után. Míg a transzkriptóm-elemzés a pillanatnyi génkifejeződésről ad képet, a WGBS feltárja azokat a stabil, kromatinszintű módosításokat, amelyek az ismételt ingerekre adott gyorsabb válasz (priming) mögött állnak. Bár a módszer nagy számítási kapacitást és jelentős szekvenálási mélységet igényel, az általa nyert adatok alapvetőek a környezeti jelek által kiváltott hosszú távú genomszintű átrendeződések validálásához. Az új generációs szekvenálások (NGS) ezen ága tehát közvetlen bizonyítékot szolgáltat arra, hogy a stresszhatás nem csupán átmeneti változást, hanem rögzült epigenetikai módosulást eredményez (HUANG et al., 2026).

3.6.1. RNA-seq technológia a modern növénytanban

Az RNA-seq technológia megjelenése forradalmasította a növényélettani kutatásokat, lehetővé téve a transzkriptom állapotának teljes körű, torzításmentes és rendkívül érzékeny vizsgálatát (HRDLICKOVA et al., 2017). Szemben a korábbi microarray-alapú eljárásokkal, az RNA-seq nem igényel előzetes szekvencia-ismeretet a méréshez, így képes az összes kifejeződő mRNS molekula (transzkript) azonosítására és mennyiségi meghatározására egy adott élettani pillanatban (STARK et al., 2019). A technológia lényege a teljes RNS-állomány fragmentálása, komplementer DNS-sé (cDNS) történő átírása, majd ezen rövid szakaszok párhuzamos, nagy tömegű szekvenálása. Ez a megközelítés páratlan felbontást biztosít a differenciálisan kifejeződő gének (DEG-ek) azonosításában, legyen szó akár kevés kópiaszámú transzkripciós faktorokról vagy a metabolikus útvonalakat domináló strukturális fehérjék génjeiről (UPTON et al., 2023).

A technológia kulcsfontosságú lépése azonban a szekvenálást követő bioinformatikai feldolgozásban rejlik, amely során a több millió rövid olvasatból (reads) összeáll a növény funkcionális genetikai térképe (CONESSA et al., 2016). A folyamat első lépése a minőségellenőrzés és a nyers adatok tisztítása, amelyet az olvasatok illesztése (mapping) követ a referencia genomra. Ebben a fázisban a bioinformatikai algoritmusok képesek azonosítani, hogy az egyes ingerek mely specifikus genom-régiók aktivitását fokozták vagy gátolták (UPTON et al., 2023). A normalizált expressziós értékekből képzett mátrixok szolgáltatják az alapot a többváltozós statisztikai elemzésekhez, mint amilyen a főkomponens-analízis is (LOVE et al., 2014). Az RNA-seq tehát nem csupán egy mérési módszer, hanem egy olyan átfogó diagnosztikai eszköz, amely lehetővé teszi a növényi stresszválaszok hálózatos szemléletű vizsgálatát, feltárva a gének közötti komplex kölcsönhatásokat és a szabályozási útvonalak dinamikáját.

3.6.2. A főkomponens analízis (PCA) szerepe a komplex válaszok vizualizálásában: A transzkriptom-szintű elkülönülés bizonyítéka a kezelések specifikusságára

A transzkriptomikai adatok feldolgozásának legnagyobb statisztikai kihívása a változók extrém magas száma, ami lehetetlenné teszi az adatok hagyományos áttekintését. A

főkomponens-analízis (PCA) elméleti jelentősége abban rejlik, hogy a többváltozós adathalmaz varianciáját ortogonális transzformációval olyan látens változókra – főkomponensekre (PC) – vezeti vissza, amelyek már közvetlen biológiai jelentéssel bírnak (JOLLIFFE és CADIMA, 2016). Míg a PC1 rendszerint a minták közötti domináns különbséget (pl. stresszhatás) ragadja meg, a további komponensek a finomabb, kezelés-specifikus eltéréseket tükrözik (LEVER et al., 2017). A PCA a transzkriptomikai diagnosztikában alkalmas a kísérleti tervezés validálására és a kiugró értékek azonosítására is. A minták klasztereződése a növényi genom globális válaszkészségének mértékegysége: a csoportok szignifikáns elkülönülés igazolja a specifikus transzkripció programok aktiválódását (RINGNÉR, 2008). Kombinált stresszhelyzetek elemzésekor a PCA vizualizálja, hogy egy korábbi kondicionáló inger mennyiben módosítja a későbbi válaszvektorokat. Ez a matematikai absztrakció a dinamikus transzkriptomot egyetlen pillanatfelvétellé sűríti, szilárd alapot nyújtva a differenciális génexpressziós (DEG) és útvonal-elemzési eljárásoknak (LOVE et al., 2014).

3.6.3. RT-qPCR technika: célgének vizsgálata és validálása

A nagy áteresztőképességű transzkriptomikai vizsgálatok során keletkező adatok biológiai és statisztikai hitelességét minden esetben független, precíziós mérési módszerrel kell megerősíteni. A modern növényélettani kutatásokban erre a célra a legelfogadottabb standard eljárás a valós idejű kvantitatív PCR (RT-qPCR), amely a célzott génszakaszok amplifikációja révén számszerűsíti és validálja a szekvenálási eredmények irányát és mértékét (NOLAN et al., 2006). Míg az RNA-seq a teljes transzkriptom globális átrendeződéséről nyújt átfogó képet, a qPCR technológia rendkívüli érzékenysége és széles dinamikus tartománya lehetővé teszi még az kevés kópiaszámú szabályozó molekulák pontos számszerűsítését is (VAN GUILDER et al., 2008). A validálási folyamat technológiai háttére kritikus fontosságú: a moduláris optikai rendszerek és a precíziós hőmérséklet-szabályozás minimalizálják a technikai varianciát, biztosítva a mérések reprodukálhatóságát (BUSTIN et al., 2009). A kiválasztott marker gének expressziós mintázatának qPCR alapú megerősítése szolgáltatja a közvetlen bizonyítékot arra, hogy a megfigyelt molekuláris változások valóban a környezeti ingerek – például a kondicionáló kezelések vagy a vízhiány – biológiai

következményei (DERVEAUX et al., 2010). Az RNA-seq globális látásmódja és az RT-qPCR precíziós mérése közötti szinergia így megteremti azt a megbízható módszertani alapot, amelyre az élettani következtetések tudományos újdonságértéke épülhet.

Az RT-qPCR alkalmazása nem korlátozódik a validálásra; önálló értéke a kulcsfontosságú szabályozó gének expressziós dinamikájának nagy felbontású, időbeli nyomon követésében rejlik. Ez a célzott megközelítés lehetővé teszi a finomhangolt molekuláris válaszok precíz számszerűsítését, ahol a génkifejeződés kismértékű eltolódásai is meghatározóak lehetnek az adaptációs stratégia szempontjából.

4. ANYAG ÉS MÓDSZER

4.1. Növényi alapanyag és nevelési körülmények

Kísérleteinkhez a paradicsom (*Solanum lycopersicum* L.) ‘Micro-Tom’ fajtáját alkalmaztuk. A felhasznált ‘Micro-Tom’ magok a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Genetikai és Biotechnológiai Intézetéből származnak; a kísérletekhez szükséges kiindulási anyagot intézetünkben, folyamatos szaporítással biztosítottuk.



6. ábra A kísérleti beállítás: ‘Micro-Tom’ paradicsomfajta MS tápoldattal és gombaölővel nedvesített Jiffy-7® tőzegkorongokban, Veg-boxba helyezve a nevelőhelyiségben (Forrás: saját, Nyíregyháza, 2025).

A Jiffy-7® korongokat MS makro- és mikroelemeket (MURASHIGE és SKOOG, 1962), valamint 0,15%-os Previcur Energy® gombaölő szert tartalmazó oldattal telítettük, amíg azok vetésre kész tőzeghengerekké nem duzzadtak. A paradicsommagokat egyenként vetettük el a tőzeghengerekbe (a továbbiakban: Jiffy), amelyeket Veg-boxokba helyezve klímakamrában neveltünk. A környezeti feltételeket 24 °C-os hőmérsékleten, 16/8 óras nappal/éjszaka fotoperiódus mellett rögzítettük; a megvilágítást melegfehér és daylight típusú fénycsövek 1:1 arányú kombinációja biztosította ($89 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PPFD), 65%-os relatív páratartalom (RH) mellett (6. ábra).

A csíranövényeket a kezelések megkezdése előtt három hétig neveltük ezen körülmények között. A kezeléseket követően a növénynevelést változatlan fény-, hőmérsékleti és páratartalom-viszonyok mellett folytattuk; a kezelt egyedeket a nevelőhelyiségben, teljes mértékben randomizált elrendezésben helyeztük el a pozícióból adódó esetleges torzítások kiküszöbölése érdekében. A Jiffy-egységeket hetente kétszer, 15 ml csapvízzel öntöttük.

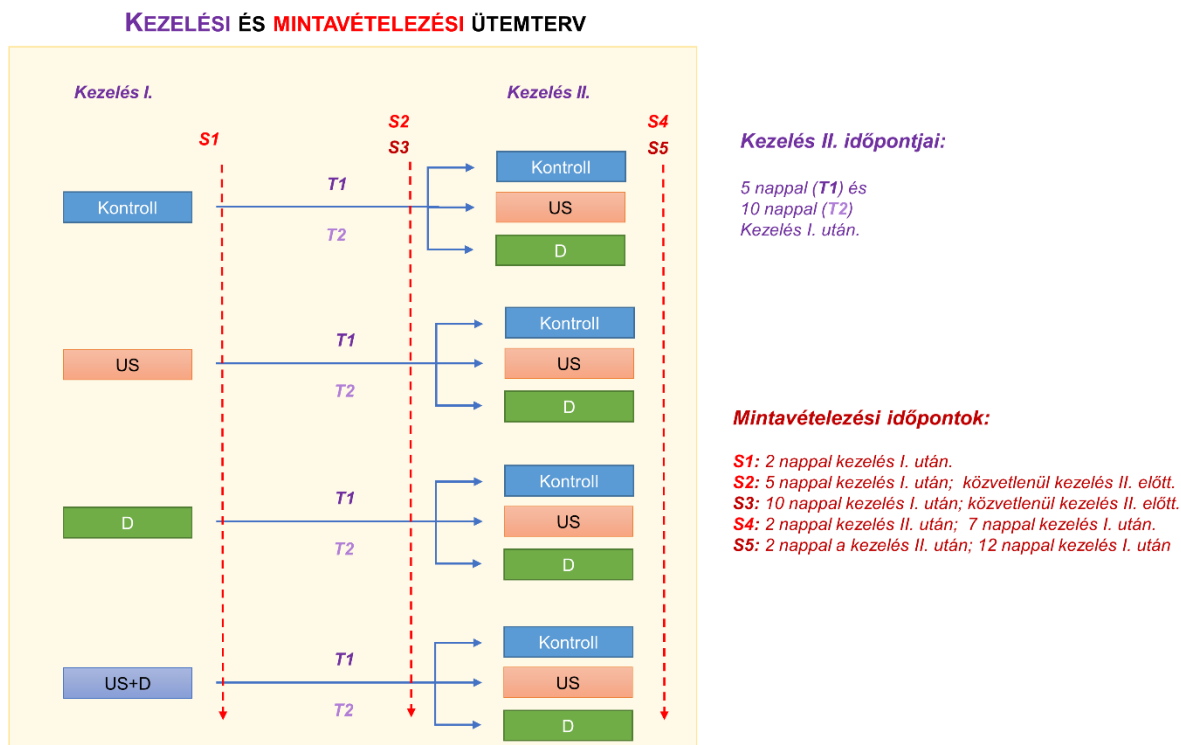
4.2. Kezelési és mintavételi eljárások

A kísérletek során két különböző ingert alkalmaztunk: ultrahang és szárazságstressz kezelést, melyek hatását külön-külön, valamint kombináltan is vizsgáltunk. A kezelések első alkalommal a kísérlet kezdetén történtek (kezdeti stimulus; I. kezelés), majd ezt követően az első kísérletsorozatban az első ingertől számított 5. napon, a második kísérletsorozatban pedig a 10. napon ismételtük meg azokat (II. kezelés), amint azt a 7. ábra szemlélteti.

A szárazságstresszt (D) minden egyes növény esetében 10 ml mennyiségű, 20%-os PEG-et (polietilén-glikol 6000) tartalmazó oldattal történő öntözéssel idéztük elő. Az ultrahang kezelést (US) egy ultrahang-generátor segítségével végeztük, 30 kHz frekvencián és 120 W teljesítményen, 5 perces expozíciós idővel. A kezelés során a növények és az ultrahangfej közötti átlagos távolság 6 cm volt, a közvetítő közegként pedig a levegő szolgált. A kombinált kezelés (US+D) során az ultrahanggal kezelt növényeket közvetlenül az ultrahang expozíciót követően öntöttük meg a fent említett PEG-oldattal.

A kísérletbe összesen 168 növényt vontunk be. A kísérlet kezdetén (I. kezelés) mindegyik kezdeti kezelési csoport (D, US, US+D), valamint a kontroll csoport is 42-42 egyedből állt. A későbbiekben minden egyes csoportból 3 különálló alcsoportot hoztunk létre, amelyeket a II. kezelés (kontroll, US és D ismételt kezelés) után alkalmaztunk.

Vizsgáltuk a génátírában (transzkripcióban) és a DNS-metilációs mintázatban bekövetkező változásokat az ultrahang (US), a szárazságstressz (D), valamint a kombinált (US+D) kezelésekre adott válaszként, a kezeléseket követő 48 óra (2 nap) elteltével. A két inger (US és D) ismételt alkalmazásának (II. kezelés, az I. kezelést követő 5. vagy 10. napon) génexpresszióra gyakorolt hatását szintén tanulmányoztuk, közvetlenül a második kezelés előtt (szintén: II. kezelés, az I. kezelést követő 5. vagy 10. napon), illetve az alkalmazásuk után 2 nappal (tehát a 7., illetve a 12. napon).



7. ábra Kezelési (T) és a mintavételezési (S) rend vázlatos illusztrációja (rövidítések: US - ultrahang kezelés; D - szárazságkezelés; US+D - ultrahang és szárazságkezelés).
(Forrás: FARKAS et al., 2025, szerkesztett)

A vizsgálatban szereplő célgének kiválasztása az előzetes RNA-seq elemzések eredményei alapján történt, olyan markereket keresve, amelyek a kombinált kezelésre a legerőteljesebb és legspecifikusabb molekuláris választ adták. A kombinált kezelést (US+D, I. kezelés) követően, a kísérlet asszociatív szakaszában (II. kezelés), két kiválasztott célgén esetében az ultrahangot kondicionált ingerként (CS), míg a szárazságstresszt nem kondicionált ingerként (UCS) alkalmaztuk. Ezzel szemben a másik két vizsgált célgén esetében a szárazságstressz szolgált kondicionált ingerként (CS), az ultrahang pedig nem kondicionált ingerként (UCS). Tanulmányoztuk ezen ingerek hatását a kiválasztott célgének expressziós intenzitásának változására (részletesen lásd alább). A tanítás a kondicionálás két lépésében valósult meg: az I. kezelés a kísérletek kezdetén (kezdeti ingerek), a II. kezelés pedig a kísérletek 5. vagy 10. napján történt (ismételt ingerek), két független kísérleti sorozatban. A tanítási eljárásokat és a mintavételi rendet az 7. ábra foglalja össze. Az abszolút

kontroll növények nem részesültek kezelésben; jelölésük az S1, S2 és S3 mintavételi időpontokban „C”, míg az S4 és S5 időpontokban „C és C” volt. Emellett azokat a növényeket, amelyek csak az I. kezelésben részesültek (azaz nem kaptak ismételt ingert), a II. kezelésben részesülő (ismételt ingernek kitett) növények kontroll csoportjaiként kezeltük. Ezen kontrollok beiktatása elengedhetetlen volt a növények folyamatos fejlődéséből adódó esetleges hatások nyomon követéséhez; ezeket a csoportokat „US és C”, „D és C”, valamint „US+D és C” jelöléssel láttuk el (7. ábra).

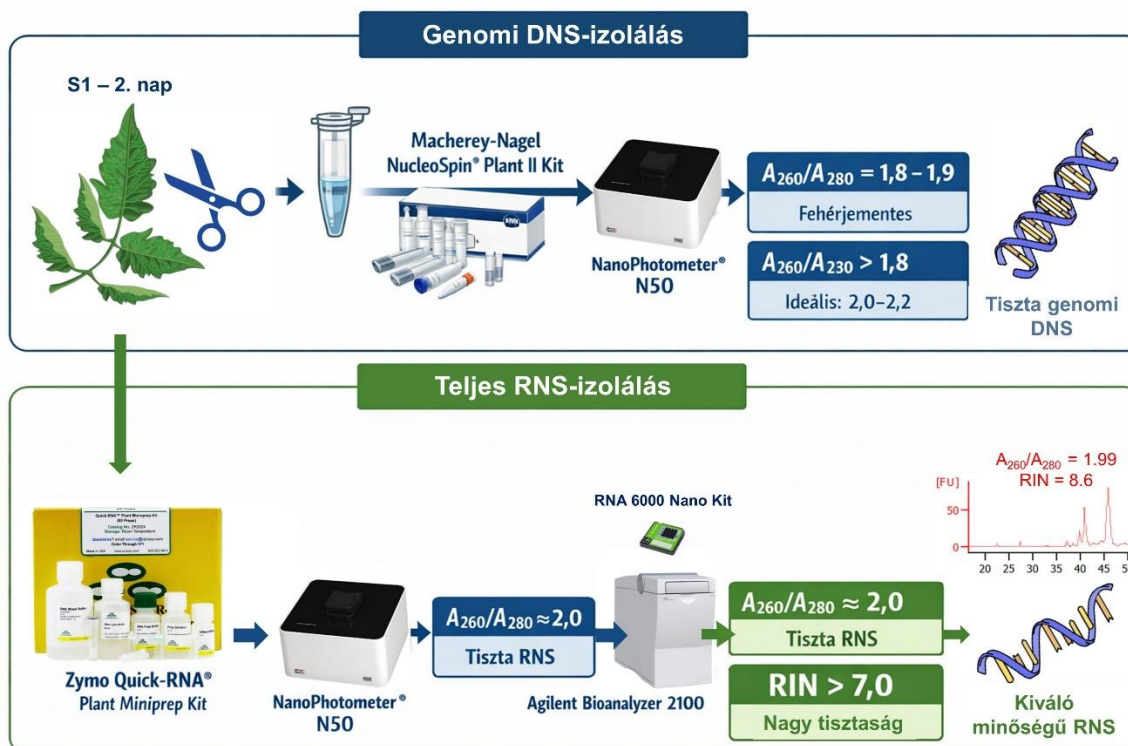
A kísérlet során öt mintavételi időpontot határoztunk meg; minden egyes időpontban kezelésként vagy kezeléskombinációnként 3-3 különböző biológiai replikátumot gyűjtöttünk be véletlenszerű kiválasztással. A mintavételezés a következőképpen alakult: 2 nappal a kezdeti ingerek (I. kezelés) után (S1); 5 nappal (S2) vagy 10 nappal (S3) az I. kezelést követően, közvetlenül az ismételt ingerek (II. kezelés) előtt; végül pedig 2 nappal a II. kezelés után mindkét kísérleti sorozatban (S4 és S5) (7. ábra).

4.3. DNS és RNS izolálás szekvenáláshoz

A genomi (teljes) DNS-izolálást paradicsomlevelekből végeztük el, kezelt és kontroll csoportonként két független biológiai replikátumban, az első mintavételi időpontban (S1, 2. nap). A DNS izolálása a Macherey-Nagel Nucleospin® Plant II kitet alkalmaztunk gyártó által optimalizált protokoll szerint. Az izolált genomi DNS koncentrációját és tisztasági fokát (spektrofotometriás úton) NanoPhotometer® N50 (Implen, München, Németország) készülékkel határoztuk meg. A minták tisztaságát az abszorbancia-arányok alapján ellenőriztük:

- A260/A280 arány: Csak azokat a mintákat használtuk fel, amelyeknél ez az érték a 1,8–1,9 tartományba esett, biztosítva a fehérjementességet.
- A260/A230 arány: A szekvenáláshoz szükséges nagy tisztaság érdekében a célérték > 1,8 (ideális esetben 2,0–2,2) volt, ami a szénhidrátoktól és sóktól való mentességet igazolta (8. ábra).

Szekvenálásra, garantálva a transzkripció adatok megbízhatóságát csak azokat a mintákat küldtük el, melyek ezen követelményeknek eleget tettek (8. ábra).



8. ábra Genomi DNS és totál RNS izolálás lépései. (Forrás: saját szerkesztés)

A teljes RNS-t paradicsomlevelekből vontuk ki három biológiai replikátumban (S1, 2. nap), a Zymo Quick-RNA™ Plant Miniprep Kit (Zymo Research, Irvine, CA, USA) használatával, szigorúan követve a gyártó előírásait. Az izolált RNS mennyiségi és minőségi paramétereit mikropilláris elektroforézissel ellenőriztük NanoPhotometer® N50 készüléken (Implen, München, Németország), a nukleinsav integritását pedig fragmensanalízissel validáltuk Agilent Bioanalyzer 2100 rendszeren, RNA 6000 Nano Kit (Agilent, Santa Clara, CA, USA) használatával.

A minták minőségbiztosítása több lépésben történt:

- Koncentráció és tisztaság: A NanoPhotometer® mérések alapján az RNS-minták A_{260}/A_{280} aránya minden esetben $\sim 2,0$ körül alakult, ami tiszta RNS-re utal.
- Kizárólag a $RIN > 7,0$ (RNA Integrity Number, RNS integritási szám) értékkel rendelkező mintákat továbbítottuk szekvenálásra (8. ábra).

4.4. RNS-szekvenálás (RNA-seq) és bioinformatikai elemzés

4.4.1. Könyvtárkészítés és szekvenálás

Az mRNS-könyvtárak előkészítését a Novogene (UK/China) végezte, standard protokoll szerint. A folyamat magában foglalta a poly-A dúsítást (mRNS-szelekció oligo(dT) gyöngyökkel), a fragmentálást, majd a cDNS-könyvtár felépítését (random hexamer primerekkel végzett reverz transzkripcióval). A könyvtárak minőségét (méreteloszlás és moláris koncentráció) Agilent 2100 BioAnalyzer-rel ellenőrizték a szekvenálás előtt. A szekvenálást Illumina NovaSeq X Plus platformon végezték, páros végű (paired-end, PE150) módban, amely mintánként nagy áteresztőképességű, 150 bázispár hosszúságú szekvencia-leolvasást (reads) biztosított.

4.4.2. Nyers adatok előfeldolgozása és minőségbiztosítása

A bioinformatikai feldolgozás első lépéseként a nyers adatok minőségét a FastQC v0.12.1 (ANDREWS, 2010) szoftverrel értékeltük ki. A nem megfelelő minőségű nyers adatok, az adapter-szekvenciák és a szennyeződések eltávolítását a fastp v0.26.0 (CHEN et al., 2018) programmal végeztük el, szigorú szűrési paraméterek mellett, hogy kizárólag a nagy pontosságú (high-quality) leolvasások maradjanak a további elemzésre.

4.4.3. Illesztés és kvantifikálás

A megtisztított szekvenciákat a paradicsom legfrissebb referencia-genomjához (*S. lycopersicum* SL4.0, Sol Genomics Network) illesztettük a Hisat2 v2.1.1 (Hierarchical Indexing for Spliced Alignment of Transcripts, KIM et al., 2019) algoritmussal, amely képes a splanszolt (hasított) átiratok pontos kezelésére is. Az illesztett adatok (BAM fájlok) alapján a génszintű expressziós értékek (read counts) meghatározása a FeatureCounts v2.1.1 (LIAO et al., 2014) csomaggal történt, az ITAG4.0 génannotáció alapján.

4.4.4. Differenciális génexpresszió elemzése

A statisztikai elemzést az R szoftverkörnyezetben futó DESeq2 v1.44.0 (LOVE et al., 2014) csomaggal végeztük. A számítások előtt elvégeztük az adatok normalizálását (a könyvtárméret-különbségek kiküszöbölésére) és a log-transzformációt. A differenciálisan kifejeződő gének (Differentially Expressed Genes, azaz DEG-ek) azonosításához a következő statisztikai szűrőket alkalmaztuk:

- Log2-fold change (LFC_2) > 0,58 (ami legalább 1,5-szeres expresszió-változásnak felel meg);
- Korrigált P -érték ($p\text{-adj}$) < 0,05, ahol a többszörös tesztelésből eredő hibákat a Benjamini-Hochberg módszerrel korrigáltuk (FDR).

A minták közötti hasonlóságot és a biológiai replikátumok konzisztenciáját főkomponens-analízissel (PCA) és hierarchikus klaszterezéssel ellenőriztük.

4.5. Teljes genom-szintű biszulfid szekvenálás (Whole Genome Bisulfite sequencing - WGBS) és bioinformatikai elemzés

4.5.1. DNS-könyvtár készítése és szekvenálás

A DNS-metilációs könyvtárak előkészítését – beleértve a DNS fragmentálását és a biszulfidos kezelést –, valamint a szekvenálást a Novogene végezte. A kinyert genomi DNS-t meghatározott méretű szakaszokra fragmentálták, majd nátrium-biszulfidos kezelésnek vetették alá. Az adapterek ligálását és a PCR-amplifikációt követően a könyvtárakat szigorú minőség-ellenőrzésnek vetették alá a megfelelő hozam és a töredékméret-eloszlás biztosítása érdekében. A szekvenálás Illumina NovaSeq X Plus platformon történt, páros végű (paired-end, PE150) stratégiát alkalmazva, 150 bázispár leolvasási hosszal.

4.5.2. Bioinformatikai feldolgozás és illesztés

A nyers szekvencia-leolvasások minőségbiztosítását a FastQC v0.12.1 (ANDREWS, 2010) szoftverrel végeztük, a szűrést és az adapterek eltávolítását pedig a fastp v0.26.0 (CHEN et al., 2018) programmal hajtottuk végre. A megtisztított adatokat a Bismark v0.24.2

szoftver (KRUEGER és ANDREWS, 2011) segítségével illesztettük a paradicsom referencia-genomjához (*S. lycopersicum* SL4.0, Sol Genomics Network; <https://solgenomics.net/>). A több helyre illeszkedő leolvasások eltávolítása (deduplikáció) után elvégeztük a metilációs szintek kinyerését (extraction) mindhárom szekvenciakörnyezetben (CpG, CHG és CHH).

4.5.3. Differenciálisan metilált régiók és gének azonosítása

A differenciálisan metilált régiók (DMR-ek) és gének (DMG-k) azonosításához a MethylKit v1.30.0 (AKALIN et al., 2012) csomagot alkalmaztuk. A megbízhatóság érdekében legalább 10-szeres (10X) citozin-leolvasási lefedettséget és $P < 0,05$ szignifikancia-küszöböt írtunk elő. A DMR-eket egy 200 bázispár hosszúságú csúszóablakos (sliding window) módszerrel határoztuk meg, ahol a metilációs különbség mértéke meghaladta a 10%-ot. Differenciálisan metilált génnek (DMG-nek) azokat az egységeket tekintettük, amelyeknél a DMR a gén kódoló régiójában, vagy az attól 3 kb távolságra lévő upstream promóter régióban helyezkedett el. A DMR-ek és DMG-k annotálását a Genomation v1.36.0 (AKALIN et al., 2015) csomaggal végeztük.

4.5.4. Funkcionális annotáció és vizualizáció

A differenciálisan kifejeződő gének (DEGs) és a differenciálisan metilált gének (DMGs) Gén Ontológia (GO) annotációit a Sol Genomics Network adatbázisából nyertük ki. A funkcionális dúsítási analízist (enrichment analysis) a ClusterProfiler v4.12.6 (YU et al., 2012) csomaggal végeztük, hogy azonosítsuk a szignifikánsan dúsult GO-kategóriákat ($P < 0,05$). Az adatok vizuális megjelenítéséhez az R programozási nyelv v4.4.1 (R CORE TEAM, 2025) ggplot2 v3.5.2 (WICKHAM, 2016) grafikai csomagját használtuk.

4.6. RT-qPCR elemzés

4.6.1. RNS-izolálás és minőségellenőrzés RT-qPCR-hez

Az RT-qPCR vizsgálatokhoz szükséges teljes RNS izolálását, valamint annak mennyiségi és minőségi ellenőrzését a 4.3. fejezetben (DNS és RNS izolálás szekvenáláshoz) részletezett módszer szerint végeztük el. A mintavétel során minden kontroll- és kezelt csoport esetében három független biológiai replikátumot gyűjtöttünk be, a kijelölt növények összes levelének felhasználásával. A kísérleti hiba minimalizálása érdekében a korábbi időpontokban már mintavételezett egyedeket kizártuk a további mintavételezési folyamatokból.

4.6.2. cDNS-szintézis (reverz transzkripció)

A cDNS-szintézist mintánként 200 ng össztömegű RNS-ből végeztük, 2,5 μ M koncentrációjú random nonamer (véletlenszerű kilenctagú oligonukleotid) primerek alkalmazásával. A reakcióhoz a Reverse Transcriptase Core Kit (Eurogentec, Seraing, Belgium) készletet használtuk, szigorúan követve a gyártó előírásait.

A termikus ciklus a következő lépésekből állt:

1. Primerkötődés: 25 °C-on 10 percig;
2. Reverz transzkripció (szintézis): 48 °C-on 30 percig;
3. Enziminaktiválás: az RT-enzim hőkezelése 95 °C-on 5 percig.

A szintézis végeztével az elkészült cDNS-mintákat a további felhasználásig –20 °C-on tároltuk.

4.6.3. Primer-tervezés és háztartási gének kiválasztása

Korábbi tanulmányok alapján négy háztartási gént választottunk ki a normalizáláshoz: az exocyst complex component SEC3A (*SEC*), az elongation factor 1-alpha (*ELO*), a glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (*GAPDH*), valamint az ubiquitin-ribosomal protein eS31 fusion protein-like (*UBI*) géneket (TEIXEIRA DA SILVA et al., 2020; UPADHYAY et al., 2019). A jelölt háztartási gének expressziós stabilitásának összehasonlítására - a ciklus-kvantifikációs (Cq) értékek alapján - a komparatív Δ Ct

módszert (SILVER et al., 2006), valamint a geNorm (VANDESOMPELE et al., 2002), NormFinder (ANDERSEN et al., 2004) és BestKeeper (PFAFFL et al., 2004) statisztikai eljárásokat alkalmaztuk a RefFinder (XIE et al., 2012) átfogó szoftvereszköz segítségével.

A vizsgálandó célgénéket az RNS-szekvenálási adatokban mért magasabb pozitív és negatívabb logaritmikus expresszió-változási (log-fold change, röviden LFC) értékek alapján választottuk ki. A cél- és housekeeping gének szekvenciáit eredetileg a NCBI (National Center for Biotechnology Information) adatbázisából töltöttük le. Minden primert a SnapGene (v8.0) szoftverrel terveztünk, majd a PCR Primer Stats (www.bioinformatics.org) eszközzel ellenőriztük a potenciális primerek tulajdonságait.

A primertervezés során az alábbi kritériumokat tartottuk szem előtt (2. táblázat):

- Olvadási hőmérséklet (T_m): 56–62 °C;
- Primerhosszúság: 18–25 bp;
- GC-tartalom: 40% és 60% között;
- PCR-termék (amplikon) hossza: 150–250 bp ideálisan.

Minden lehetséges amplikon esetében ellenőriztük a homológiát más génekkel az NCBI BLASTn (Basic Local Alignment Sequence Tool for nucleotides) szoftver segítségével a specifitás biztosítása érdekében. A primerek szintézisét az Integrated DNA Technologies (Leuven, Belgium) végezte (2. táblázat).

4.6.4. Szekvenálási adatok validálása RT-qPCR módszerrel

A szekvenálási eredmények validálásához minden kontroll- és kezelt csoportból (S1, 2. nap) három független biológiai ismétlést alkalmaztunk, amelyeket három technikai ismétlésben mértünk. A teljes RNS-ből (200 ng) cDNS-t szintetizáltunk a Reverse Transcriptase Core Kit (Eurogentec, Seraing, Belgium) segítségével.

Az RT-qPCR reakciókat Takyon™ No Rox® SYBR MasterMix dTTP Blue (Eurogentec, Seraing, Belgium) készlettel végeztük el, a gyártó által előírt protokoll szerint, AriaMx Real-Time PCR (Agilent Technologies Inc., USA) rendszeren (9. ábra). Az RNA-seq és az RT-qPCR adatok közötti összefüggés számszerűsítésére Pearson-féle korrelációs együtthatót számítottunk, az eredményeket pedig a GraphPad Prism 10.0.0 (Windows verzió; GraphPad Software, Boston, Massachusetts, USA; www.graphpad.com) szoftverrel ábráztuk.

2. táblázat: Célgénnek és az alkalmazott primerek.

Lókus azonosító (NCBI)	Gén neve	Rövidítés	A forward és reverse primerek szekvenciája (5'–3')	Amplikonhossz (bp)
LOC101268171	Exocyst complex component SEC3A	<i>SEC</i>	F – CTCCTCAGTGGACAATGCGT R – TCTTCCACAGCAGCACTGAC	208
LOC544055	Elongation factor 1-alpha	<i>ELO</i>	F – AAGAGGCCATCAGACAAGCC R – TGAGGCAACATAACCACGCT	267
LOC100736499	Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase	<i>GAPDH</i>	F – ATTCCATGGGCACAGACTGG R – GGGAGCAAGGCAATTTGTGG	225
LOC138336996	Ubiquitin-ribosomal protein eS31 fusion protein-like	<i>UBI</i>	F – CCACTCTCCATCTCGTGCTC R – GTGAGCCCACACTTACCACA	247
LOC100316893	Protein auxin-regulated gene involved in organ size	<i>ARGOS</i>	F – GACATGGAATCATCAGAGGCA R – TGGCAATGGTGGAAGCATCA	240
LOC101252337	Protein EXORDIUM-like 5	<i>EX</i>	F – ACTCCCTCCGAGAACACTATCTTC R – CAACGAAACAGTACTCCACCACT	241
LOC101248880	Transcription factor MYB24-like	<i>MYB</i>	F – AGGCAGATGGAATTGTGTTGC R – CGTTGTCAGTTCTCCCTGGCA	206
LOC101265579	Chlorophyllase-2	<i>CHL</i>	F – CAAATCCGTACTGCCGGAGA R – ACGAGGGATGTATTTCGAGAACG	205
LOC101251154	Probable aquaporin TIP3-2- like	<i>TIP</i>	F – TAGTGATAGCGTTGGCGCAT R – GCCATCAGTAGCAAGCCTCA	206

4.6.5. RT-qPCR vizsgálatok későbbi mintavételi időpontokból származó minták esetén

Az RT-qPCR reakciókat Takyon™ No Rox® SYBR MasterMix dTTP Blue készlettel (Eurogentec, Seraing, Belgium) végeztük el, a gyártó által előírt protokoll szerint. A 20 µl-es végső reakciótérfogat a következő összetevőkből állt: 2,5 µl cDNS, 2-2 µl oligonukleotid (primer-pár), 10 µl Takyon™ MasterMix és 3,5 µl nukleázmentes víz. A primereket (forward és reverse) 0,1 µM-os végső koncentrációban alkalmaztuk.

Az amplifikációs protokoll a következő lépésekből állt:

Kezdeti denaturáció és enzimaktiválás: 95 °C-on 3 percig;

Ciklusok (40 ismételés):

1. Denaturáció: 95 °C-on 10 másodpercig;
2. Primer-specifikus kötődési (annealing) hőmérséklet: 52,5 °C-on 20 másodpercig;
3. Lánchosszabbítás (extension): 72 °C-on 30 másodpercig.

A méréseket minden kontroll- és kezelt minta esetében három független biológiai replikátumban, és minden biológiai mintát három technikai ismételésben (triplikátumban) futtattunk le.

4.7. Statisztikai elemzés

Az RT-qPCR vizsgálatok során a három technikai ismételés átlagértékét vettük alapul, minden biológiai ismételésben, majd a relatív génexpressziót a $2^{-\Delta\Delta C_q}$ módszerrel határoztuk meg. A génexpresszió logaritmikus változását (LFC – logarithmic fold change) és a szórásértékeket Microsoft Excel (Microsoft, Redmond, WA, USA) szoftver segítségével számítottuk ki.

Az RT-qPCR eredmények részletes statisztikai elemzéséhez az IBM SPSS Statistics 25 (SPSS®, version 25.0) szoftvert alkalmaztuk. A csoportok közötti többszörös összehasonlításhoz kétféle variánscianalízist (two-way ANOVA) végeztünk, ahol a fő faktorokként a kezelés típusát és az időpontot határoztuk meg. A csoportok közötti szignifikáns különbségek pontos azonosítása érdekében Tukey-féle B-tesztet (post-hoc teszt) alkalmaztunk.

A statisztikai szignifikancia küszöbértékét $P < 0,05$ szinten rögzítettük. Az eredmények vizuális megjelenítéséhez, a grafikonok elkészítéséhez és a szignifikancia-szintek jelöléséhez a GraphPad Prism 10.0.0 (Windows verzió; GraphPad Software, Boston, Massachusetts, USA) programot használtuk.

5. EREDMÉNYEK

5.1. A transzkriptom-profil globális változásainak értékelése főkomponens-analízissel, hőtérképpel és vulkánplottal

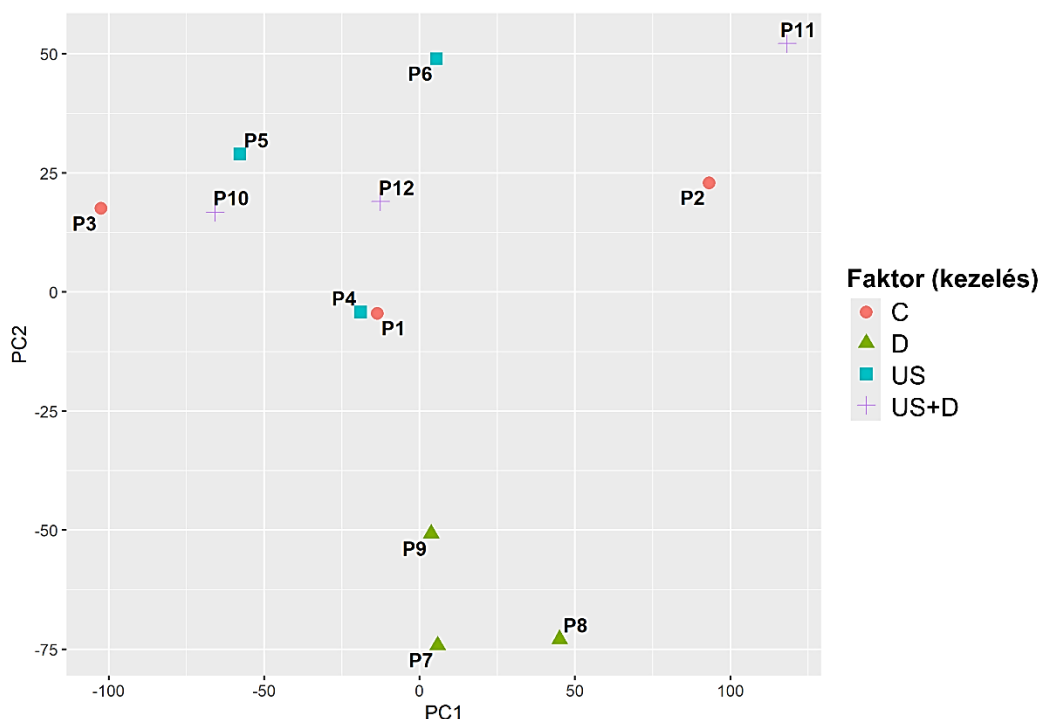
A transzkriptom adatok komplexitásának és a minták közötti hasonlóságok feltárása érdekében főkomponens-analízist (PCA) végeztünk, amely a teljes génkifejeződési mintázat alapján koordináta-rendszerben ábrázolja az egyes biológiai ismétléseket (9. ábra).

A grafikon függőleges tengelye (PC2) mentén látható a legélesebb elkülönülés a kezelési típusok között. Megfigyelhető, hogy a kontroll mintákhoz (C, piros pontok) képest a szárazság (D, zöld háromszögek) és az ultrahang kezelés (US, kék négyzetek) ellentétes irányú transzkriptom-szintű átrendeződést váltott ki. Míg a szárazság hatására a minták (P7, P8, P9) a negatív tartomány felé tolódtak el, addig az ultrahang kezelés (P4, P5, P6) a pozitív irányba mozdította el a génkifejeződési profilt. Ez az éles elkülönülés arra utal, hogy a két inger alapvetően eltérő molekuláris útvonalakat aktivál vagy gátol a növényekben, ami alátámasztja hipotézisünket az ultrahang specifikus hatásáról.

A kombinált kezelésben részesült minták (US+D, lila keresztek) elhelyezkedése a PC2 tengelyen a kontroll és az ultrahang kezelés közötti sávban található. Ez a megfigyelés biológiai szempontból kulcsfontosságú, mivel azt jelzi, hogy az ultrahang kezelés képes volt módosítani vagy „felülírni” a szárazság által kiváltott tipikus transzkriptom-választ. Az US kezelés tehát megakadályozta a minták szárazság-specifikus eltolódását, ami egyfajta molekuláris „pufferhatást” vagy priming-jellegű interferenciát sejtet a két inger között. Ez a jelenség úgy értelmezhető, hogy az egyik inger (US) jelenléte megváltoztatja a növény válaszképességét egy másik stresszorra (D). Az ultrahang itt egyfajta „priming” (felkészítő) ágensként működhetett, amely a transzkriptom szintjén mérsékelte a stressz-specifikus eltolódást, hasonlóan ahhoz, ahogyan más mechanikai ingerek (pl. érintés vagy vibráció) növelik a növények későbbi stressztűrését (JUNG et al., 2018).

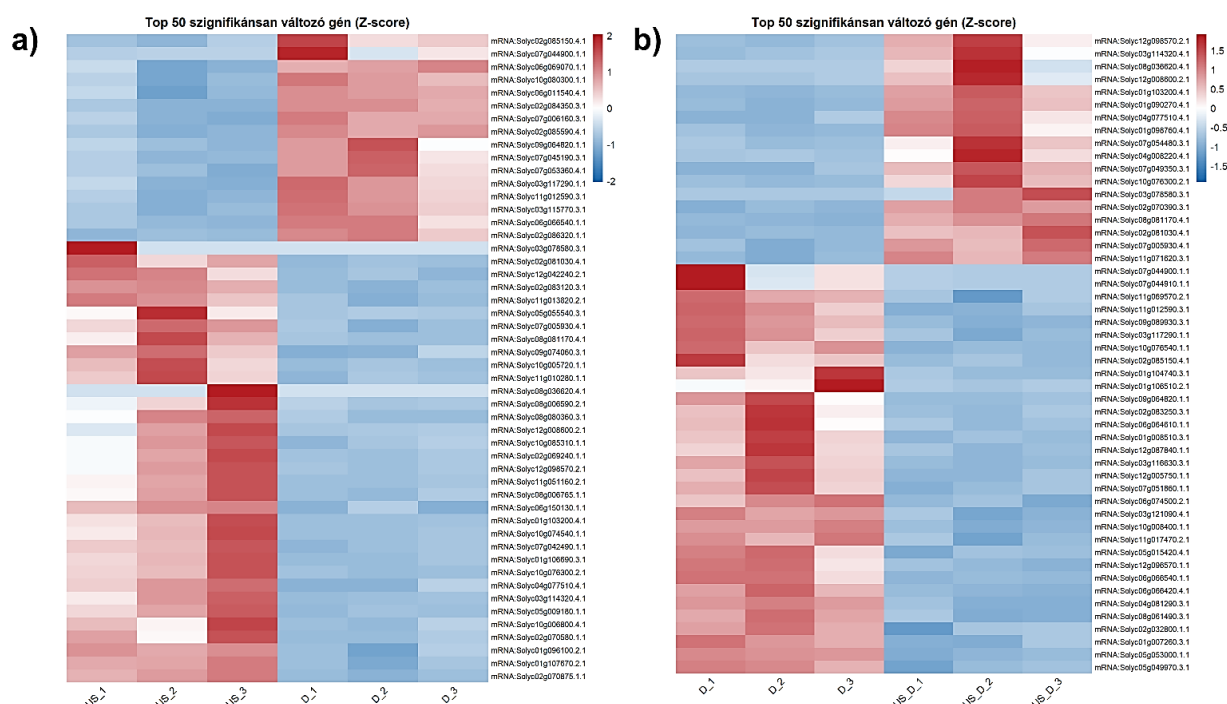
A vízszintes tengelyen (PC1) megfigyelhető jelentős távolság – különösen a kontroll (pl. P3 vs. P2) és a kombinált kezelés (pl. P11 vs. P10) mintái között – a növények egyedi biológiai variabilitását tükrözi. A kísérleti elrendezés és az ellenőrzött klímakamrai

körülmények ellenére a ‘Micro-Tom’ egyedek válaszreakciója bizonyos fokú heterogenitást mutat, ami gyakori jelenség a stresszélettani kutatásokban.



9. ábra Főkomponens-analízis (PCA) a *Solanum lycopersicum* L. cv. ‘Micro-Tom’ paradicsom transzkriptomikai (RNA-seq) adatai alapján. A diagram a minták (P1–P12 biológiai ismétlések) elhelyezkedését mutatja a két legnagyobb varianciát magyarázó főkomponens (PC1 és PC2) mentén. A különböző szimbólumok és színek a kezelési csoportokat jelölik: kontroll (C), szárazság (D), ultrahang kezelés (US), valamint a szárazság és ultrahang kezelés kombinációja (US+D). (Forrás: FARKAS et al., 2025, szerkesztett)

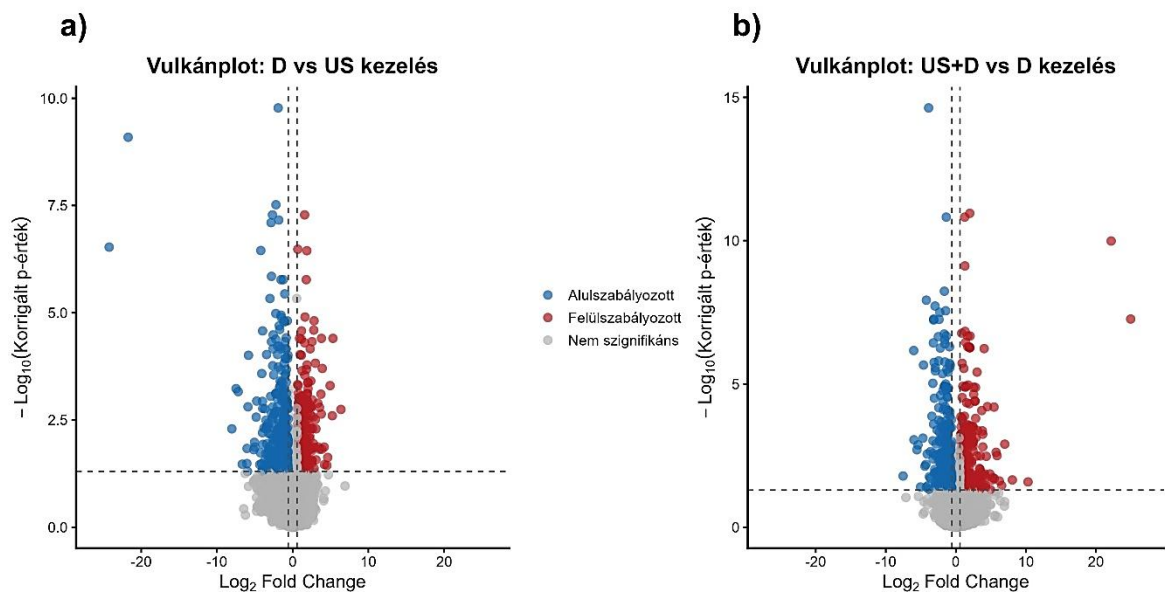
Összességében a PCA plot igazolja, hogy az ultrahang kezelés nem csupán egy gyenge inger, hanem a szárazsághoz mérhető nagyságrendű, de attól minőségileg eltérő transzkriptom-szintű változást eredményez. A kezelések csoportosulása alátámasztja a kísérleti beállítások validitását és a későbbi differenciál génexpressziós analízis (DEG) létjogosultságát, lehetőséget adva a specifikus stresszválasz géncsoportok mélyebb elemzésére.



10. ábra A paradicsom (*Solanum lycopersicum* L. ‘Micro-Tom’) transzkriptom-szintű válaszreakcióinak összehasonlítása. Az ábrák a top 50 differenciálisan expresszált gén (DEG) relatív kifejeződési mintázatát mutatják be Z-score skálázás alapján. a) Az ultrahangos (US) és a szárazság (D) kezelés hatására kialakuló, egymástól jól elkülönülő, antagonisztikus expressziós profilok. b) A szárazság (D) és a kombinált (US+D) kezelés összehasonlítása. A vörös szín azokat a géneket jelöli ahol expressziófokozódást, a kék szín azokat, ahol expressziócsökkenést mértünk; n=3 biológiai ismételtes. (Forrás: saját)

A vizsgált minták génexpressziós profilját reprezentáló hőterkép (10. ábra) vizuális megerősítést nyújt a főkomponens-analízis során azonosított globális trendekhez. Az ábrán megfigyelhető markáns kék-vörös kontraszt az ultrahanggal (US) kezelt és a szárazságnak (D) kitett minták között a transzkriptom-szintű átrendeződés ellentétes irányultságát dokumentálja (2. melléklet).

A transzkriptom-szintű átrendeződés mértékét és statisztikai megbízhatóságát vulkánplotok segítségével elemeztük (11. ábra). Az a) grafikon aszimmetriája és a kék pontfelhő ($\log_2 FC < -20$) egyértelművé teszi, hogy az ultrahangos kezelés (US) nem csupán egy gyenge fizikai inger, hanem a szárazsághoz (D) mérhető nagyságrendű, de attól minőségileg jól elkülöníthető molekuláris választ vált ki. Ez a megfigyelés alátámasztja a PCA-elemzés során tapasztalt éles elkülönülést a két stresszor között.



11. ábra A differenciálisan expresszált gének (DEG) statisztikai eloszlása. A vulkánplotok a génexpresszióváltozás mértékét (Log_2 Fold Change) és annak szignifikanciáját ($-\text{Log}_{10}$ korrigált p-érték) szemléltetik. a) A szárazság (D) és az ultrahangos kezelés (US) összehasonlítása. b) A kombinált (US+D) és szárazság (D) kezelések összehasonlítása. (Szaggatott vonalak: $p < 0,05$ és $|\text{Log}_2 \text{FC}| > 1$ küszöbértékek). (Forrás: saját ábra)

Még kifejezettebb a biológiai válasz a b) ábrán, ahol az US+D csoportot vetettük össze a szárazság (D) kezeléssel. Itt a jobb szélén elhelyezkedő, extrém magas expresszió-változást ($\text{Log}_2 \text{FC} > 20$) mutató géncsoportok azonosíthatók. Ezek a kiugró értékek molekuláris markereiként jelzik, hogy az ultrahangos előkezelés hatására a növény bizonyos útvonalai a szárazság bekövetkeztekor nagyságrendekkel intenzívebben aktiválódtak, mint az előkezelés nélküli egyedekben (1. melléklet).

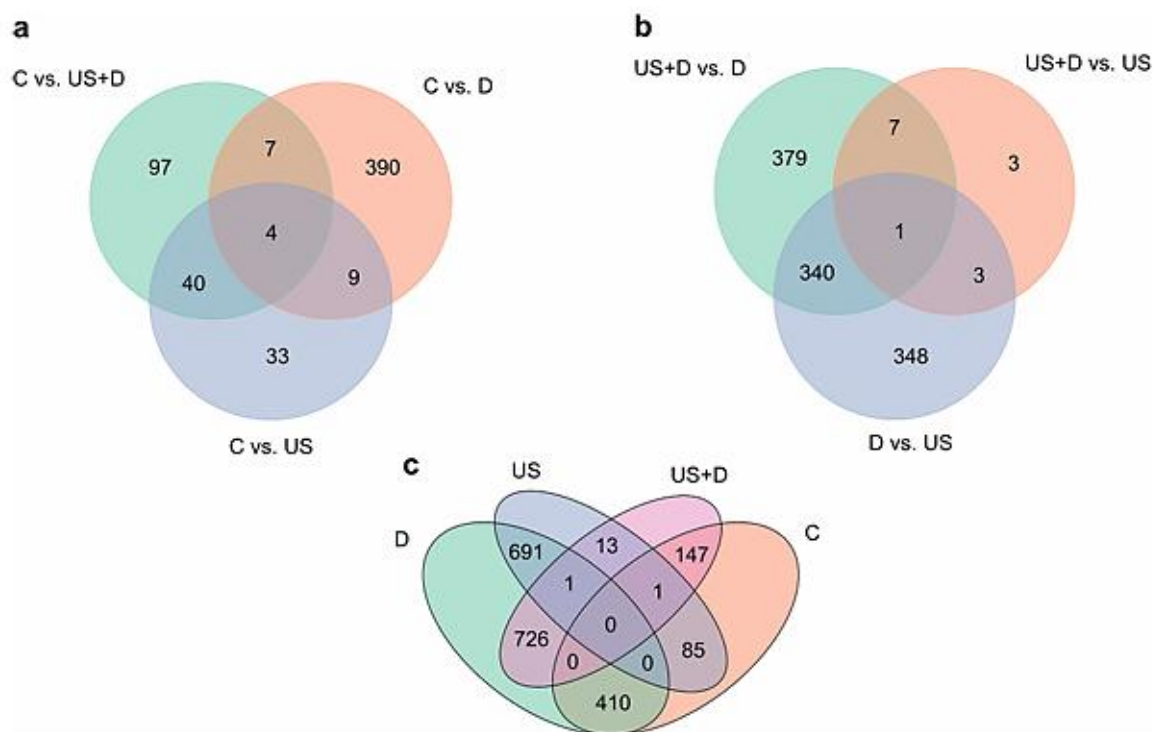
5.2. Transzkripció és DNS-metilációs válaszok a kezeléseket követő 2. napon

A 34 075 gén mRNS-expressziójának elemzése során a kontrollhoz viszonyítva számos gén esetében expressziófokozódást, illetve expressziócsökkenést azonosítottunk. Az ultrahang (US) kezelés hatására 86, a szárazságkezelés (D) hatására 410, míg a kombinált (US+D) kezelés hatására 148 gén mutatott szignifikáns változást. Ezeket a géneket differenciálisan expresszáldó génekként (DEG) azonosítottuk (12a. ábra; 11. melléklet; FARKAS et al., 2025.: 1. kiegészítő ábra, 2. kiegészítő táblázat). Amikor a stresszhatások

válaszait páronként hasonlítottuk össze, az US+D és D kezelések között 7, a D és US kezelések között 9, míg az US és az US+D kezelések között 40 azonos (átfedő) DEG-et találtunk. Mindösszesen 4 olyan differenciálisan expresszálódó gént azonosítottunk, amely mindhárom kezelésre szignifikánsan eltérő expressziós szinttel válaszolt (12a. ábra; 11. melléklet; FARKAS et al., 2025.: 2. kiegészítő táblázat).

A génontológiai (Gene Ontology, GO) kategóriák (biológiai folyamatok - BP, sejtalkotók - CC és molekuláris funkciók - MF) funkcionális dúsítási analízisét (enrichment analysis) azon differenciálisan expresszálódó gének (DEG-ek) alapján végeztük el, amelyeknél a log2-fold change értéke meghaladta a 0,58-at, a *P*-érték pedig 0,05 alatt maradt. A legtöbb biológiai folyamatot a szárazságkezelés (D) és a kontroll összehasonlításakor azonosítottuk; ekkor a DEG-ek 7 BP-kategóriához kapcsolódtak: szacharóz-anyagcsere folyamathoz, oxidatív stresszre adott válaszhoz, DNS-szálak közötti keresztkötések javításához (interstrand cross-link repair), cellulóz mikrofibrillum-szerveződéshez, sejtnövekedéshez, bioszintetikus folyamatokhoz és DNS-replikációhoz. Az ultrahang (US) kezelés esetében nem volt annotálható biológiai folyamat, míg a kombinált (US+D) kezelésnél a sebzésre adott válasz (response to wounding) BP-kategóriáját azonosítottuk. Sejtalkotókat kizárólag a szárazságkezelés esetén sikerült annotálni, az alábbi négy CC-kategóriában: monoréteggel körülvett lipidtároló test, membránhoz horgonyzott komponens, Fanconi-anémia nukleáris komplex, valamint a peroxisomális membrán integráns komponense (3., 4., 5., 6., 7., 11. melléklet; FARKAS et al., 2025.: 3. kiegészítő táblázat).

A kezelések páronkénti összehasonlítása során összesen 1433 gén expressziója változott meg. Közülük 727 gén mutatott változást az US+D vs. D és a D vs. US összehasonlításokban. A D vs. US és az US+D vs. US viszonylatában 692, míg az US+D vs. US és az US+D vs. D összehasonlításban 14 gén expressziója módosult. Az US+D vs. D és a D vs. US összehasonlítások során 340 azonos DEG-et azonosítottunk. A D vs. US és az US+D vs. US esetében 3, míg az US+D vs. US és az US+D vs. D párban 7 közös DEG mutatkozott. Csupán egyetlen olyan differenciálisan expresszálódó gént találtunk, amely mindhárom összehasonlítási párban megváltozott (12b. ábra; 11. melléklet; FARKAS et al., 2025.: 2. kiegészítő táblázat). A 12c. ábra foglalja össze az összehasonlítások metszetében található azonos géneket.



12. ábra A differenciálisan expresszálódó gének (DEG-ek) Venn-diagramja (a) a kezeletlen kontrollhoz viszonyítva, (b) az US+D, az US és a D kezelések páronkénti összehasonlításában, valamint (c) az összehasonlítások metszetei (rövidítések: US - ultrahang kezelés; D - szárazságkezelés; US+D - ultrahang és szárazságkezelés; C - kontroll). (Forrás: FARKAS et al., 2025)

Az összehasonlítások során mindössze egy-egy biológiai folyamat (BP) volt annotálható: az US vs. D viszonylatában a szénhidrát-anyagcsere folyamat, míg az US vs. US+D összehasonlításban a proteolízis (11. melléklet; FARKAS et al., 2025.: 3. kiegészítő táblázat). Az US vs. D összehasonlítás során három sejtalkotó (CC) - a monoréteggel körülvett lipidtároló test, a Fanconi-anémia nukleáris komplex és a plazmamembránhoz horgonyzott komponens - volt érintett. Ezzel szemben az US+D vs. D összehasonlításban a Fanconi-anémia nukleáris komplex mellett két másik sejtalkotót, az 1,3-béta-D-glükán-szintáz komplexet és a membránhoz horgonyzott komponenst azonosítottuk. Az US és az US+D összehasonlításakor kizárólag az intracelluláris anatómiai szerkezet (intracellular anatomical structure) kategória volt annotálható (11. melléklet; FARKAS et al., 2025.: 3. kiegészítő táblázat). Molekuláris funkciókat (MF) csupán két összehasonlításban sikerült kimutatni. Az US vs. D párban két MF-et (O-glikozil vegyületeket hidroláz aktivitás és transzmembrán transzporter aktivitás), míg az US vs. US+D összehasonlításban négy MF-et

(aminopeptidáz aktivitás, malát-dehidrogenáz (dekarboxilező) (NAD^+) aktivitás, DNS-kötő transzkripció faktor aktivitás és szekvencia-specifikus DNS-kötés) azonosítottunk (11. melléklet; FARKAS et al., 2025.: 3. kiegészítő táblázat).

Hasonlóképpen az mRNS-expressziós profilhoz, mindkét inger megváltoztatta a paradicsomnövények globális DNS-metilációját (11. ábra). A 34.075 gén promóter- és kódoló régióit egyaránt magában foglaló globális citozin-DNS-metilációs analízis során differenciálisan metilált géneket (DMG) azonosítottunk; mind hipo-, mind hipermetilációt tapasztaltunk (11. melléklet; FARKAS et al., 2025.: 4–6. kiegészítő táblázatok). Összesen 211 DMG-t találtunk a kontrollhoz viszonyítva, figyelembe véve az összes kezelést és szekvenciakörnyezetet. Huszonöt DMG bizonyult azonosnak mindhárom összehasonlításban.

A transzkriptom-szintű változásokkal párhuzamosan a globális DNS-metilációs mintázatokat vulkánplotok segítségével elemeztük a három fő szekvenciakörnyezetben (CpG, CHG, CHH) (13. ábra). Az ábrák (11. melléklet; FARKAS et al., 2025.: 8., 9., 10. mellékletek) a metilációs különbségek százalékos mértékét (Methylation Difference %) és a statisztikai szignifikanciát ($-\log_{10}$ korrigált P-érték) ábrázolják, vizuálisan is rávilágítva az egyes stresszorok epigenetikai hatásfoka közötti különbségekre.

A CpG szekvenciakörnyezetben tapasztaltuk a legintenzívebb epigenetikai átrendeződést. A kontroll és a szárazság (C vs. D), valamint a kontroll és a kombinált kezelés (C vs. US+D) összehasonlításai mutatták a legmagasabb szignifikanciaértékeket. A vulkánplotok aszimmetriája igazolja, hogy a szárazság stressz rendszerszintű hiper- és hipometilációs folyamatokat indít el, amelyek alapvető anyagcsere-utakat érintenek. (13. ábra)

A CHG szekvenciakörnyezetben végzett elemzések jelentős, de a CpG-nél célzottabb metilációs eltolódást mutattak. Különösen figyelemre méltó az ultrahang és a szárazság közvetlen összehasonlítása (US vs. D), ahol a pontfelhők jelentős szóródása igazolja a két inger eltérő epigenetikai ujjlenyomatát. Ez alátámasztja azt a megállapítást, miszerint a növényi érzékelő rendszerek a metilom szintjén is képesek minőségi különbséget tenni a mechanikai és az ozmotikus stressz között (13. ábra).

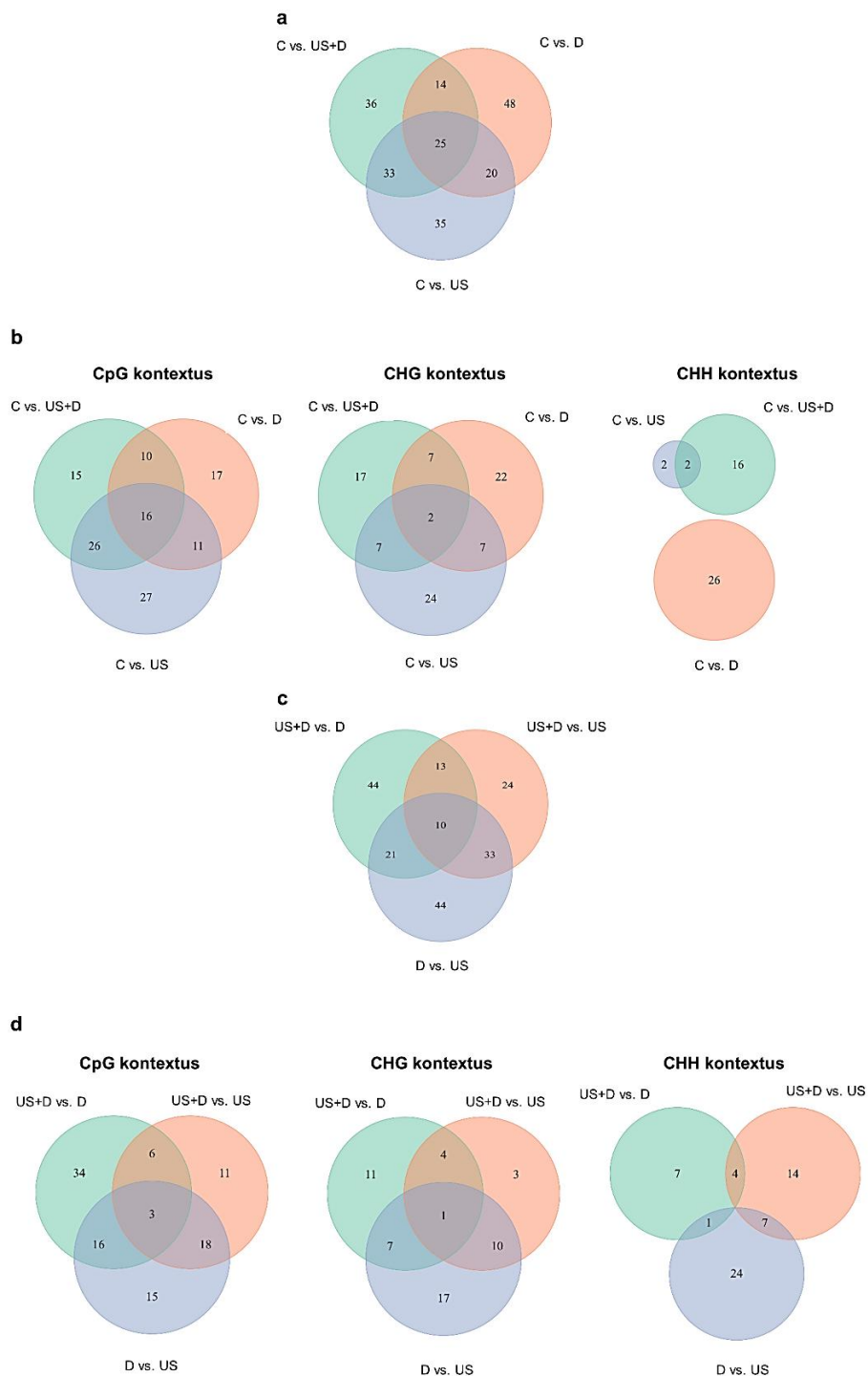
A CHH szekvenciakörnyezetben vulkánplotjai mutatták a legkevesebb szignifikáns változást, azonban ezek az eltolódások bizonyultak a leginkább inger-specifikusnak. Az US vs. US+D és D vs. US+D plotok elrendeződése vizuálisan reprezentálja a metilációs

mintázatok „átírását” a kombinált kezelés során. A CHH szekvenciakörnyezetben látható egyedi, át nem fedő metilációs pontok igazolják a *de novo* metilációs folyamatok finomhangoló szerepét a stresszmemória kialakulásában (13. ábra).

A vulkánplotok (11. ábra) eloszlása megerősíti a szekvenálási adatok validitását: a DNS-metiláció mértéke és iránya szigorúan stresszor- és szekvenciakörnyezet függő. Az adatok vizuálisan is alátámasztják az ultrahang-indukált „molekuláris pufferhatást”, ahol a kombinált kezelés (US+D) metilációs profilja elmozdul a szárazság-specifikus (D) mintázattól, bizonyítva a kondicionálás hatékonyságát az epigenom szintjén (8., 9., 10. mellékletek).

A kontroll vs. D és a kontroll vs. US + D összehasonlítások között 14, a kontroll vs. D és a kontroll vs. US között 20, míg a kontroll vs. US és a kontroll vs. US+D között 33 közös DMG-t azonosítottunk (12a. ábra). A CpG, CHG és CHH szekvenciakörnyezetben rendre 122, 86 és 46 DMG volt érintett (12b. ábra). Érdekes módon a CHH szekvenciakörnyezetben nem találtunk olyan DMG-t, amely közös lett volna a kontroll vs. US vagy a kontroll vs. US+D, illetve a kontroll vs. D összehasonlításokban. Ezzel szemben a CpG és CHG szekvenciakörnyezetben rendre 16 és 2 olyan DMG-t azonosítottunk, amely mindhárom összehasonlításban megegyezett (13b. ábra).

A differenciálisan metilált gének azonosításán túl a genomszintű metilációs profilok (12., 13. mellékletek) elemzése rávilágított arra, hogy a metilációs tájkép mindhárom szekvenciakörnyezetben jellegzetes eloszlást mutat a génszerkezet mentén. A metiláció szintje a gén kódoló régiójában a legkifejezettebb, míg a transzkripció starthelyek (TSS) és végpontok (TTS) környékén jelentős csökkenés figyelhető meg. A kontrollcsoporthoz viszonyított összehasonlítások (CpG, CHG, CHH profilok) alapján látható, hogy a szárazságstressz hatására bekövetkező metilációs eltolódások mindhárom szekvenciakörnyezetben jelen vannak, ugyanakkor az ultrahangos kezelés önmagában is képes módosítani a profilokat, igazolva a fizikai inger epigenetikai moduláló hatását. A profilok alapján megállapítható, hogy a kombinált kezelés (C vs. US+D) egyedi, a különálló kezelésektől eltérő metilációs mintázatot eredményezett, különösen a plasztikusabb CHG és CHH szinteken. Ez arra utal, hogy az ultrahang és a szárazság együttes jelenléte nem csupán a két hatás összeadódása, hanem egy komplex epigenetikai áthangolódást vált ki (5. melléklet).



13. ábra A differenciálisan metilált gének (DMG-k) Venn-diagramja az összes szekvenciakörnyezetben (a), valamint a három szekvenciakörnyezetben (CpG, CHG és CHH) (b) a kezeletlen kontrollhoz viszonyítva; továbbá az összes szekvenciakörnyezetben (c), valamint a három szekvenciakörnyezetben (CpG, CHG és CHH) (d) az US+D, az US és a D kezelések összehasonlításában (rövidítések: US - ultrahang kezelés; D - szárazságkezelés; US+D - ultrahang és szárazságkezelés; C - kontroll). (Forrás: FARKAS et al., 2025, szerkesztett).

A kontroll minták profiljai közötti minimális eltérések a biológiai ismételések természetes varianciájából, valamint az összehasonlításonkénti szekvenálási mélység normalizálásából adódnak. A statisztikai elemzés során azonban minden esetben a kontrollcsoporthoz viszonyított szignifikáns különbségeket (DMR-eket) vettük alapul.

A kezelési csoportok egymáshoz viszonyított elemzése során a legjelentősebb különbségek a szárazságstressz és a kombinált kezelés (D vs. US+D) összehasonlításában mutatkoztak (6. melléklet). Ezek a profilok igazolják, hogy az ultrahang és a szárazság egyidejű alkalmazása jelentősen módosította a növények metilációs válaszát a kizárólagos szárazságstresszhez képest: mindhárom szekvenciakörnyezetben jól látható lokális hiper- és hipometilációs eltérések figyelhetők meg a gén kódoló régiójában. Az ultrahang önmagában és a kombinált kezeléssel való összevetése (US vs. US+D) szintén rávilágított arra, hogy a szárazságstressz jelenléte érdemben átírja az ultrahang által indukált epigenetikai mintázatokat. Érdemes kiemelni, hogy a CHH szekvenciakörnyezetben tapasztalt markáns profil-eltolódások a szárazságstressz és az ultrahang hatásának nem-additív jellegére utalnak, ami alátámasztja a növények specifikus adaptív válaszát a szimultán jelentkező, komplex környezeti ingerekre.

A GO-annotáció (3-7. mellékletek) segítségével biológiai folyamatokat (BP), sejtalkotókat (CC) és molekuláris funkciókat (MF) azonosítottunk. Amikor a szárazságkezelést (D) vetettük össze a kontrollal, a differenciálisan metilált gének (DMG-k) a következő biológiai folyamatokhoz kapcsolódtak (BP): a CpG szekvenciakörnyezetben a cellulóz mikrofibrillum-szerveződéshez, a sejtnövekedéshez és a Golgi-készülékkel való vezikula-fúzióhoz; a CHG szekvenciakörnyezetben a transzlációhoz, a DNS-szálak közötti keresztkötések javításához, a fotoszintézishez, a II. fotorendszer fotoszintetikus elektrontranszportjához és a fotoszintézis fényszakaszához; míg a CHH szekvenciakörnyezetben kizárólag a fotoszintézishez. A sejtalkotók (CC) tekintetében a DMG-k a CpG szekvenciakörnyezetben a kloroplasztiszhoz és a hem-kötéshez; a CHG szekvenciakörnyezetben a riboszómához, a kloroplasztiszhoz, a Fanconi-anémia nukleáris komplexhez, a membrán perifériás komponenséhez, a II. fotorendszer oxigéntermelő komplexéhez, az I. és II. fotorendszerekhez, valamint a tilakoidhoz; a CHH szekvenciakörnyezetben pedig az I. fotorendszerhez kapcsolódtak.

A molekuláris funkciókat (MF) érintő DMG-k a CpG szekvenciakörnyezetben a hem-kötéshez és az oxidoreduktáz aktivitáshoz (párosított donorokon ható, molekuláris oxigén beépítésével vagy redukciójával járó aktivitás); a CHG szekvenciakörnyezetben a riboszóma szerkezeti alkotóelemeihez, az elektrontranszport (fotoszintetikus ciklikus elektrontranszport-útvonalon belüli elektronátvitel) aktivitáshoz és a NADH-dehidrogenáz (ubikinon) aktivitáshoz; a CHH szekvenciakörnyezetben pedig a kalmodulin-kötéshez voltak köthetők (11. melléklet; FARKAS et al., 2025.: 7–9. kiegészítő táblázatok).

Az ultrahangos (US) kezelést a kontrollal összevetve a CpG szekvenciakörnyezetben a transzláció, a fotoszintézis, a II. fotorendszer fotoszintetikus elektrontranszportja, a citokróm-komplex összeszerelődése, a fotoszintézis fényszakasza és a proteolízis biológiai folyamatait (BP) azonosítottuk. A CHG szekvenciakörnyezetben a II. fotorendszer stabilizációja, míg a CHH szekvenciakörnyezetben a membránhoz horgonyzott komponens és a mediátor komplex volt annotálható (11. melléklet; FARKAS et al., 2025.: 7–9. kiegészítő táblázatok).

A kombinált kezelés (US+D) kontrollhoz viszonyított elemzése során a legtöbb biológiai folyamat (BP) szintén a CpG szekvenciakörnyezetben volt érintett. Ezek közé tartozott a cellulóz mikrofibrillum-szerveződés, a sejtnövekedés, a Golgi-készülékkel való vezikulafúzió, a fotoszintézis, a proteolízis, a citokróm-komplex összeszerelődése, a defoszforiláció, a transzláció, valamint a kitin- és a sejtfal-makromolekula lebontó folyamatai. A CHG szekvenciakörnyezetben a fotoszintézis, míg a CHH szekvenciakörnyezetben a sejtciklus-moduláció volt annotálható. A sejtalkotókat tekintetében a CpG szekvenciakörnyezetben a membránhoz horgonyzott komponens, a tilakoid membrán integráns komponense, a kloroplasztisz, a Golgi-membrán és a riboszóma; míg a CHG szekvenciakörnyezetben a II. fotorendszer oxigéntermelő komplexe és maga a II. fotorendszer volt érintett. A legtöbb molekuláris funkciót (MF) szintén a CpG szekvenciakörnyezetben azonosítottuk, úgymint: hem-kötés, vasion-kötés, oxidoreduktáz aktivitás (párosított donorokon ható, molekuláris oxigén beépítésével vagy redukciójával járó), szerin-típusú endopeptidáz aktivitás, fehérje-tirozin/szerin/treonin-foszfataz aktivitás, GTP-áz aktivitás, a riboszómák szerkezeti alkotóelemei és a kitináz aktivitás. A CHG és CHH szekvenciakörnyezetben csupán 2–2 molekuláris funkció volt annotálható: előbbiben a kalciumion-kötés és az ATP-hidrolízis aktivitás, utóbbiban pedig a ciklin-függő fehérje-

szerin/treonin-kináz inhibitor aktivitás és a kalmodulin-kötés (11. melléklet; FARKAS et al., 2025.: 7–9. kiegészítő táblázatok).

Az ultrahang- (US), a szárazság- (D) és a kombinált (US+D) kezelések páronkénti összehasonlítása során összesen 189 génnél tapasztaltunk változást a citozinek metilációjában. Ezek közül 21, 33, illetve 13 gén mutatott változást

- az US+D vs. D és a D vs. US,
- a D vs. US és az US+D vs. US,
- valamint az US+D vs. US és az US+D vs. D kettős összehasonlítási párokban.

Tíz differenciálisan metilált régió (DMR) mindhárom összehasonlításban azonosnak bizonyult (12c. ábra; 11. melléklet; FARKAS et al., 2025.: 4–6. kiegészítő táblázatok). A legtöbb DMR-t, összesen 103-at, a CpG szekvenciakörnyezetben azonosítottuk, míg a CHG (53 DMR) és a CHH (57 DMR) szekvenciakörnyezetekben körülbelül feleannyi esetet detektáltunk (13d. ábra; 11. melléklet; FARKAS et al., 2025.: 4–6. kiegészítő táblázatok). A D vs. US összehasonlításban rendre 52, 35 és 32 DMR-t találtunk a CpG, CHG és CHH szekvenciakörnyezetekben. Ezek közül 15, 35, illetve 32 DMR kizárólag ebben az összehasonlításban fordult elő, azaz nem jelent meg sem az US+D vs. D, sem az US+D vs. US viszonylatában (13d. ábra; 11. melléklet; FARKAS et al., 2025.: 4–6. kiegészítő táblázatok).

A GO-annotáció feltárta a szárazság- (D) és az ultrahang- (US) kezelés összehasonlításához kapcsolódó biológiai folyamatokat (BP), sejtalkotókat (CC) és molekuláris funkciókat (MF) (11. melléklet; FARKAS et al., 2025.: 7–9. kiegészítő táblázatok). A legtöbb biológiai folyamat a CpG szekvenciakörnyezetben volt érintett, nevezetesen: a cellulóz mikrofibrillum-szerveződés, a sejtnövekedés, a fotoszintézis, a Golgi-készülékkel való vezikula-fúzió, a II. fotorendszer fotoszintetikus elektrontranszportja, valamint a kitin- és a sejtfal-makromolekula lebontó folyamatai. A CHG szekvenciakörnyezetben a fotoszintézis, a II. fotorendszer stabilizációja, a citokróm-komplex összeszerelődése és a sejtfal-módosítás, míg a CHH szekvenciakörnyezetben a glükoneogenezis, a mikrotubulus-alapú mozgás, az ubikvitin-függő fehérje-lebontás, a xenobiotikum-transzmembrán transzport és a sejtfal-módosítás volt érintett. A sejtalkotók két szekvenciakörnyezetben voltak annotálhatók. A CpG szekvenciakörnyezetben a kategóriák a membránhoz horgonyzott komponenshez, a tilakoid membrán integráns

komponenséhez, a Golgi-membránhoz, a membrán extrinzik komponenséhez, a II. fotorendszer oxigéntermelő komplexéhez és magához a II. fotorendszerhez kapcsolódtak. A CHG szekvenciakörnyezetben a II. fotorendszer reakcióközpontját és a II. fotorendszert azonosítottuk, míg a CHH szekvenciakörnyezetben nem történt annotáció. A molekuláris funkciók közül a CpG szekvenciakörnyezetben a szerin-típusú endopeptidáz aktivitás, az elektronátviteli aktivitás, a GTP-áz aktivitás, a vasion-kötés, az elektrontranszport (fotoszintetikus ciklikus elektrontranszport-útvonalon belüli elektronátvitel), a kitináz aktivitás és a GTP-kötés volt annotálható. A CHG szekvenciakörnyezetben az ATP-áz-kapcsolt transzmembrán transzporter aktivitás és a pektin-észteráz aktivitás jelent meg. A legtöbb molekuláris funkció a CHH szekvenciakörnyezetben érintett DMR-ekhez kapcsolódott, az alábbiak szerint: foszfoenol-piruvát-karboxikináz (ATP) aktivitás, aciredukton-dioxigenáz [vas(II)-igényű] aktivitás, ubikvitin-fehérje-ligáz kötés, mikrotubulus motoros aktivitás, O-metiltranszferáz aktivitás, mikrotubulus-kötés, xenobiotikum-transzmembrán transzporter aktivitás, antiporter aktivitás, pektin-észteráz aktivitás és ATP-hidrolízis aktivitás (11. melléklet; FARKAS et al., 2025.: 7–9. kiegészítő táblázatok; 8.- 10. mellékletek).

Az US+D kezeléssel végzett összehasonlítások tekintetében a CpG szekvenciakörnyezetben az US+D vs. US viszonylatában a Golgi-készülékkel való vezikula-fúzió, a defoszforiláció és a kitin-lebontás folyamatai voltak érintettek. Ezzel szemben az US+D vs. D összehasonlításban a fotoszintézis, a II. fotorendszer fotoszintetikus elektrontranszportja, a fotoszintézis fényszakasza, a Golgi-készülékkel való vezikula-fúzió, a transzláció, a cellulóz mikrofibrillum-szerveződés, a sejtnövekedés, a proton-mótoros erő hajtotta ATP-szintézis és a fehérje-peptidil-prolil izomerizáció biológiai folyamatai (BP) módosultak. A CHG szekvenciakörnyezetben az US+D vs. US összehasonlításban a II. fotorendszer stabilizációjához és a fotoszintézishez kapcsolódó folyamatokat, míg az US+D vs. D viszonylatában a Golgi-készülékkel való vezikula-fúziót, az intracelluláris fehérjetranszportot és a fotoszintézist azonosítottuk. A CHH szekvenciakörnyezetben a DMG-khez nem volt rendelhető biológiai folyamat. A sejtalkotók (CC) a CpG szekvenciakörnyezetben az US+D vs. US összehasonlításban a Golgi-membránhoz, míg az US+D vs. D összehasonlításban számos összetevőhöz (kloroplasztisz, tilakoid, I. fotorendszer, a tilakoid membrán integráns komponense, Golgi-membrán, riboszóma, a

membrán extrinzik komponense, a II. fotorendszer oxigéntermelő komplexe és maga a II. fotorendszer) kapcsolódtak. A CHG szekvenciakörnyezetben az US+D vs. US párban a II. fotorendszer reakcióközpontja és a II. fotorendszer, míg az US+D vs. D párban a Golgi-membrán és a citoplazma volt annotálható. A CHH szekvenciakörnyezetben nem találtunk sejtalkotóhoz köthető annotációt. A molekuláris funkciók (MF) területén a CpG szekvenciakörnyezetben az US+D vs. US összehasonlítás során a fehérje-tirozin/szerin/treonin-foszfátáz aktivitás és a kitináz aktivitás, míg az US+D vs. D összehasonlításban az elektrontranszport (fotoszintetikus ciklikus elektrontranszport-útvonalon belüli elektronátvitel), a riboszómák szerkezeti alkotóelemei és a peptidil-prolil cisz-transz izomeráz aktivitás volt jellemző. A CHG szekvenciakörnyezetben az US+D vs. D összehasonlításban két MF-et (metiltranszferáz aktivitás és ATP-hidrolízis aktivitás) azonosítottunk, az US+D vs. US viszonylatában viszont nem találtunk annotálható funkciót. A CHH szekvenciakörnyezetben az US+D vs. D összehasonlításban egyetlen molekuláris funkció, a metiltranszferáz aktivitás volt kimutatható (11. melléklet; FARKAS et al., 2025.: 7–9. kiegészítő táblázatok).

A teljes genom biszulfid szekvenálással kapott, valamint az RNA-seq adatok között közvetlen korrelációt nem találtunk.

5.3. Célgének kiválasztása a transzkripció memória-vizsgálatokhoz és a DEG-analízis validálása RT-qPCR-rel

A szárazság hatásának tanulmányozására két differenciálisan expresszáldó gént (DEG) választottunk ki: a génexpresszió emelkedést mutató, TIP3-2-szerű aquaporin fehérjét kódoló gént (*TIP*), valamint az expressziócsökkenést mutató, MYB24-szerű transzkripció faktor fehérjét kódoló gént (*MYB*) (2. táblázat). Az ultrahang hatásának értékeléséhez - ugyanezen logika mentén – az expressziónövekedést mutató EXORDIUM-szerű 5 (*EX*, Protein EXORDIUM-like 5) és az expressziócsökkenést mutató ARGOS (Protein auxin-regulated gene involved in organ size) géneket jelöltük ki. A másik ingerre (ultrahang esetén a szárazságra, és fordítva) ezen gének expressziója nem változott. Emellett a klorofilláz-2 (*CHL*, Chlorophyllase-2) gént is kiválasztottuk, mivel minden kezelésben expressziónövekedést tapasztaltunk, bár az expressziós intenzitásban nem mutatkozott

szignifikáns különbség a kezelések között (2. táblázat). A növényi memóriával kapcsolatos további kísérletekben a *TIP*, *MYB*, *EX* és *ARGOS* célgéneket használtuk fel, míg a *CHL* gént kizárólag validálásra alkalmaztuk. A háztartási és célgének listáját, valamint a hozzájuk tartozó primer párokat a 2. táblázat tartalmazza.

A pontos RT-qPCR mérések alapfeltétele a kísérleti körülmények között is stabilan expresszálódó háztartási gének kiválasztása. Mivel a különböző matematikai algoritmusok eltérő módon súlyozzák a génexpressziós varianciákat, a legmegbízhatóbb eredményt több szoftver együttes alkalmazása és az eredmények átfogó (komprehenzív) összegzése adja.

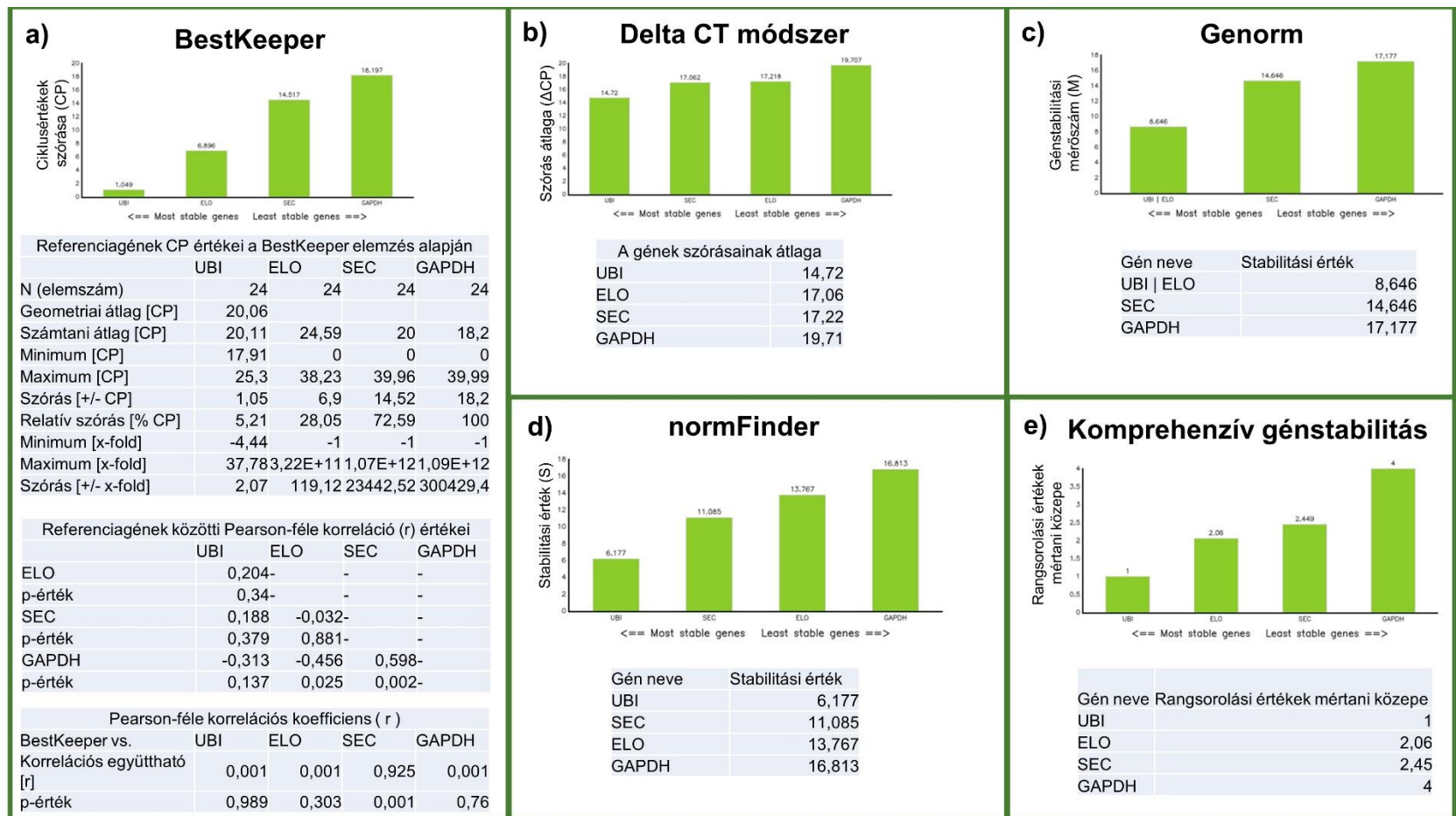
Az elemzés során négy potenciális háztartási gén (*UBI*, *ELO*, *SEC*, *GAPDH*) stabilitását vizsgáltuk meg. A BestKeeper algoritmus alapján az *UBI* bizonyult a legstabilabbnak, mivel ennél volt a legalacsonyabb a standard szórás ($SD = 1,05$) és a variációs koefficiens ($CV = 5,21\%$ CP). Ezzel szemben a *GAPDH* mutatta a legnagyobb ingadozást, ami alkalmatlanná teszi a normalizálásra ebben a kísérleti rendszerben (14. ábra).

A Genorm, NormFinder és a Delta CT módszerek eredményei megerősítették a BestKeeper által felállított rangsort. A Genorm analízis során az *UBI* és az *ELO* páros érte el a legalacsonyabb stabilitási értéket, ami a legmagasabb stabilitást jelzi. A NormFinder – amely a minták közötti varianciát is figyelembe veszi – szintén az *UBI*-t sorolta az első helyre (14. ábra).

A különböző algoritmusok rangsorolási értékeinek mértani közepéből számított komprehenzív génstabilitási mutató (14e ábra) egyértelmű konszenzust mutat: az *UBI* (rangsorolási érték: 1) a legalkalmasabb háztartási gén a ‘Micro-Tom’ paradicsomnövények ultrahang- és szárazságkezeléssel kapcsolatos vizsgálataiban. Ezt követte az *ELO* és a *SEC*, míg a legkevésbé stabilnak a *GAPDH* bizonyult (14. ábra).

Az eredmények tükrében a további mRNS-expressziós vizsgálataink során az *UBI* gént alkalmaztuk belső kontrollként, biztosítva ezzel a célgének (*TIP*, *MYB*, *EX*, *ARGOS*, *CHL*) relatív mennyiségi meghatározásának megbízhatóságát.

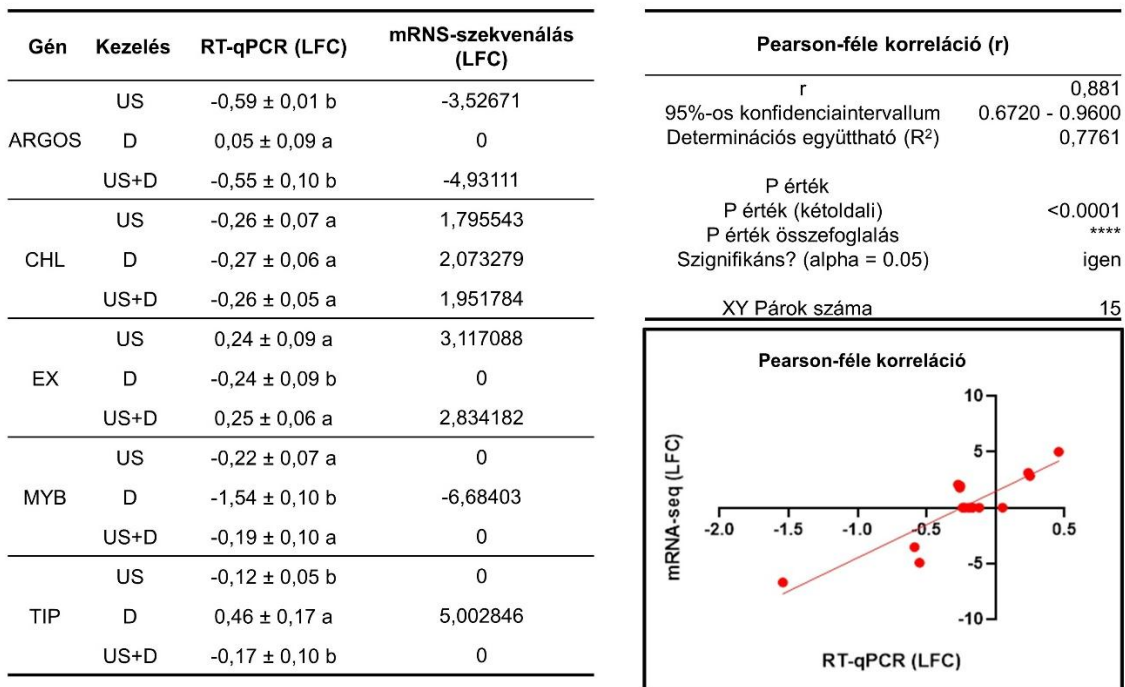
Az eredmények megbízhatóságának ellenőrzése érdekében az mRNS-szekvenálással kapott expressziós adatokat RT-qPCR mérésekkel validáltuk. Az elemzéshez kiválasztott célgének (*ARGOS*, *CHL*, *EX*, *MYB*, *TIP*) expressziós mintázata mindkét módszerrel azonos irányú változást mutatott. A két technológia által meghatározott logaritmikus változási értékek (LFC) összehasonlítása során erős pozitív korrelációt tapasztaltunk ($r = 0,881$).



14. ábra Háztartási gének stabilitásvizsgálata különböző algoritmusok segítségével. A stabilitási rangsor meghatározása a BestKeeper (leíró statisztika és korreláció), a Delta CT (szórásátlag), a GeNorm (M-érték) és a NormFinder algoritmusok alapján történt. A gének végleges sorrendjét a szoftverek eredményeinek mértani közepéből számított komprehenzív stabilitási mutató adja meg. (A nyilak a legstabilabbtól a legkevésbé stabil gén felé mutatnak.) (Forrás: FARKAS et al., 2025, szerkesztett)

A statisztikai elemzés alapján a korreláció erősen szignifikánsnak bizonyult ($P < 0,0001$), a determinációs együttható ($R^2 = 0,7761$) pedig igazolja a mérési pontok szoros illeszkedését a regressziós egyenesre (15. ábra).

A Tukey-féle b-teszt alapján meghatározott homogén csoportok (a táblázatban szereplő a, b betűk) világosan mutatják az egyes kezelések közötti szignifikáns különbségeket. Például az ARGOS gén esetében az ultrahang (US) és a kombinált (US+D) kezelés szignifikánsan eltérő expressziót eredményezett minden vizsgált gén esetében a kontrollhoz vagy a szárazsághoz (D) képest, ami alátámasztja ezen gének stressz-specifikus válaszkészségét (15. ábra).



15. ábra Az mRNS-szekvenálás (RNA-seq) adatainak RT-qPCR validálása. A táblázat a kiválasztott célgének (*ARGOS*, *CHL*, *EX*, *MYB*, *TIP*) differenciális expressziós értékeit (LFC) mutatja be az egyes kezelésekre (US, D, US+D) vonatkozóan. Az RT-qPCR adatok mellett a szórásértékek ($\pm$ SD) láthatók; a különböző betűk (a, b) a Tukey-féle b-teszt alapján meghatározott szignifikáns különbségeket jelölik ($P < 0,05$). A jobb oldali panel az mRNS-szekvenálás és az RT-qPCR módszerekkel kapott LFC értékek közötti Pearson-féle korrelációt ábrázolja. Az $r = 0,881$ korrelációs együttható és az alacsony P-érték ($P < 0,0001$) az adatok közötti erős pozitív összefüggést és a mérések megbízhatóságát igazolja. (Forrás: FARKAS et al., 2025, szerkesztett.)

Az adatok ilyen fokú egyezése és a validálási folyamat sikere lehetővé tette a további növénymintákban, hogy az *UBI* háztartási gén alkalmazásával, nagy biztonsággal végezzük el a célgének (*TIP*, *MYB*, *EX*, *ARGOS*) relatív mennyiségi meghatározását és a transzkripciók memória elemzését (15. ábra).

5.4. A transzkripciók memória kialakulása és fenntartása, valamint az ismételt ingerek hatása a memória megőrzésére

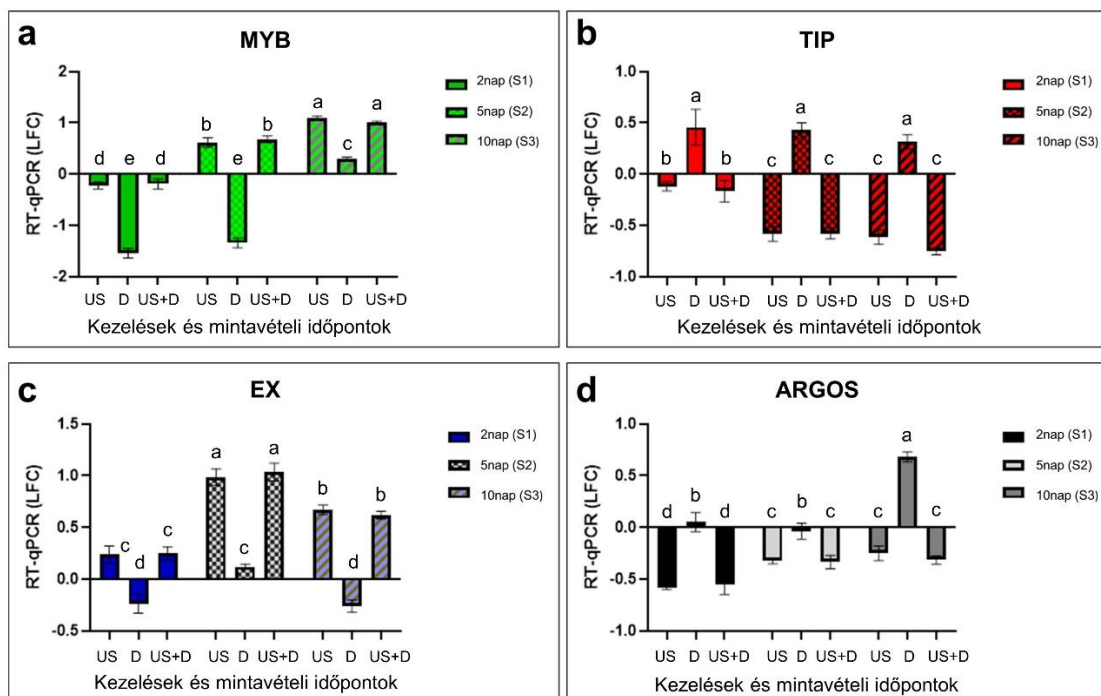
A kiválasztott célgének (*TIP*, *MYB*, *EX* és *ARGOS*) expressziós intenzitásában bekövetkező változások alapján megvizsgáltuk a szomatikus memória megőrzésének időtartamát, valamint a különböző időpontokban alkalmazott jelmegismétlés hatását a memória fenntartására. A szomatikus memória fennmaradásának szemléltetésére a kiválasztott célgének RT-qPCR analíziséből származó LFC értékeit ábrázoltuk a 2. (S1), az 5. (S2) és a 10. (S3) napon (16. ábra; 11. melléklet; FARKAS et al., 2025.: 1. kiegészítő táblázat), az abszolút kontrollcsoporthoz viszonyítva minden mintavételi időpontban (C az S1-nél, illetve „C és C” az S2 és S3 időpontokban).

Szárazságstressz hatására az *MYB* gén azonos mértékben mutatott expressziócsökkenést (szignifikáns különbség nem volt megfigyelhető) a 2 napos (D, S1) és az 5 napos (D, S2) mintavételi időpontokban. Ezzel szemben a 10. napon mért expressziós intenzitás (D, S3) már szignifikáns eltérést mutatott a 2 napos (D, S1) és az 5 napos (D, S2) minták LFC értékeihez képest (16a. ábra; 11. melléklet; FARKAS et al., 2025.: 1. kiegészítő táblázat).

A *TIP* gén esetében mindhárom mintavételi időpontban expressziófokozódást mutatott a kezdeti szárazságstresszt követően, és az értékek nem tértek el szignifikánsan egymástól (az LFC-értékek rendre 0,46, 0,43 és 0,31 voltak az S1, S2 és S3 időpontokban) (16b. ábra; 11. melléklet; FARKAS et al., 2025.: 1. kiegészítő táblázat).

Az *EX* gén tekintetében az ultrahang (US) kezelés alkalmazásakor (akár önmagában, akár a szárazsággal kombinálva) mindhárom mintavételi időpontban expressziónövekedést tapasztaltunk. A legmagasabb pozitív LFC-értéket az S2 időpontban mértük, míg az S3 időpontban az S1-hez képest némileg alacsonyabb, de továbbra is pozitív LFC-értéket kaptunk (16c. ábra; 11. melléklet; FARKAS et al., 2025.: 1. kiegészítő táblázat).

Ezzel szemben az *ARGOS* esetében az ultrahang (US) kezelés alkalmazásakor (akár önmagában, akár D-vel kombinálva) expressziócsökkenést figyeltünk meg, szintén mindhárom mintavételi időpontban, de a legalacsonyabb értéket az S1-nél mértük, majd a mért LFC-értékek fokozatosan növekedtek az S2 és S3 időpontokban (16d ábra; 11. melléklet; FARKAS et al., 2025.: 1. kiegészítő táblázat)



16. ábra Memória-megőrzés a stressz-ingert követő 5. vagy 10. napon. A célgének (*MYB* - a), *TIP* - b), *EX* - c), *ARGOS* - d)) RT-qPCR-rel becsült differenciális expressziós logaritmusos változása (LFC) értékei a 2. (S1), az 5. (S2) és a 10. (S3) napon. Rövidítések: US – ultrahangkezelés; D – szárazságkezelés; US+D – kombinált ultrahang- és szárazságkezelés; LFC – az abszolút kontrollhoz (C) viszonyított logaritmusos változás. Minden értéket a 3 hetes növények egyszeri kezelését követő 2., 5. vagy 10. napon mértünk. A hibaszávok az átlag szórását (SD) jelölik. A hibaszávok feletti eltérő kisbetűk szignifikáns különbséget jeleznek 0,05-ös szinten (kéttényezős ANOVA és post hoc Tukey B-teszt eredményei). (Forrás: FARKAS et al., 2025, szerkesztett).

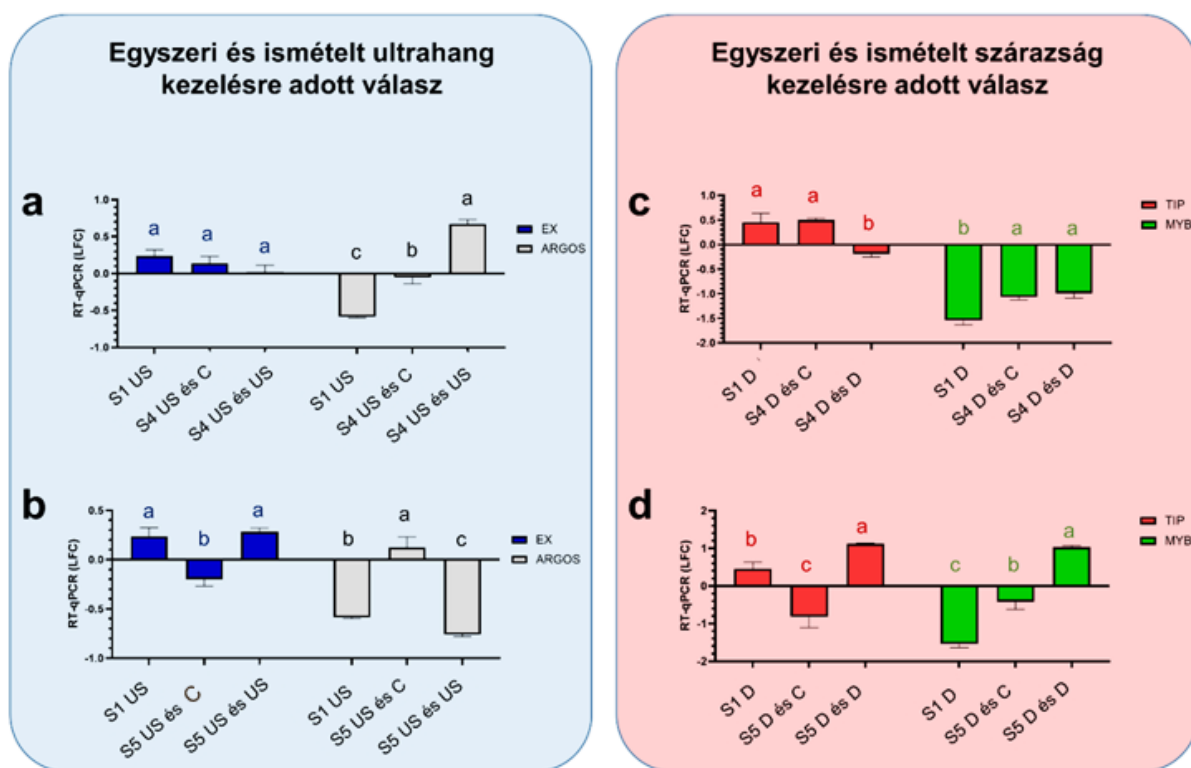
Szignifikáns korrelációt mutattunk ki Pearson-féle korrelációval a 2 napos minták (mind az mRNS-seq adatok, mind az RT-qPCR adatok esetében) és az 5 napos RT-qPCR adatok között (rendre $r = 0,757$, illetve $r = 0,748$). Némileg alacsonyabb ($r = 0,647$), de még mindig szignifikáns korrelációt találtunk az 5 és 10 napos RT-qPCR adatok összehasonlításakor (11. melléklet; FARKAS et al., 2025.: 1. kiegészítő táblázat).

Az *EX* gén expressziója növekedést mutatott az ultrahangkezelést követő 2. napon (S1), amely 7 napon keresztül (S4) fennmaradt, mivel a két minta között nem mutatkozott szignifikáns különbség. Amikor azonban ugyanezt a kezelést (US) az 5. napon (S2) megismételtük, a génexpresszió a 7. napra (S4) csökkent (18a ábra). Tizenkét nap elteltével a génexpresszió intenzitása tovább mérséklődött, sőt, csökkent, de amikor ugyanezt a kezelést a 10. napon (S3) ismételten alkalmaztuk, újra génexpressziós növekedést tapasztaltunk (S5), amely megegyezett a 2. napon (S1) mért szinttel (17b ábra; 11. melléklet; FARKAS et al., 2025.: 1. kiegészítő táblázat).

Az *ARGOS* gén expressziója szignifikánsan növekedett az ultrahangkezelést követő 7. napon (S4) az S1 időpontban mért US-csoport LFC-értékéhez viszonyítva, jóllehet az LFC-érték továbbra is negatív maradt. Ezzel szemben az 5. napon megismételt US-kezelés hatására (17a. ábra) a gén expressziója a 12. napra tovább növekedett (S4), és pozitív LFC-értéket ért el. Ekkor, a 10. napon alkalmazott ismételt inger hatására (S4) a gén expressziója újra csökkent (S5). Az expressziós szint ekkor szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a 2 napos US-csoportban (S1) mért LFC-érték (17b ábra; 11. melléklet; FARKAS et al., 2025.: 1. kiegészítő táblázat).

A szárazságstresszre adott válasz a *TIP* célgén expressziófokozódása 7 napon keresztül (S4) fennmaradt. Az 5. napon megismételt szárazságkezelést követően azonban a 7. napra (S4) az expressziós intenzitás szignifikáns csökkenését figyeltük meg (17c. ábra). Ismételt kezelés hiányában a 12. napra (S5) a *TIP* transzkriptumszintje szignifikánsan csökkent. Ezzel szemben, amikor a növényeket a 10. napon ismételt szárazság-ingernek tettük ki, a 12. napon (S5) mért génexpressziós intenzitás szignifikánsan meghaladta a 2. napon (S1) vizsgált szárazságkezelt növényekét (17d ábra).

A szárazságstressz alkalmazásakor a *MYB* kifejeződése kezdetben csökkent (S1; D), azonban a szabályozás mértéke a 7. napra szignifikánsan mérséklődött (S4; D és C) (17c ábra). Az ismételt szárazság-hatás (D és D, S4) nem váltott ki további változást az *MYB* expressziós szintjében, mivel nem mutatkozott szignifikáns különbség e két kezelési csoport között az S4 időpontban. A 7. napon tapasztaltakhoz hasonlóan, 12 nap elteltével (S5; D és C) is a expressziócsökkenés mértékének további csökkenését figyeltük meg. Ugyanakkor az ismételt szárazság-expozíciót követően a célgén expressziófokozódását detektáltuk, pozitív LFC-érték kíséretében (S5; D és D) (17d ábra).



17. ábra Az egyszeri és az ismételt stressz-expozíció hatása a célgének expressziós intenzitására két időpontban. A célgének RT-qPCR-rel meghatározott differenciális expressziója (LFC-értékek) a 2. (S1), a 7. (S4) és a 12. (S5) napon. a) Az *EX* és *ARGOS* gének expressziója az S1 egyszeri ultrahangos kezelés, valamint az S4 időpontban vizsgált egyszeri és ismételt ultrahangkezelések hatására. b) Az *EX* és *ARGOS* gének expressziója az S1 egyszeri ultrahangos kezelés, valamint az S5 időpontban vizsgált egyszeri és ismételt ultrahangkezelések hatására. c) A *TIP* és *MYB* gének expressziója az S1 egyszeri szárazságstressz, valamint az S4 időpontban vizsgált egyszeri és ismételt szárazságkezelések hatására. d) A *TIP* és *MYB* gének expressziója az S1 egyszeri szárazságstressz, valamint az S5 időpontban vizsgált egyszeri és ismételt szárazságkezelések hatására. Minden LFC-érték az abszolút kontrollcsoport (C az S1-nél; C és C az S4 és S5 időpontokban) viszonyítva értendő. Az X tengely feliratai a mintavételi időpontokat és a különböző kezelési kombinációkat jelölik. Rövidítések: S1 US - az ultrahangkezelés után 2 nappal (S1); S4 US és C - az egyszeri ultrahangkezelés után 7 nappal (S4); S5 US és C - az egyszeri ultrahangkezelés után 12 nappal (S5); S4 US és US - az első ultrahangos stressz után 7 nappal (S4), az ismételt ultrahangos stressz után 2 nappal; S5 US és US - az első ultrahangos stressz után 12 nappal (S5), az ismételt ultrahangos stressz után 2 nappal; S1 D - az egyszeri szárazságstressz alkalmazása után 2 nappal (S1); S4 D és C - az egyszeri szárazságstressz után 7 nappal (S4); S5 D és C - az egyszeri szárazságstressz után 12 nappal (S5); S4 D és D - az első szárazságstressz után 7 nappal (S4), az ismételt szárazságstressz után 2 nappal; S5 D és D - az első szárazságstressz után 12 nappal (S5), az ismételt szárazságstressz után 2 nappal mért érték. A hibásávok az átlag szórását (SD) jelölik. A hibásávok feletti eltérő kisbetűk szignifikáns különbséget jeleznek 0,05-ös szinten (kéttényezős ANOVA és post hoc Tukey B-teszt eredményei). (Forrás: FARKAS et al., 2025, szerkesztett)

A Pearson-féle korreláció alapján szignifikáns összefüggést mutattunk ki a 2 napos (mRNS-seq és RT-qPCR adatok) és az 5 napos RT-qPCR adatok között (rendre $r = 0,757$ és $r = 0,748$). A korreláció némileg alacsonyabb ($r = 0,647$), de továbbra is szignifikáns volt az 5 és 10 napos RT-qPCR adatok összehasonlításakor (11. melléklet; FARKAS et al., 2025.: 1. kiegészítő táblázat).

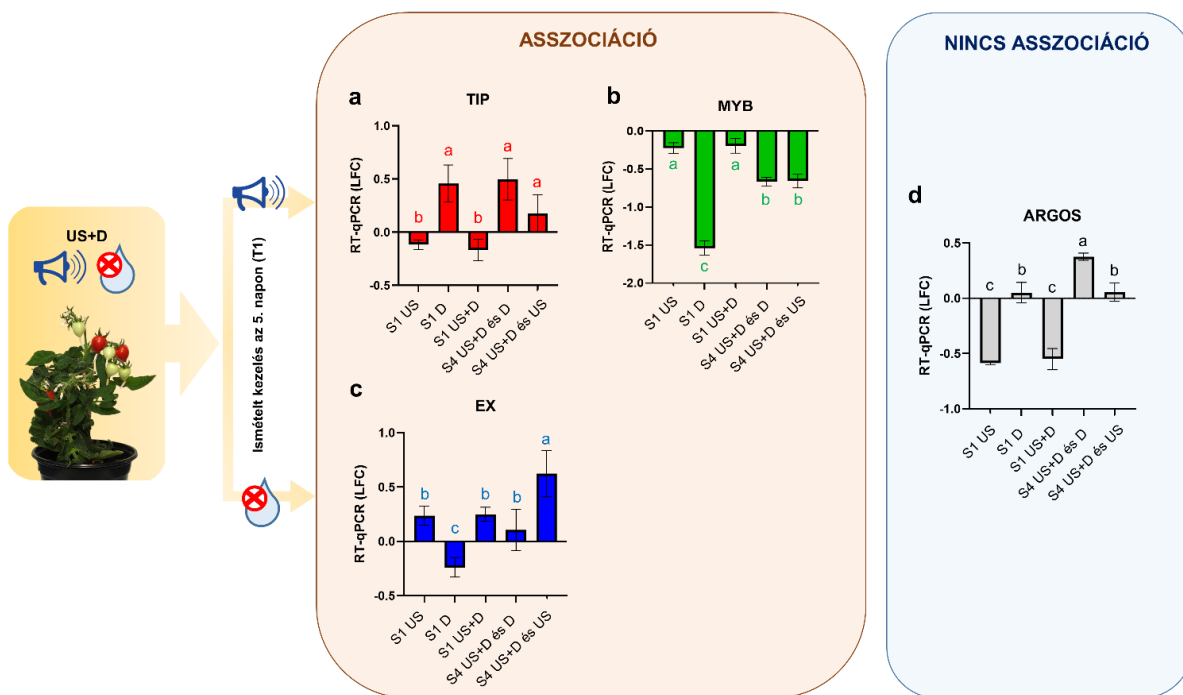
5.5. Asszociatív memória vizsgálata paradicsomban

A kísérlet során az asszociatív választ a 7. napon (S4) vizsgáltuk, mivel az előzetes vizsgálatok és a transzkriptomi adatok alapján a célgének többségére a 10. és 12. napra már nem volt szignifikánsan kimutatható a memóriafenntartás.

Amennyiben a feltételes inger (CS) ugyanolyan génexpressziós választ váltott ki, mint amelyet a kombinált kondicionálást (US+D kezelés) követően a feltétlen ingernél (USC) tapasztaltunk, azt asszociációképzésnek tekintettük. A *TIP* és az *MYB* gének esetében az ultrahangot (US), míg az *EX* és az *ARGOS* géneknél a szárazságot (D) tekintettük feltételes ingernek. Az eredmények pontosabb és átfogóbb szemléltetése érdekében a relatív génexpressziós intenzitásokat (LFC-értékeket) az S1 mintáknál az abszolút kontrollcsoporthoz, az S4 mintáknál pedig az „US+D és C” csoporthoz viszonyítva számítottuk ki.

A kísérletek kezdetén alkalmazott kombinált tréninget (US+D) követően, a 7. napon (S4) RT-qPCR-rel vizsgáltuk a célgének expressziós szintjét a levél-mintákban, az ismételt ultrahang- vagy szárazság-expozícióra adott válaszként.

Az eredmények azt mutatták, hogy az 5. napon megismételt ultrahangkezelés a kombinált kondicionálás után a *TIP* gén szignifikáns expressziófokozódását (18a. ábra), valamint az *MYB* jelentős mértékű expressziócsökkenését (18b. ábra) váltotta ki a nem kezelt mintákhoz (US+D és C) képest. Az expressziós intenzitások nem tértek el szignifikánsan egymástól abban az esetben, ha az ismételt kezelést akár szárazsággal, akár ultrahanggal végeztük (US+D és D, illetve US+D és US); ez a tendencia mind a *TIP*, mind az *MYB* génnél azonos volt.



18. ábra A célgének expressziós intenzitásának változásai az ismételt ingerlés hatására, kombinált tréninget (kondicionálást) követően. A célgének (a) *TIP*; b) *MYB*; c) *EX*; d) *ARGOS*) RT-qPCR-rel becsült differenciális expressziós logaritmikus változási (LFC) értékei a 2. (S1, az abszolút kontrollhoz - C viszonyítva), az 5. (S2) és a 7. (S4) napon. Az S2 és S4 értékek a saját kontrollcsoportjukhoz (US+D és C - a kombinált ultrahang- és szárazságstressz első alkalmazása után 7 nappal mért érték) viszonyítva értendők. Az X tengely feliratai a mintavételi időpontokat és a különböző kezelési kombinációkat jelölik.

Rövidítések: S1 US - az ultrahangkezelés után 2 nappal (S1) mért érték; S1 D - a szárazságkezelés után 2 nappal (S1) mért érték; S1 US+D - az egyszeri kombinált ultrahang- és szárazságkezelés után 2 nappal (S1) mért érték; S4 US+D és D - a kombinált stressz első alkalmazása után 7 nappal (S4), az ismételt szárazságstressz után 2 nappal mért érték; S4 US+D és US - a kombinált stressz első alkalmazása után 7 nappal (S4), az ismételt ultrahangstressz után 2 nappal mért érték; LFC - logaritmikus változás. A hibasávok az átlag szórását (SD) jelölik. A hibasávok feletti eltérő kisbetűk szignifikáns különbséget jeleznek 0,05-ös szinten (kéttényezős ANOVA és post hoc Tukey B-teszt eredményei). (Forrás: FARKAS et al., 2025, szerkesztett)

Az *EX* expressziós szintjeit szintén megvizsgáltuk (18c. ábra). Az US+D tréningben részesült, majd ultrahanggal újra kezelt növényeknél (US+D és US) az LFC-érték szignifikáns növekedését tapasztaltuk. Ugyanakkor a szárazsággal történő ismételt ingerlés (US+D és D) is az *EX* fokozott expresszióját okozta a nem kezelt növények LFC-értékéhez viszonyítva. Az „US+D és D” kezelés utáni expressziós szintek (S4) szignifikánsan eltértek

az egyszeri szárazságkezelés után 2 nappal (S1) mért LFC-értéktől, azonban nem mutatkozott szignifikáns különbség az egyszeri ultrahang (S1) és az „US+D és D” (S4) csoportok között.

Az *ARGOS* gén esetében (19d. ábra) az „US+D és D” kezelés - amikor a kombinált tréninget kapott növényeket az 5. napon szárazság-ingernek tettük ki - az expressziós intenzitás szignifikáns növekedését mutatta. Ez az érték jóval magasabb volt, mint a nem kezelt (US+D és C), illetve az ultrahanggal újra ingerelt növényeknél (US+D és US) mért adatok (18. ábra; 11. melléklet; FARKAS et al., 2025.: 1. kiegészítő táblázat).

6. KÖVETKEZTETÉSEK, JAVASLATOK

Egyfajta módszertani paradigmaváltás tette lehetővé, hogy az elméleti kérdéseket - mint a növényi memória és az asszociatív tanulás - számszerűsíthető adatokkal támasszuk alá. A korábbi, izolált élettani paraméterek mérésére szorító vizsgálatokkal szemben a mai kutatások már a rendszerszemléletű biológia eszköztárát alkalmazzák. A nagy áteresztőképességű transzkriptomikai eljárások, különösen az RNA-seq technológia, páratlan felbontást biztosítanak a génexpressziós mintázatok feltárásában. Ez a módszer nem csupán a differenciálisan kifejeződő gének azonosítását teszi lehetővé, hanem a gének közötti komplex hálózatok és szabályozási csomópontok feltérképezését is. A nagy áteresztőképességű transzkriptomikai eljárások által szolgáltatott komplex válaszreakciók értelmezéséhez elengedhetetlen a többváltozós statisztikai módszerek alkalmazása (WANG et al., 2009). A főkomponens-analízis lehetővé teszi a globális génexpressziós mintázatok vizualizálását, matematikai alapot nyújtva annak igazolására, hogy az ultrahangos kondicionálás és a szárazság hatására bekövetkező élettani változások specifikus és reprodukálható biológiai választ tükröznek (JOLLIFFE és CADIMA, 2016; LEVER et al., 2017).

Ez a módszertani háttér teszi lehetővé, hogy precízen nyomon követhessük azt a molekuláris folyamatot, amely az inger érzékelésétől a tartós emlékezet kialakulásáig vezet. Amikor ugyanis egy növényt környezeti inger ér, annak felismerése és érzékelése után válaszreakciót ad. Ezzel egyidejűleg azonban emlékeket is kezd építeni az ingerről, amelyek később rövid távú szomatikus memóriává, vagy hosszú távú, akár örökölhető memóriává fejlődhetnek. Ennek eredményeként a „felkészített” (primed) növény képessé válik a visszatérő stresszhatások kezelésére. A növények környezeti abiotikus és biotikus stresszre adott válaszait, alkalmazkodását és memóriáját transzkriptomi és epigenetikai mechanizmusok változásai kísérik (ASWATHI et al., 2025; ZHANG et al., 2023; KOVLCHUK, 2023; GALLUSCI et al., 2022, HARRIS et al., 2023).

Két abiotikus stresszor, az ultrahang és a szárazság hatását vizsgáltuk a génátírásra és a DNS-metilációra paradicsomnövényeken, 2 nappal az önálló vagy kombinált alkalmazásuk után. Hipotéziseink közé tartozott, hogy az önállóan vagy kombináltan alkalmazott ultrahang (US) és szárazság (D) hatása megváltoztatja a globális génátírást és DNS-metilációt, és

köztük korreláció mutatható ki, transzkripciós memória alakul ki, valamint a növények asszociáció képzésére képesek a két inger közt, tréning után.

A hőtérkép (10. ábra) eredményei alapján két domináns géncsoport különíthető el, amelyek válaszreakciója reciprok jellegű a két inger hatására. Az egyik géncsoport kifejezett expressziófokozódást mutatott szárazságstressz hatására, míg ugyanezen gének az ultrahangos kezelés során szignifikáns gátlás alá kerültek. Ezzel párhuzamosan a gének egy nagyobb csoportja specifikusan az ultrahangos ingerlésre válaszolt intenzív expresszió-növekedéssel, miközben a szárazsági kezelés során változatlan maradt vagy enyhén mérséklődött.

Ez a transzkripciós viselkedés közvetlen bizonyítéka annak, hogy a növények képesek kvalitatív különbséget tenni a mechanikai vibráció (US) és az ozmotikus stressz (D) között. Az expressziós mintázatok ilyen mértékű szétválása arra utal, hogy a két inger nem csupán intenzitásában tér el, hanem alapvetően különböző jelátviteli útvonalakat aktivál. Az eredmények alátámasztják, hogy az ultrahang nem egy általános, aspecifikus stresszválaszt vált ki, hanem egy jól definiálható, a szárazságtól jól elkülöníthető folyamatokat indít el a növényi sejtekben.

A kombinált kezelésben (US+D) részesült növények expressziós mintázata különösen figyelemre méltó, mivel alátámasztja a PCA-ban azonosított „molekuláris pufferhatást”. Megfigyelhető, hogy az US+D csoportban a szárazságra (D) jellemző génexpressziós válaszok jelentős része tompult vagy érdemben módosult. Az ultrahangos előkezelés hatására a növény nem a tipikus, „pánikszerű” szárazságstresszre jellemző választ adta, hanem egy olyan módosult állapotot vett fel, amely az US-specifikus profilhoz mutat nagyobb hasonlóságot. A vulkánplotok extrém magas Fold Change értékei (11. ábra) és a PCA-n (9. ábra) látható éles PC2 menti eltolódás arra utalnak, hogy az ultrahang (US) egy önálló, specifikus transzkriptom-remodelling folyamatot indít el. Ez összhangban van azon megfigyelésekkel, miszerint a mechanikai ingerek (mint az ultrahang) és az abiotikus stresszorok (mint a szárazság) gyakran eltérő jelátviteli utakat, például különböző kalcium-szignálokat vagy fitohormon-válaszokat aktiválnak (TELEWSKI, 2006; LÓPEZ-RIBERA és VICIENT, 2017). A hőtérképeken látható, a szárazsággal (D) ellentétes irányú génexpressziós válasz igazolja, hogy a növény molekuláris útvonalai képesek az ingerek

minőségi kódolására, ami a tanulás funkcionális definíciójának (interakció eredményeként létrejövő változás) első alapfeltétele (TREWAVAS, 2014, CALVO et al., 2020).

Továbbá, ez a jelenség a priming-folyamat transzkriptom-szintű bizonyítékeként értelmezhető: az elsőként érkező inger (US) olyan epigenetikai vagy molekuláris lenyomatot hagyott, amely megváltoztatta a növény válaszképességét a későbbi, súlyosabb stresszorra (D) (MAUCH-MANI et al., 2017). Az ultrahang tehát egyfajta felkészítő ágensként működve mérsékelte a stressz-specifikus transzkriptom-eltolódást. Az eredmények igazolják, hogy az ultrahang kezelés nem csupán egy izolált inger, hanem a későbbi stresszválaszokat alapjaiban felülírni képes stresszor (LÄMKE és BÄURLE, 2017; SCHMÜLLING, 2019).

Az eddig felsorolt eredmények összességében megerősítik, hogy a 'Micro-Tom' paradicsom egyedek nem csupán passzív elszenvedői a környezeti ingereknek, hanem képesek azokat molekuláris szinten megkülönböztetni és integrálni. A PCA analízis (9. ábra) által kirajzolt térbeli elrendeződés és a transzkriptom-profilok antagonisztikus mintázata (hőtérkép, 10. ábra) olyan molekuláris válaszméchanizmusokat vetítenek előre, amelyek összhangban állhatnak a BOSE (1906) és GAGLIANO (2014) által leírt szenzoros diszkrimináció jelenségével.

A feltárt transzkriptomi változások különböző biológiai folyamatokhoz, sejtalkotókhoz és molekuláris funkciókhoz kapcsolódtak, és főként a növekedési, valamint a stresszfolyamatokat érintették, azonban a kiváltott transzkriptomi válaszok a stresszor típusától függtek (12. ábra, 11. melléklet; FARKAS et al., 2025.: 2-3. kiegészítő táblázat). Ezek az eredmények összhangban voltak a különböző, ultrahangnak (DOBRÁNSZKI et al., 2019 – *Solanum tuberosum* L.; TEIXEIRA DA SILVA et al., 2020 – *Solanum tuberosum* L.) és szárazságnak kitett növényfajokon végzett korábbi transzkriptomi vizsgálatokkal (MUTHUSAMY et al., 2016 – *Musa* spp.; ZHOU et al., 2021 – *Cenchrus ciliaris*).

Mindkét inger megváltoztatta a paradicsomnövények globális DNS-metilációját (13. ábra). A DNS-metilációs változások többsége CpG szekvenciakörnyezetben történt, míg a legkevesebb változást CHH szekvenciakörnyezetben észleltük (11. melléklet; FARKAS et al., 2025.: 4–6. kiegészítő táblázat). Mindkét inger hatására számos növekedéssel és stresszel kapcsolatos folyamat, alkotóelem és funkció érintett volt, különösen a különböző membránfunkciókhoz, a fotoszintézishez és a transzlációhoz (fehérjesszintézishez)

kapcsolódóak. Bár a változások hasonló folyamatokban jelentkeztek, maguk a módosulások stresszor-függők voltak (11. melléklet; FARKAS et al., 2025.: 7–9. kiegészítő táblázat).

Ahogy azt GUARINO és munkatársai összefoglaló tanulmánya (2022) bemutatja, a szárazság-stressz különböző kultúrnövényekben, például a *Medicago truncatula* Gaertn. (mediterrán lucerna), az *Oryza sativa* L. (rizs) és a *Triticum aestivum* L. (közönséges búza) esetében is okozhat DNS-metilációs változásokat CXG és CHH szekvenciakörnyezetben egyaránt. Az ultrahangos magkezelést követően HIDVÉGI és munkatársai (2022) írtak le DNS-metilációs változásokat *T. aestivum* L. csíranövényekben, ahol a metilációs változások korreláltak a génátírással (transzkripcióban) észlelt változásokkal.

Az RNA-seq és a WGBS adatok, azaz a génszintű transzkripció és a DNS-metilációs változások között mi azonban nem találtunk közvetlen korrelációt sem a szárazságra, sem az ultrahangra adott válaszreakciók során. Ez nem meglepő eredmény, figyelembe véve, hogy a növényi memória kialakulásában más molekuláris mechanizmusok is szerepet játszanak, melyek együttműködnek egymással, és ezáltal befolyásolják a transzkriptomi választ (DOBRÁNSZKI et al., 2025; GALLUSCI et al., 2023; FARKAS és DOBRÁNSZKI, 2024). A szárazságra adott válaszként egyéb epigenetikai mechanizmusokat, például a hiszton-metilációt (H3K4me2, H3K4me3, H3K27me2; H4R3me2), acetilációt (H3K9ac; H4ac; H4K5/8/12/16ac) és foszforilációt (H3T3ph) (GUARINO et al., 2022 összefoglalója alapján), valamint a nem-kódoló RNS-eket, köztük a mikroRNS-eket (GELAW et al., 2021; FERDOUS et al., 2015) is összefüggésbe hozták már a stressz-memóriával. Emiatt a további elemzéseink során az RNS-szekvenálásból (RNA-seq) nyert eredményekre támaszkodtunk.

A növényi transzkriptációs memória a módosult transzkriptom-szintű válaszreakciókon alapul. Bizonyos reagáló gének egy kezdeti inger hatására adott szinten kifejeződnek, amit egy regenerációs szakasz követ, ahol a transzkriptumszintek – a transzkriptációs memória típusától függően – vagy visszatérnek az alapvonalhoz (stressz előtti állapot), vagy nem. Ha a növény ugyanazt az ingert kapja (erősségben és időtartamban is), és ugyanazon válaszadó gének esetében szignifikánsan eltérő transzkriptációs szinteket mutat, a transzkriptációs memória kritériumai teljesülnek (OBERKOFER et al. 2021; FARKAS et al., 2024).

A kiválasztott gének transzkripció-alapú szomatikus memóriáját akkor feltételeztük, ha az expresszió iránya – azaz az expressziófokozódás illetve csökkenés (LFC alapján) – megegyezett az S1 (2. nap) időpontban tapasztaltakkal, és az LFC szignifikánsan eltért a

többi kezeléstől. Mivel a célgének mért LFC értékei között a vizsgált időpontokban külön-külön nem volt szignifikáns különbség az US vagy D és az US+D kezelések között, megállapítottuk, hogy a két inger (US és D) valóban független egymástól (18. ábra). Ezért elegendő csak azokra az egyszeri és ismételt ingerekre adott válaszokat vizsgálni, amelyekre a célgéneket eredetileg kiválasztottuk (szárazságra a *TIP* és *MYB*, illetve ultrahangra az *EX* és *ARGOS* gének esetében).

A *MYB* esetében nem volt jelentős különbség a kezdeti ingerre (D, S1) adott transzkripciós válasz és az 5. napon mért génkifejeződési intenzitás (D, S2) között, ami arra utal, hogy a növények 5 napig megőrizték az emlékezetet. A transzkripciós memória típusa attól függ, hogy a transzkriptumszintek visszatérnek-e az alapszintre. Ebben az esetben a génexpresszió időtartama még meghaladta a kezdeti ingert, és az LFC-értékek eltértek az alapvonalától, ami hiszterézist eredményezett; ezért 1. típusú (vagy fenntartott indukciós) memóriát figyeltünk meg. Ezzel szemben 10 nap elteltével a mért génexpressziós intenzitásértékek (D, S3) jelentősen eltértek a korábbi mérésektől (D, S1 és S2); így úgy tűnt, hogy a transzkripciós memória az 5. és a 10. nap között elhalványult (17a ábra). Pontosabban, a 7. napon az *MYB* expressziós intenzitása még mindig eltérően fejeződött ki az abszolút kontrollcsoporthoz képest (C és C, S4), de kisebb mértékben; ezért az emlékezet még fennmaradt (18c ábra). Ezt támogatja az a megfigyelés is, hogy amikor a növényeket az 5. napon újra kezeltük (S2), nem volt szignifikáns különbség a „D és D”, valamint a „D és C” kezelési csoportoknál S4-nél mért LFC-értékek között. Ez arra utal, hogy mivel az emlékezet fennmaradt, a szárazságstressznek való ismételt kitettség nem váltott ki semmilyen további különösebb reakciót. Amikor azonban a kezdeti ingernek való ismételt kitettség a 10. napon történt (S3) – szemben az *MYB* expressziós intenzitásának összes korábbi mérésével –, pozitív LFC-értéket figyeltünk meg a „D és D” kezelési csoportoknál. Korábbi feltételezésünket, miszerint az emlékezet fenntartása csak 7 napig tartott, mivel a 12. napon az ismételt ingerre jelentősen eltérő válaszokat kaptunk (D és D, S5; 18d ábra) mindez alátámasztja. A *MYB* gén 12. napon tapasztalt expressziófokozódása mögött valószínűsíthetően a növények eltérő fiziológiai kora és az ezzel járó fejlődési sajátosságok állnak.

A *MYB*-hez hasonlóan a *TIP* is a 1. típusú transzkripciós memória lehetőségét mutatta, de az *MYB* fenntarthatóságával ellentétben a *TIP* indukciója nemcsak 5, hanem 10 napig is változatlan maradt (nem volt szignifikáns különbség a D kezelési csoport S1, S2 vagy S3

időpontban mért LFC-értékei között) (17b ábra). A 12. napon azonban a *TIP* jelentős expressziócsökkenést mutatott a korábban említett LFC-értékekhez képest, ami azt jelzi, hogy a szárazság emlékezete nem maradt fenn 12 napig (D és C, S5) (17d. ábra). Ez valószínűleg magyarázatot ad arra a jelenségre, hogy amikor a D kezelést az 5. napon megismételtük, a *TIP* a 7. napon expresszió csökkenést mutatott (összehasonlítva a „D és D” csoportot a „D és C” csoporttal az S4-nél; 11. melléklet; FARKAS et al., 2025.: 1. kiegészítő táblázat). Ez a habituáció (hozzászokás) vagy familiarizáció lehetséges jeleit mutatta. Mivel azonban az emlékezet csak 10 napig maradt fenn (17b ábra), a 12. napon (D és D, S5) a *TIP* jelentős expressziós intenzitásának növekedését figyeltük meg a 2. napon (D, S1) mért értékhez képest. A „D és D” (S5) esetében a 2. naphoz (S1) hasonló expressziófokozódási tendencia volt észlelhető, de az LFC-értékek jelentősen eltértek (18c ábra). Ez azt jelzi, hogy a 12. napon a növények érzékenyebben reagáltak a szárazságra, mint korábban (D, S1). Összefoglalva: úgy tűnik, a növények a *TIP* indukcióját a transzkripció memória egy formájaként 10 napon keresztül fenntartották; ez idő alatt a kellemetlen inger megismétlésekor a habituáció jelei mutatkoztak, de ha ugyanez az inger az emlékezet törlődése után ismétlődött meg, az expressziós válasz újra megjelent. Ugyanakkor az expresszió intenzitása jelentősen nagyobb volt a 12. napon (S5), mint amikor azt 3 hetes növényeknél alkalmaztuk.

Az *EX* expressziós intenzitásának eredményei az US kezelési csoportban az S1 és S2 időpontokban azt mutatják, hogy a transzkriptumszint emelkedésének mértéke növekedett a 2. naptól (S1) az 5. napig (S2). Ugyanakkor a 10. napon (US, S3) az *EX* célgén még mindig expressziófokozódást mutatott, de kisebb mértékben az S1 és S2 időpontokban mért értékekhez képest. Ez azt mutatja, hogy az US-re adott génexpressziós válasz időbeli késéssel következett be, de a tartós hatás 10 nap után is megfigyelhető volt, ami e célgén tartós indukciójára (1. típusú transzkripció memória) utal (17c ábra). A 7. napon (S4) nem volt túlzott reakció az ismételt ingerre (US és US), mivel nem történt jelentős transzkriptumszint növekedés az *EX* célgénre nézve; ezért a növények megtanulhatták és megjegyezhették, hogy figyelmen kívül hagyják a két ingert, és lecsendesítették válaszuk intenzitását (familiarizáció) (18a ábra). A 12. napon azonban változás állt be az US-re adott reakció irányában, mivel az *EX* expressziós intenzitása csökkent, ami arra utal, hogy az inger emlékezete a 12. nap után törlődött (18b ábra). Ezt a feltételezést alátámasztja az a tény, hogy

a 10. napon megismételt US-kezelés a 12. napon (US és US, S5) az EX gén olyan expressziófokozódását okozta, amely nem tért el szignifikánsan a 2. napon (US, S1) mért LFC-értékektől. Ebben az esetben – a *TIP*-pel ellentétben – a növény kora nem befolyásolta a válasz intenzitását

Az *ARGOS* tekintetében az US kezelésnél S2 és S3 időpontban mért LFC-értékek nem tértek el szignifikánsan egymástól, azonban jelentősen különböztek az US kezelési csoport S1-nél mért értékétől (17d ábra). Ez az eredmény arra utal, hogy az *ARGOS* esetében az US kezelésre adott válaszként 10 napon keresztül tartós indukció (sustained induction) esete állhat fenn. Ha az ismételt US inger ezen az időintervallumon belülre esett, akkor a válasz intenzitása mind irányában, mind erősségében megváltozott (US és US, S4; 18a ábra). Ugyanakkor a 12. napon az US kezelésre adott válaszként mért LFC-érték (US és C, S5) szignifikánsan eltért a korábbi mérésektől (US az S1, S2 és S3 időpontokban). Ez a megfigyelés azt sugallja, hogy az emlékezet a 10. nap után törlődött (18b ábra). Az ismételt US inger az S1-nél tapasztalthoz hasonló választ váltott ki, vagyis az *ARGOS* gén transzkriptumszintjének csökkenését. Az *ARGOS* expressziós viselkedése az ismételt US-hatásra válaszul 2. típusú transzkripció memóriára utalhat (módosult re-indukció; -/+) (BALAZADEH, 2022; MARIC, 2025; OBERKOFER et al., 2021).

Esetenként az emlékezet fenntartása gátolhatja a regenerációs folyamatot vagy lelassíthatja a növény fejlődését; máskor viszont (a kellemetlen ingerek megismétlődése esetén) előnyös a már egyszer megszerzett információ tárolása, hogy szükség idején maximalizálható legyen az egyed rátermettsége. Az emlékezet időbeli aspektusait tanulmányozva DING és munkatársai (2012) arról számoltak be, hogy a kedvezőtlen ingereknek (szárazság) való korábbi kitettség lehetőséget adott a növényeknek a tapasztalat megjegyzésére két „tanítható” gén megnövekedett transzkriptumszintje révén rövid ideig (5 napig), majd 7 nap után ez az emlék törlődött. Ez a megfigyelés alátámasztja eredményeinket, miszerint a növények transzkriptomi szinten képesek rövid ideig (7–10 napig) emlékezni a múltbeli eseményekre. Természetesen az a fiziológiai kor, amelyben a növények az ingernek ki vannak téve, meghatározhatja az emlékezet fenntartásának időtartamát. A védekezésre és növekedésre fordított erőforrások átcsoportosítása révén a jövőbeli kedvezőtlen stresszválaszok költségeinek minimalizálása érdekében a fiatal növények számára előnyös lehet a hosszú távú memóiafenntartásba való befektetés (HOUT et al., 2014; SANI et al.,

2013). Emellett a fáknál (nyírfák, fenyőfélék, tölgyfák, nyárfák, éger stb.) ismert a több hónapig tartó, hosszú távú memória, mivel számukra előnyös emlékezni az előző évi rágási károkra, hogy javítsák a növényevők elleni védekezésüket (HAUKIOJA, 1990; NYKÄNEN és KORICHEVA, 2004). Ezzel szemben az egynyári növények főként a rövid távú memória kialakításába fektetnek a virágzás előtt, minimalizálva ezzel „költségeiket” a sikeres szaporodás érdekében (HILKER et al., 2016).

A mi esetünkben növények megjegyezték az ingerek hatásait, és fenntartották négy célgén megváltozott génexpresszióját. Az ultrahang (US) ingerre az *ARGOS* és *EX* gének 10 napig emlékeztek; az expressziós intenzitás mértéke azonban függött a génektől és a mintavétel időpontjától (5. vagy 10. nap). A szárazság (D) inger esetében az *MYB* csökkent expressziós intenzitása csak 7 napig maradt fenn, míg a *TIP* fokozott expressziós intenzitása 10 napig tartott. A célgének expressziós intenzitásának vizsgálata rávilágított arra, hogy a két inger – vagyis a szárazságra vagy ultrahangra való „tanítás” – ismételt alkalmazása megváltozott viselkedést idézhet elő, például habituációt, 1. típusú (fenntartott indukciós) vagy 2. típusú (módosult re-indukciós) transzkripciós memóriát, a génektől és a növények fiziológiai korától függően.

A kereszt-akklimatizáció (cross-acclimation) egy olyan jelenség, amely során egy nem halálos stressznek való kitettség ellenállóképességet eredményez egy másik stresszel szemben, ami javítja az egyed rátermettségét (fitnessét). A kereszt-akklimatizáció olyan közös jelzőútvonalakon alapul, amelyeket különböző típusú stresszhatások is aktiválhatnak; emellett a stresszhatások közötti kölcsönhatások szinergikusak. Azonban a kereszt-priming (cross-priming) lehetőségének kizárása érdekében a célgének úgy lett kiválasztva, hogy eltérő expressziós mintázatot mutassanak a két jelre (US és D): lehetőleg az egyik stimulusra fokozott- vagy csökkent transzkriptumszinttel reagáljanak, a másakra pedig egyáltalán ne mutassanak választ az mRNS-szekvenálás után 2 nappal (S1) mért LFC-értékek alapján. Asszociációt akkor feltételeztünk, ha a kombinált tréning (US+D kezelés) után a kondicionált inger (CS) ugyanolyan génexpressziós választ váltott ki, mint amelyet a másik, feltétlen inger (UCS) hatására észleltek. A jelen tanulmány ezen részében vizsgált négy célgén közül három – név szerint a *TIP*, az *MYB* és az *EX* – mutatta a növények asszociatív memóriaképzési képességének lehetőségét (18. ábra; 11. melléklet; FARKAS et al., 2025.: 1. kiegészítő táblázat)

A *TIP* transzkriptumszintje szignifikánsan növekedett a szárazság (D) hatására S1-nél. A kombinált tréning (US+D), majd a növények kezdetben semleges ingernek, az ultrahangnak való kitétele után az ultrahang kiváltotta a *TIP* expressziófokozódását. Az LFC-érték nem tért el szignifikánsan sem az S1-nél mért D-kezelés LFC-értékétől, sem az S4-nél mért US+D és D kezelés (a szárazság megismétlése a kombinált tréning után) LFC-értékétől. Ezért ez egy feltételes választ (CR) váltott ki. Bár az expressziós intenzitások értékei között volt különbség, a két csoport (US+D és D, US+D és US) nem tért el szignifikánsan egymástól (18a ábra). Ez a megfigyelés azt sugallja, hogy a növények a kombinált tréningnek (US+D kezelés) köszönhetően képesek voltak megjegyezni a két inger közötti asszociációt, és transzkriptomi szinten megfelelő választ adtak, vagyis fokozott génexpresszió volt megfigyelhető a *TIP* génnél a kondicionált inger (CS) és az ultrahang alkalmazása után az 5. napon (11. melléklet; FARKAS et al., 2025.: 1. kiegészítő táblázat).

Ugyanezt a logikát követve az ultrahang is kondicionált ingerként (CS) szolgált. A másik két gén vizsgálata során az mRNS-szekvenálási adatok alapján az S1 időpontban nem volt hatással az *MYB* génexpressziójára, míg a szárazság a célgén transzkriptumszintjének csökkenését váltotta ki. A kondicionálás (US+D) után – a *TIP*-hez hasonlóan – az ultrahang (US) kiváltotta a feltételes választ (CR). Az asszociatív memória létezése feltételezhető, mivel ugyanazt az expressziós intenzitást mértük (nem volt szignifikáns különbség), amikor a kondicionált növények az 5. napon szárazságkezelést (US+D és D) vagy ultrahangos kezelést (US+D és US) kaptak (18b ábra; 11. melléklet; FARKAS et al., 2025.: 1. kiegészítő táblázat).

Az mRNS-szekvenálási adatok alapján a szárazság (D) semleges jelként szolgált (nem mutatott expressziós változást a kontrollmintához képest), az ultrahang (US) pedig feltétlen ingerként (UCS) funkcionált, mivel az US-jel (önmagában vagy a D-vel kombinálva) az *EX* szignifikáns transzkriptumszintjének növekedését, az *ARGOS*-nak pedig a csökkenését okozta.

Az *EX* expressziós intenzitásai, amelyek az US+D és US, valamint az US+D és D kezelésekből származtak – amikor az US+D-vel tréningelt növényeknél vagy a D-t, vagy az US-t alkalmaztuk –, szignifikánsan eltértek egymástól. Feltételezhetően a különbség az ultrahangra adott késleltetett válasznak tudható be, mivel az *EX* az 5. napon (S2) expressziós intenzitása fokozódott a 2. napon (S1) mért eredményekhez képest. Ettől függetlenül a 7.

napon (S4) az US+D-vel tréningelt növények szárazságkezelése (US+D és D) az *EX* expressziófokozódását okozta, ami arra utal, hogy a szárazság kiváltotta a feltételes választ (CR), és asszociáció kialakulását sejteti (18c ábra; 11. melléklet; FARKAS et al., 2025.: 1. kiegészítő táblázat).

Ezzel szemben az ARGOS tekintetében, bár az US és az US+D kezelések esetében sikerült kimutatni a szomatikus transzkripció rövid távú emlékezet fenntartását (18. ábra), nem találtunk bizonyítékot a két inger (US és D) közötti asszociáció kialakulására. Eredetileg a célként az mRNS-szekvenálási adatokból származó 2 napos minták (S1) logaritmikus expresszió-változási értékei alapján választottuk ki, ahol a D szolgált volna semleges ingerként (CS), az US pedig feltétlen ingerként (UCS). Ezen hipotézis alapján azt kellett volna tapasztalnunk, hogy a 7. napra (S4) a kondicionálás után a D kiváltja a feltételes választ (CR) (például az ARGOS transzkriptumszintjének csökkenését), de az eredmények eltérő mértékű és irányú expressziós szinteket mutattak (19d ábra; 11. melléklet; FARKAS et al., 2025.: 1. kiegészítő táblázat). Ezért ebben az esetben nem feltételezhető asszociáció kialakulása.

A növényi asszociatív transzkripció memória vizsgálatához nem elegendő a semleges (CS) és a feltétlen (UCS) jelek kombinálása, majd a CS ezt követő alkalmazása és a növények válaszána elemzése. Ezzel párhuzamosan hangsúlyt kell fektetni a növényi transzkripció memória mértékének vizsgálatára is, mivel nem hanyagolható el, hogy az emlékezet fenntartása és annak mértéke befolyásolja a későbbi kezelések eredményeit. Ezek a megfigyelések magyarázatot adhatnak a *TIP*, az *MYB* és az *EX* expressziós mintázatai közötti különbségekre. Emellett, még ha a 4 célgén közül 3 meg is őrizte transzkripció memóriaját 5–10 napig, a 10. napra már nem volt kimutatható asszociáció egyik gén esetében sem (11. melléklet; FARKAS et al., 2025.: 1. kiegészítő táblázat).

A növények asszociáció-képzési képességére vonatkozó megállapításaink megerősítik a BHANDAWAT és munkatársai (2020), valamint GAGLIANO és munkatársai (2016) által korábban végzett, a növényi asszociatív tanulással kapcsolatos kutatásokat. A tanulmányok közötti egyik legfőbb különbség a tréning időtartamához kapcsolódott. BHANDAWAT és munkatársai (2020) egy órán keresztül kondicionálták a növényeket (*Arabidopsis thaliana*; 20 perc zene, 20 perc zene hőstressz mellett, majd 20 perc hő), míg GAGLIANO és munkatársai (2016) naponta háromszor 2 órán át tréningelték őket (*Pisum sativum*, 60 perc

légáramlás, 30 perc légáramlás + fény, 30 perc fény), 1 órás szünetekkel elválasztva, és a tréningeket 3–5 napon keresztül ismételték. Jelen tanulmányunkban azonban a kezelések (mind a D, mind az US) a korábbi kísérletek idejének csak töredékét igényelték, és csupán egyetlen tréningperiódust alkalmaztunk; ennek ellenére képesek voltunk feltárni a növények asszociáció-képzési képességét transzkripciós szinten. Mindazonáltal további vizsgálatokra van szükség annak meghatározásához, hogy a jel erőssége és típusa hogyan befolyásolja a tréninget és az asszociáció kialakulásához szükséges időt, valamint az asszociáció fenntartásának időtartamát a növényekben.

Összegzésképpen elmondható, hogy a növények két ingerrel (US+D) történő kombinált tréningje után kimutathatóvá vált a paradicsomnövények asszociáció-képzési képessége transzkripciós szinten, vagyis az, hogy egy semleges inger (CS) ugyanolyan génexpressziós választ váltott ki, mint a másik inger (UCS). Ha az egyik ingert 5 nappal a tréning után alkalmazták, a növények a vizsgált 4 célgén közül 3 esetében képesnek tűntek a különböző ingerek összekapcsolására, és az egyik semleges ingert a másik indikátoraként vagy előjeleként használták. A kombinált tréning után 5 nappal alkalmazott US (mint CS) a *TIP* és az *MYB* esetében ugyanolyan expressziós intenzitás-változást idézett elő, mint amit a D váltott ki. A kombinált tréning (US+D) után 5 nappal alkalmazott D (mint CS) inger az *EX* gén ugyanolyan mértékű expresszióját váltotta ki, mint az US. Ha az ingereket 10 nappal a kombinált tréning után alkalmazták, az asszociációs képesség már nem volt kimutatható. Úgy tűnik, hogy a növény asszociatív memóriája transzkripciós szinten csak rövid ideig (7 napig) tartható fenn, legalábbis az általunk vizsgált 4 célgén esetében. A jelen tanulmányból nyert eredmények a jövőben hasznosak lehetnek a nagyobb számú gén transzkripciós viselkedésének részletesebb vizsgálatához, egyéb epigenetikai változásokkal – például hiszton-módosulásokkal vagy a nem-kódoló RNS-állomány változásaival – együtt. A növények memóriefunkciókon alapuló, még rejtett képességeinek feltárása, különösen a tréning és a kondicionálás területén, hozzájárulhat a növényi emlékezet fenntartható mezőgazdasági hasznosításához is.

7. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

Solanum lycopersicum L. cv. ‘Micro-Tom’ paradicsomon végzett molekuláris vizsgálatok eredményeként a növényi stressz-memória területén az alábbi új tudományos megállapításokat tettem:

1. Az RNA-seq és WGBS adatok integrált elemzésével igazoltam, hogy a ‘Micro-Tom’ paradicsomfajta transzkriptom és DNS-metilációs válaszai szignifikáns, stressz-specifikus eltéréseket mutatnak. Sikerült feltárnom azokat az egyedi molekuláris mintázatokat, amelyek bizonyítják, hogy az alkalmazott ingerek nem csupán általános stresszválaszt, hanem az inger típusától függő, jól elkülöníthető génátírási és DNS-metilációs változásokat indukáltak. Kimutattam, hogy a transzkriptomikai és DNS-metilációs változások között nincs közvetlen korreláció.
2. Igazoltam egy molekuláris szintű „pufferhatás” meglétét, amelyen keresztül az ultrahangos előkezelés képes módosítani a későbbi szárazságstresszre adott választ. Eredményeimmel bizonyítottam, hogy ez a folyamat mérsékli a szárazság-specifikus transzkriptom-eltolódást, ami közvetlenül alátámasztja az ultrahang funkcionális priming (felkészítő) szerepét.
3. A transzkriptomikai vizsgálatokkal igazoltam a növényi memória létezését transzkriptomikai szinten, bizonyítva, hogy az alkalmazott kezelések nem csupán átmeneti reakciókat, hanem rövidtávú, intragenerációs emlékezetet váltottak ki.
4. A folyamat időbeli lefutását elemezve bemutattam a szomatikus transzkripciós memória dinamikáját, és meghatároztam, hogy a vizsgált markergének esetében a memória fennmaradása egy 7–10 napos időablakra korlátozódik. Ezzel párhuzamosan elkülönítettem a memória két típusát – a fenntartott indukciós (1. típus, *MYB*, *TIP*, *EX*) és a módosult re-indukciós (2. típus, *ARGOS*) memóriát.
5. Rövid távú kondicionálással bizonyítottam a növényi asszociatív memória létrejöttét, feltárva, hogy egyetlen tréningperiódust követően az adott gén expresszióját vizsgálva a semleges inger önmagában is képes kiváltani a feltétlen ingerre jellemző specifikus génexpressziós választ. Eredményeimmel azt is alátámasztottam, hogy ez az asszociáció-képzési folyamat ingerfüggő módon alakul ki.

6. Azonosítottam a molekuláris habituációt mint adaptációs stratégiát, mivel a memória-időablakon (10 napon) belül fellépő ismételt stressz a *TIP* gén esetében mérsékeltebb génexpressziós választ váltott ki, lehetővé téve a felesleges energiaveszteség elkerülését. Ezzel szemben igazoltam, hogy a transzkriptomi emlékezet elhalványulását követően (10. nap) egyfajta molekuláris szenzitizáció léphet fel, amely során az ismételt inger már extrém mértékű génexpressziós választ indukálhat. Ez a kettősség arra utal, hogy a korábbi tanulási folyamat módosította a növény válaszképességét, ahol a válasz jellege az első ingertől eltelt idő függvényében változott.

8. GYAKORLATBAN ALKALMAZHATÓ EREDMÉNYEK

A kutatás során feltárt molekuláris mechanizmusok és transzkripciós válaszreakciók ismerete lehetőséget ad a növényi stressz-memória folyamatainak tudatos befolyásolására, megalapozva az alábbi, a mezőgazdasági gyakorlatban alkalmazható eredményeket és javaslatokat:

1. Az ultrahangos kezelés igazolt priming hatása lehetőséget ad egy nem-invazív és vegyszermentes technológia kidolgozására. Az ultrahang kezelés alkalmazható a szárazságstressz okozta fiziológiai károk mérséklésére, javítva a növények túlélési esélyeit és hozamstabilitását aszályos időszakokban.
2. A növényi asszociatív tanulási képességének bizonyítása lehetővé teszi olyan prediktív védekezési stratégiák kialakítását, ahol egy könnyen kontrollálható ingerrel (pl. specifikus rezgés vagy ultrahang) aktiválható a növények belső védekező mechanizmusa még a tényleges, romboló hatású stressz (pl. szárazságstressz) bekövetkezése előtt.
3. A meghatározott 7–10 napos transzkripciós memória-intervallum alapján optimalizálható a stresszkezelési protokollok időzítése. A mezőgazdasági gyakorlatban ez segítséget nyújthat az ismételt kezelések vagy az öntözési ciklusok hatékonyabb tervezéséhez, elkerülve a növények habituációját (hosszszokását) vagy éppen kihasználva a szenzitizáció (érzékenyítés) előnyeit.
4. A transzkripciós memória és az epigenetikai mintázatok közötti kapcsolat feltárása hozzájárulhat a „stressz- emlékezettel” rendelkező, ellenállóbb fajták szelekciójához. Az azonosított markergének (pl. *TIP*, *EX*) alkalmasak lehetnek a növények „taníthatóságának” és stressztűrő képességének molekuláris szintű nyomonkövetésére.
5. A növények memóriájának kiaknázása csökkentheti a műtrágyák és növénykondicionáló szerek használatát, mivel a növényi memória aktiválása természetes úton javíthatja a növény környezethez való alkalmazkodási képességét.
6. A molekuláris habituáció azonosítása jelentős gyakorlati relevanciával bír, mivel igazolja, hogy a növények kondicionálása révén megelőzhető az ismételt stresszhatások okozta felesleges energiavesztés és metabolikus kimerülés. Ez a felismerés utat nyit a precíziós növénykondicionálási technológiák előtt, ahol a környezeti válaszkészség célzott finomhangolásával stabilabb hozam és fokozott stressztűrés érhető el a szántóföldi termesztésben.

9. ÖSSZEFOGLALÁS

A globális klímaváltozás következtében a mezőgazdasági termelésnek egyre gyakrabban kell szembenéznie szélsőséges abiotikus stresszhatásokkal, különösen a súlyos aszályal, ami szükségessé teszi a növényi stressz-alkalmazkodás és memória mélyebb molekuláris megismerését. Jelen értekezés központi célja a ‘Micro-Tom’ paradicsom (*Solanum lycopersicum* L.) stressz-specifikus válaszreakcióinak, transzkripciós memóriájának és asszociatív memória képzési képességének feltárása volt, különös tekintettel az ultrahang-kezelés és a szárazság molekuláris szintű kölcsönhatásaira.

A vizsgálatok igazolták a növények transzkriptom-szintű diszkriminációs képességét, bizonyítva, hogy a mechanikai vibráció (ultrahang) és az ozmotikus stressz (szárazság) egymástól elkülöníthető, specifikus molekuláris választ vált ki. Azonosításra került egy sajátos molekuláris „pufferhatás” is, amely során az ultrahangos priming (felkészítés) képes volt módosítani és szignifikánsan mérsékelni a későbbi szárazságstressz transzkriptomi hatásait négy gén esetében. A kísérletek pontosan definiálták a transzkripciós memória 7–10 napos időablakát, amelyen belül az ismételt ingerekre a növények habituációval (hozzászokással) reagáltak, míg az emlékezet törlődése után, a 12. napon szenzitizáció (egy gén esetében), azaz fokozott válaszkészség lépett fel. Az értekezés egyik legjelentősebb nívója az asszociatív memória képzés bizonyítása: a kondicionált növényekben egy korábban - a vizsgált célgénekre nézve - semleges inger önmagában is képes volt kiváltani a feltétlen stresszorra jellemző transzkripciós választ, ami prediktív adaptációs képességre utal.

Vizsgálataink rávilágítottak a globális DNS-metiláció és az mRNS-expresszió közötti közvetlen korreláció hiányára, ami alátámasztja, hogy a növényi stressz-memória nem egyetlen molekuláris szinten, hanem egy komplex, epigenetikai hálózat eredményeként valósul meg. Az eredmények tudományos alapot szolgáltatnak innovatív, fenntartható növényvédelmi technológiák kidolgozásához, ahol az ultrahang-alapú priming és az asszociatív kondicionálás lehetőséget ad a kultúrnövények belső adaptációs képességeinek célzott aktiválására. Ez a megközelítés hozzájárulhat az aszálytűrő képesség fokozásához és a modern mezőgazdaság hatékonyabb klímaadaptációjához, elősegítve a vegyszermentes és környezetbarát technológiák térnyerését.

10. SUMMARY

As a consequence of global climate change, agricultural production increasingly faces extreme abiotic stressors, particularly severe drought, necessitating a deeper molecular understanding of plant stress adaptation and memory. The primary objective of this dissertation was to explore the stress-specific responses, transcriptional memory, and associative memory-forming capabilities of ‘Micro-Tom’ tomato (*Solanum lycopersicum* L.), with a specific focus on the molecular-level interactions between ultrasound treatment and drought.

The investigations confirmed the plants' ability for transcriptome-level discrimination, proving that mechanical vibration (ultrasound) and osmotic stress (drought) trigger distinct, specific molecular responses. A unique molecular "buffering effect" was also identified, wherein ultrasound priming modified and significantly mitigated the transcriptomic impacts of subsequent drought stress for four specific genes. The experiments precisely defined a 7-10 day window for transcriptional memory, within which plants responded to repeated stimuli with habituation; however, after the memory faded, a sensitization (in the case of one gene) - i.e., increased responsiveness - occurred on the 12th day. One of the most significant novelties of this thesis is the demonstration of associative memory formation: in conditioned plants, a stimulus previously neutral with respect to the investigated target genes was alone capable of triggering the transcriptional response characteristic of the unconditional stressor, suggesting a predictive adaptive capacity.

Our studies highlighted the lack of direct correlation between global DNA methylation and mRNA expression, supporting the view that plant stress memory is not realized at a single molecular level but as the result of a complex epigenetic network. These results provide a scientific foundation for the development of innovative, sustainable plant protection technologies, where ultrasound-based priming and associative conditioning offer opportunities for the targeted activation of the internal adaptive capacities of crop plants. This approach may contribute to enhancing drought tolerance and more effective climate adaptation in modern agriculture, promoting the advancement of chemical-free and environmentally friendly technologies.

11. IRODALOM

1. Abramson, C. I. – Chicas-Mosier, A.M.: 2016. Learning in plants: lessons from *Mimosa pudica*. *Front. Psychol.* 7: 417. DOI: 10.3389/fpsyg.2016.00417
2. Agius, D. R. – Kapazoglou, A. – Avramidou, E. – Baranek, M. – Carneros, E. – Caro, E. – Castiglione, S. – Cicatelli, A. – Radanovic, A. – Ebejer, J.-P. – Gackowski, D. – Guarino, F. – Gulyás, A. – Hidvégi, N. – Hoenicka, H. – Inácio, V. – Johannes, F. – Karalija, E. – Lieberman-Lazarovich, M. – Martinelli, F. – Maury, S. – Mladenov, V. – Morais-Cecílio, L. – Pecinka, A. – Tani, E. – Testillano, P. S. – Todorov, D. – Valledor, L. – Vassileva, V.: 2023. Exploring the crop epigenome: a comparison of DNA methylation profiling techniques. *Front. Plant Sci.* 14: 1181039. DOI: 10.3389/fpls.2023.1181039
3. Akalin, A. – Franke, V. – Vlahoviček, K. – Mason, C. E. – Schübeler, D.: 2015. Genomation: a toolkit to summarize, annotate and visualize genomic intervals. *Bioinformatics*. 31(7): 1127–1129. DOI: 10.1093/bioinformatics/btu775.
4. Akalin, A. – Kormaksson, M. – Li, S. – Garrett-Bakelman, F. E. – Figueroa, M. E. – Melnick, A. – Mason, C. E.: 2012. Methylkit: a comprehensive R package for the analysis of genome-wide DNA methylation profiles. *Genome Biol.* 13(10): R87. DOI:10.1186/gb-2012-13-10-r87.
5. Aleklett, K. – Boddy, L.: 2021. Fungal behaviour: a new frontier in behavioural ecology. *Trends In Ecol. & Evol.* 36(9): 787–796. DOI: 10.1016/j.tree.2021.05.006
6. Alves de Freitas Guedes, F. – Menezes-Silva, P. E. – DaMatta, F. M. – Alves-Ferreira, M.: 2019. Using transcriptomics to assess plant stress memory. *Theor. Exp. Plant Physiol.* 31(1): 47-58. DOI: 10.1007/s40626-018-0135-0
7. Andersen, C. L. – Jensen, J.L. – Ørntoft, T. F.: 2004. Normalization of real-time quantitative reverse transcription-PCR data: a model-based variance estimation approach to identify genes suited for normalization, applied to bladder and colon cancer data sets. *CaRes.* 64: 5245–5250. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-04-0496.
8. Andrews S.: 2010. FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data. Online elérés: <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>. Megtekintés: 2025.07.12.

9. Aswathi, K. P. R. – Ul-Allah, S. – Puthur, J. T. – Siddique, K. H. M. – Frei, M. – Farooq, M.: 2025. The plant mind: unraveling abiotic stress priming, memory, and adaptation. *Physiol. Plant.* 177(4): e70372. DOI:10.1111/ppl.70372.
10. Avramova Z.: 2015. Transcriptional 'memory' of a stress: transient chromatin and memory (epigenetic) marks at stress-response genes. *Plant J.* 83(1): 149-59. DOI: 10.1111/tpj.12832.
11. Balazadeh S.: 2022. A 'Hot' cocktail: the multiple layers of thermomemory in plants. *Curr. Opin. Plant Biol.* 65: 102147. DOI: 10.1016/j.pbi.2021.102147.
12. Bannister, A. J. – Kouzarides, T.: 2011. Regulation of chromatin by histone modifications. *Cell Res.*, 21(3), 381-395. DOI: 10.1038/cr.2011.22
13. Basu, D. – Haswell, E. S.: 2017. Plant mechanosensitive ion channels: An ocean of possibilities. *Curr. Opin. Plant Biol.* 40: 43–48. DOI: 10.1016/j.pbi.2017.07.002
14. Beckers, G. J. – Jaskiewicz, M. – Liu, Y. – Underwood, W. R. – He, S. Y. – Zhang, S. – Conrath, U.: 2009. Mitogen-activated protein kinases 3 and 6 are required for full priming of stress responses in *Arabidopsis thaliana*. *The plant cell*, 21(3): 944-953. DOI: 10.1105/tpc.108.062158
15. Bej, S. – Basak, J.: 2014. MicroRNAs: the potential biomarkers in plant stress response. *Am. J. Plant Sci.* 5(05): 748-759. DOI: 10.4236/ajps.2014.55089
16. Berry, S. – Hartley, M. – Olsson, T. S. – Dean, C. – Howard, M.: 2015. Local chromatin environment of a Polycomb target gene instructs its own epigenetic inheritance. *eLife*. 4: e07205. DOI: 10.7554/eLife.07205
17. Bhandawat, A. – Jayaswall, K. – Sharma, H. – Roy, J.: 2020. Sound as a stimulus in associative learning for heat stress in *Arabidopsis*. *Commun. Integr. Biol.* 13(1): 1-5. DOI:10.1080/19420889.2020.1713426.
18. Bisbis, M. B. – Gruda, N. – Blanke, M.: 2018. Potential impacts of climate change on vegetable production and product quality - A review. *J. Clean. Prod.* 170: 1602–1620. DOI: 10.1016/j.jclepro.2017.09.224
19. Borg, M. – Jacob, Y. – Susaki, D. – LeBlanc, C. – Buendía, D. – Axelsson, E. – Kawashima, T. – Voigt, P. – Boavida, L. – Becker, J. – Higashiyama, T. – Martienssen, R. – Berger, F.: 2020. Targeted reprogramming of H3K27me3 resets epigenetic memory

- in plant paternal chromatin. *Nat. Cell Biol.* 22(6): 621–629. DOI: 10.1038/s41556-020-0515-y.
20. Bose, J. C.: 1906. Plant response as a Means of physiological investigation. London: Longmans, Green and Co; p. 781.
 21. Boyko, A. – Blevins, T. – Yao, Y. – Golubov, A. – Bilichak, A. – Ilnytskyy, Y. – Hollander, J. – Meins, F. – Kovalchuk, I.: 2010. Transgenerational adaptation of Arabidopsis to stress requires DNA methylation and the function of dicer-like proteins. *PLOS ONE*. 5(3): e9514. DOI: 10.1371/journal.pone.0009514
 22. Boyer, J. S.: 2009. Cell wall biosynthesis and the molecular mechanisms of plant enlargement. *Funct. Plant Biol.* 36(5): 383–394. DOI:10.1071/FP09048.
 23. Boyko, A. – Kovalchuk, I.: 2011. Genome instability and epigenetic modification—heritable responses to environmental stress? *Curr. Opin. Plant Biol.* 14(3): 260–266. DOI: 10.1016/j.pbi.2011.03.003
 24. Brenya, E. – Pervin, M. – Chen, Z. H. – Tissue, D. T. – Johnson, S. – Braam, J. – Cazzonelli, C. I.: 2021. Mechanical stress acclimation in plants: linking hormones and somatic memory to thigmomorphogenesis. *Plant Cell Environ.* 45(4): 989–1010. DOI: 10.1111/pce.14252
 25. Bruce, T. J. – Matthes, M. C. – Napier, J. A. – Pickett, J. A.: 2007. Stressful “memories” of plants: evidence and possible mechanisms. *J. Plant Sci.* 173(6): 603–608. DOI: 10.1016/j.plantsci.2007.09.002
 26. Bustin, S. A. – Benes, V. – Garson, J. A. – Hellemans, J. – Huggett, J. – Kubista, M. – Mueller, R. – Nolan, T. – Pfaffl, M. W. – Shipley, G. L. – Vandesompele, J. – Wittwer, C. T.: 2009. The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. *Clin. Chem.* 55(4): 611–22. DOI: 10.1373/clinchem.2008.112797
 27. Calvo, P. – Gagliano, M. – Souza, G. M. – Trewavas, A.: 2020. Plants are intelligent, here’s how. *Ann. Bot.* 125(1): 11–28. DOI: 10.1093/aob/mcz155
 28. Candela-Ferre, J. – Diego-Martin, B. – Pérez-Aleman, J. – Gallego- Bartolomé, J.: 2024. Mind the gap: epigenetic regulation of chromatin accessibility in plants. *Plant Physiol.* 194(4): 1998–2016. DOI: 10.1093/plphys/kiae024

29. Chan, S. W. L. – Henderson, I. R. – Zhang, X. – Shah, G. – Chien, J. S. C. – Jacobsen, S. E. – Doebley, J.: 2006. RNAi, DRD1, and histone methylation actively target developmentally important non-CG DNA methylation in arabidopsis. *PLOS Genet.* 2(6): e83. DOI: 10.1371/journal.pgen.0020083
30. Chen, S. – Zhou, Y. – Chen, Y. – Gu, J.: 2018. Fastp: an ultra-fast all-in-one fastq preprocessor. *Bioinformatics.* 34(17): i884–i890. DOI:10.1093/bioinformatics/bty560.
31. Chen, H. – Liu, Y. – Ding, F. – Li, Y. – Ottosen, C.-O. – Song, X. – Jiang, F. – Wu, Z. – Yu, X., – Zhou, R.: 2025. Physiological Responses of Tomato Plants with Varied Susceptibility to Multiple Drought Stress. *Antioxidants.* 14(12): 1448. DOI: 10.3390/antiox14121448
32. Choudhury, F. K. – Rivero, R. M. – Blumwald, E. – Mittler, R.: 2017. Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination. *Plant J.* 90(5): 856-867. DOI: 10.1111/tpj.13299
33. Christie, M. – Brosnan, C. A. – Rothnagel, J. A. – Carroll, B. J.: 2011. RNA decay and RNA silencing in plants: competition or collaboration? *Front. Plant Sci.* 2: 99. DOI: 10.3389/fpls.2011.00099.
34. Conesa, A. – Madrigal, P. – Tarazona, S. – Gomez-Cabrero, D. – Cervera, A. – McPherson, A. – Szczesniak, M. W. – Gaffney, D. J. – Elo, L. L. – Zhang, X. – Mortazavi, A.: 2016. A survey of best practices for RNA-seq data analysis. *Genome Biol.* 17(1): 13. DOI: 10.1186/s13059-016-0881-8
35. Conrath, U. – Beckers, G. J. – Langenbach, C. J. – Jaskiewicz, M. R.: 2015. Priming for enhanced defense. *Annu. Rev. Phytopathol.* 53: 97-119. DOI: 10.1146/annurev-phyto-080614-120132.
36. Conti, V. – Parrotta, L. – Romi, M. – Del Duca, S. – Cai, G.: 2023. Tomato biodiversity and drought tolerance: a multilevel review. *Int. J. of Mol. Sci.* 24(12): 10044. DOI: 10.3390/ijms241210044
37. Cooper, A. – Ton, J. – Kanyuka, K. – Hammond-Kosack, K.: 2022. Immune priming in plants: from the onset to transgenerational maintenance. *Essays In Biochem.* 66(5): 635–646. DOI:10.1042/EBC20210082

38. Crisp, P. A. – Ganguly, D. – Eichten, S. R. – Borevitz, J. O. – Pogson, B. J.: 2016. Reconsidering plant memory: Intersections between stress recovery, RNA turnover, and epigenetics. *Sci. adv.* 2(2), e1501340. DOI: 10.1126/sciadv.1501340
39. Cvrčková, F. – Konrádová, H.: 2022. Associative learning in plants: light quality history may matter. *Biocell.* 46(3): 645–649. DOI:10.32604/biocell.2022.018114.
40. Danchin, E. – Pocheville, A. – Rey, O. – Pujol, B. – Blanchet, S.: 2019. Epigenetically facilitated mutational assimilation: epigenetics as a hub within the inclusive evolutionary synthesis. *Biol. Rev.* 94(1): 259–282. DOI:10.1111/brev.12453
41. Demey, M. L. – Mishra, R. C. – Van Der Straeten, D.: 2023. Sound perception in plants: From ecological significance to molecular understanding. *Trends Plant Sci.* 28: 825–840. DOI: 10.1016/j.tplants.2023.03.003.
42. Dere, S. – Kusvuran, S. – Dasgan, H. Y.: 2022. Does drought increase the antioxidant nutrient capacity of tomatoes? *Int. J. Food Sci. Technol.* 57: 6633-6645. DOI: 10.1111/ijfs.16008
43. Derveaux, S. – Vandesompele, J. – Hellemans, J.: 2010. How to do successful gene expression analysis using real-time PCR. *Methods.* 50(4): 227-30. DOI: 10.1016/j.ymeth.2009.11.001.
44. Ding, Y. – Fromm, M. – Avramova, Z.: 2012. Multiple exposures to drought 'train' transcriptional responses in *Arabidopsis*. *Nat. Commun.* 3(1): 1-9. DOI: 10.1038/ncomms1732.
45. Ding, Y. – Liu, N. – Virilouvet, L. – Riethoven, J. J. – Fromm, M. – Avramova, Z.: 2013. Four distinct types of dehydration stress memory genes in *Arabidopsis thaliana*. *BMC Plant Biol.* 13: 229. DOI: 10.1186/1471-2229-13-229
46. Dobránszki, J.: 2021. Application of naturally occurring mechanical forces in in vitro plant tissue culture and biotechnology. *Plant Sign. Behav.* 16(6): 1902656. DOI: 10.1080/15592324.2021.1902656
47. Dobránszki, J. – Hidvégi, N. – Gulyás, A. – Teixeira da Silva, J. A.: 2019. mRNA transcription profile of potato (*Solanum tuberosum* L.) exposed to ultrasound during different stages of in vitro plantlet development. *Plant Mol. Biol.* 100: 511-525. DOI:10.1007/s11103-019-00876-0

48. Dobránszki, J. – Vassileva, V. – Agius, D. R. – Moschou, P. N. – Gallusci, P. – Berger, M. M. J. – Farkas, D. – Basso, M. F. – Martinelli, F.: 2025. Gaining insights into epigenetic memories through artificial intelligence and omics science in plants. *J. Integr. Plant Biol.* 67: 1-30. DOI:10.1111/jipb.13953.
49. Dopp, I. J. – Yang, X. – Mackenzie, S.A.: 2021. A new take on organelle-mediated stress sensing in plants. *New Phytol.* 230(6): 2148-2153. DOI:10.1111/nph.17333
50. Downen, R. H. – Pelizzola, M. – Schmitz, R. J. – Lister, R. – Downen, J. M. – Nery, J. R. – Dixon J. E. – Ecker, J. R.: 2012. Widespread dynamic DNA methylation in response to biotic stress. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 109(32): E2183-E2191. DOI: 10.1073/pnas.1209329109
51. Dutta, P.: 2018. Seed priming: new vistas and contemporary perspectives. [In: Rakshit, A., Singh, H. B. (szerk.) *Advances in seed priming*] Singapore: Springer Singapore. 3-22. DOI: 10.1007/978-981-13-0032-5_1
52. Erdmann, R. M. – Picard, C. L.: 2020. RNA-directed DNA methylation. *PLOS Genet.* 16(10): e1009034. DOI: 10.1371/journal.pgen.1009034
53. European Commission: 2020. A Farm to Fork Strategy for a fair, healthy and environmentally-friendly food system. Communication from the Commission. www.europa.eu (Megtekintés: 2026. április 15.)
54. FAOSTAT.: 2024. Crops and livestock products database. Food and Agriculture Organization of the United Nations. www.fao.org (Megtekintés: 2024. május 15.)
55. Farkas, D. – Dobránszki J.: 2024. Vegetal memory through the lens of transcriptomic changes - recent progress and future practical prospects for exploiting plant transcriptional memory. *Plant Signal. Behav.* 19(1): 2383515. DOI:10.1080/15592324.2024.2383515
56. Farkas, D. – Király, A. – Ambrus, V. A. – Tóth, B. – Dobránszki, J.: 2025. Short-term transcriptional memory and association-forming ability of tomato plants in response to ultrasound and drought stress stimuli. *Plant Signal. Behav.* 20 (1): 1-22. DOI: 10.1080/15592324.2025.2556982
57. Ferdous, J. – Syed, S. S. – Bu-Jun S.: 2015. Role of microRNAs in plant drought tolerance. *Plant Biotech. J.* 13: 293-305. DOI:10.1111/pbi.12318.

58. Alves de Freitas Guedes, F. – Menezes-Silva, P. E. – DaMatta, F. M. – Alves-Ferreira, M.: 2019. Using transcriptomics to assess plant stress memory. *Theor. Exp. Plant Physiol.* 31(1): 47–58. DOI:10.1007/s40626-018-0135-0
59. Fleta-Soriano, E. – Munné-Bosch, S.: 2016. Stress Memory and the Inevitable Effects of Drought: A Physiological Perspective. *Front. Plant Sci.* 7: 143. DOI: 10.3389/fpls.2016.00143
60. Foyer, C. H. – Noctor, G.: 2005. Oxidant and antioxidant signalling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. *Plant Cell Environ.* 28(8): 1056-1071. DOI: 10.1111/j.1365-3040.2005.01327.x
61. Foyer, C. H. – Rasool, B. – Davey, J. W. – Hancock, R. D.: 2016. Cross-tolerance to biotic and abiotic stresses in plants: a focus on resistance to aphid infestation. *J. Exp. Bot.* 67(7): 2025-2037. DOI: 10.1093/jxb/erw079
62. Friedrich, T. – Faivre, L. – Bäurle, I. – Schubert, D.: 2019. Chromatin-based mechanisms of temperature memory in plants. *Plant Cell Environ.* 42(3): 762-770. DOI: 10.1111/pce.13373.
63. Fruleux, A. – Verger, S. – Boudaoud, A.: 2019. Feeling stressed or strained? A biophysical model for cell wall mechanosensing in plants. *Front. Plant Sci.* 10: 757. DOI: 10.3389/fpls.2019.00757
64. Gagliano, M. – Abramson, C. I. – Depczynski, M.: 2018. Plants learn and remember: lets get used to it. *Oecologia.* 186(1): 29-31. DOI:10.1007/s00442-017-4029-7
65. Gagliano, M. – Renton, M. – Depczynski, M. – Mancuso S.: 2014. Experience teaches plants to learn faster and forget slower in environments where it matters. *Oecologia.* 175(1): 63-72. DOI: 10.1007/s00442-013-2873-7
66. Gagliano, M.: 2017. The mind of plants: thinking the unthinkable. *Commun. Integr. Biol.* 10(2): 38427. DOI: 10.1080/19420889.2017.1288333
67. Gagliano, M. – Vyazovskiy, V. V. – Borbély, A. A. – Depczynski, M. – Radford, B.: 2020. Comment on ‘lack of evidence for associative learning in pea plants’. *eLife.* 9: e61141. DOI:10.7554/eLife.61141.
68. Gagliano, M. – Vyazovskiy, V. V. – Borbély, A. A. – Grimonprez, M. – Depczynski, M.: 2016. Learning by association in plants. *Sci. Rep.* 6(1), 38427. DOI: 10.1038/srep38427

69. Gallusci, P. – Agius, D. R. – Moschou, P. N. – Dobránszki, J. – Kaiserli, E. – Martinelli, F.: 2023. Deep inside the epigenetic memories of stressed plants. *Trends Plant Sci.* 28(2): 142-153. DOI:10.1016/j.tplants.2022.09.004
70. Gallusci, P. – Dai, Z. – Génard, M. – Gauffretau, A. – Leblanc-Fournier, N. – Richard-Molard, C. – Vile, D. – Brunel-Muguët, S.: 2017. Epigenetics for plant improvement: current knowledge and modeling avenues. *Trends Plant Sci.* 22(7), 610-623. DOI: 10.1016/j.tplants.2017.04.009
71. Galviz, Y. – Souza, G. M. – Lüttge, U.: 2022. The biological concept of stress revisited: relations of stress and memory of plants as a matter of space–time. *Theor. Exp. Plant Physiol.* 34(2): 239-264. DOI:10. 1007/s40626-022-00245-1
72. Galviz, Y. C. – Ribeiro, R. V. – Souza, G. M.: 2020. Yes, plants do have memory. *Theor. Exp. Plant Physiol.* 32(3), 195-202. DOI: 10.1007/s40626-020-00181-y
73. Garai, S. – Sopory S.K.: 2023. Memory of plants: present understanding. *Nucleus.* 66(1): 47-51. DOI:10.1007/s13237-022-00399-y
74. Gasparini, K. – Figueiredo, Y. G. – de Aquino, L. M. – Vitorino, C. N. D. S. – Ribeiro, D. M. – Peres, L. E. P. – Zsögön, A.: 2025. Micro-Tom tomato: from ornamental horticulture to fundamental research. *Hortic. Adv.* 3(1): 8. DOI: 10.1007/s44281-025-00062-x
75. Gelaw, T. A. – Sanan-Mishra, N.: 2021. Non-coding RNAs in response to drought stress. *Int. J. Mol. Sci.* 22: 12519. DOI:10.3390/ijms222212519.
76. Ghosh, R. – Mishra, R. – Choi, B. – Kwon, Y. S. – Bae, D. W. – Park, S. C. – Jeong, M. J. – Bae, H.: 2016. Exposure to Sound Vibrations Lead to Transcriptomic, Proteomic and Hormonal Changes in Arabidopsis. *Sci. Rep.* 6: 33370. DOI: 10.1038/srep33370.
77. Grozeva, S. – Topalova, E. – Ganeva, D. – Tringovska, I.: 2024. Evaluation of tomato landraces for tolerance to drought stress using morphological and physiological traits. *Int. J. Plant Biol.* 15(4), 1391-1404. DOI: 10.3390/ijpb15040096
78. Guarino, F. – Cicatelli, A. – Castiglione, S. – Agius, D. R. – Orhun, G. E. – Fragkostefanakis, S. – Leclercq, J. – Dobránszki, J. – Kaiserli, E. – Lieberman-Lazarovich, M. – Sömera, M. – Sarmiento, C. – Vettori, C. – Paffetti, D. – Poma, A. M. G. – Moschou, P. N. – Gašparović, M – Yousefi, S. – Vergata, C. – Berger, M. M. J. – Gallusci, P. – Miladinović, D. – Martinelli, F.: 2022. An epigenetic alphabet of crop

- adaptation to climate change. *Front. Genet.* 16(13): 818727. DOI: 10.3389/fgene.2022.818727
79. Hamant, O. – Haswell, E. S.: 2017. Life behind the wall: Sensing mechanical cues in plants. *BMC Biol.* 15(1): 59. DOI: 10.1186/s12915-017-0403-5
 80. Harris, C. J. – Amtmann, A. – Ton, J.: 2023. Epigenetic processes in plant stress priming: open questions and new approaches. *Curr. Opin. Plant Biol.* 75: 102432. DOI: 10.1016/j.pbi.2023.102432.
 81. Hasanuzzaman, M. – Nahar, K. – Gill, S. S. – Fujita, M.: 2013. Drought stress responses in plants, oxidative stress, and antioxidant defense. [In: Narendra T., Sarvajeet S. G. (szerk.), *Climate change and plant abiotic stress tolerance*] Wiley, VCH Verlag GmbH & Co. 209-250.
 82. Haukioja E.: 1990. Induction of defenses in trees. *Ann. Rev. Entomol.* 36: 25-42. DOI:10.1146/annurev.en.36.010191.000325.
 83. Hayat, S. – Hayat, Q. – Alyemeni, M. N. – Wani, A. S. – Pichtel, J. – Ahmad, A.: 2012. Role of proline under changing environments: a review. *Plant Signal. Behav.* 7(11): 1456-66. DOI: 10.4161/psb.21949
 84. He, Y. – Li, Z.: 2018. Epigenetic environmental memories in plants: establishment, maintenance, and reprogramming. *Trends Genet.* 34(11): 856-866. DOI: 10.1016/j.tig.2018.07.006.
 85. Hidvégi, N. – Gulyás, A. – Dobránszki, J.: 2022. Ultrasound, as a hypomethylating agent, remodels DNA methylation and alters mRNA transcription in winter wheat (*Triticum Aestivum* L.) seedlings. *Physiol. Plant.* 174: e13777. DOI:10.1111/ppl.13777.
 86. Hilker, M. – Schmölling, T.: 2019. Stress priming, memory, and signalling in plants. *Plant Cell Environ.* 42(3): 753-761. DOI: 10.1111/pce.13526. PMID: 30779228.
 87. Hilker, M. – Schwachtje, J. – Baier, M. – Balazadeh, S. – Bährle, I. – Geiselhardt, S. – Hinch, D. K. – Kunze, R. – Mueller-Roeber, B. – Rillig, M. C. – Rolff, J. – Romeis, T. – Schmölling, T. – Steppuhn, A. – van Dongen, J. – Whitcomb, S. J. – Wurst, S. – Zuther, E. – Kopka, J.: 2016. Priming and memory of stress responses in organisms lacking a nervous system. *Biol. Rev.* 91(4): 1118-1133. DOI:10.1111/brv.12215.
 88. Hilker, M. – Schwachtje, J. – Baier, M. – Balazadeh, S. – Bährle, I. – Geiselhardt, S. – Hinch, D. K. – Kunze, R. – Mueller-Roeber, B. – Rillig, M. C. – Schmölling, T.: 2016.

- Priming and memory of abiotic stress in plants: An emerging field of research. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* 91(1): 230-248. DOI: 10.1111/brv.12215
89. Hilker, M. – Schwachtje, J. – Baier, M. – Balazadeh, S. – Bäurle, I. – Geiselhardt, S. – Hinch, D. K. – Kunze, R. – Mueller-Roeber, B. – Rillig, M. C. – Rolff, J. – Romeis, T. – Schmülling, T. – Steppuhn, A. – van Dongen, J. – Whitcomb, S. J. – Wurst, S. – Zuther, E. – Kopka, J.: 2016. Priming and memory of stress responses in organisms lacking a nervous system. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* 91(4): 1118-1133. DOI: 10.1111/brv.12215.
 90. Holeski, L. M. – Jander, G. – Agrawal, A. A.: 2012. Transgenerational defense induction and epigenetic inheritance in plants. *Trends Ecol. Evol.* 27(11): 618-626. DOI: 10.1016/j.tree.2012.07.011.
 91. Hossain, M. A. – Li, Z. G. – Hoque, T. S. – Burritt, D. J. – Fujita, M. – Munné-Bosch, S.: 2018. Heat or cold priming-induced cross-tolerance to abiotic stresses in plants: key regulators and possible mechanisms. *Protoplasma*, 255(1), 399-412. DOI: 10.1007/s00709-017-1150-8.
 92. Hrdlickova, R. – Toloue, M. – Tian, B.: 2017. RNA-Seq methods for transcriptome analysis. *Wiley Interdiscip. Rev.: RNA*, 8(1), e1364. DOI: 10.1002/wrna.1364
 93. Huang, H. – Guo, C. – Cheng, S. – Wang, Z.: 2026. DNA methylation dynamics in plant abiotic stress response: mechanisms, memory, and breeding applications. *Genes (Basel)*. 17(3): 301. DOI: 10.3390/genes17030301.
 94. Huang, J. – Yang, M. – Zhang, X.: 2016. The function of small RNAs in plant biotic stress response. *J. Integr. Plant Biol.* 58(4): 312-327. DOI:10.1111/jipb.12463
 95. Huang, S. – Ashraf, U. – Duan, M. – Ren, Y. – Xing, P. – Yan, Z. – Tang, X.: 2024. Ultrasonic seed treatment improved seed germination, growth, and yield of rice by modulating associated physio-biochemical mechanisms. *Ultrason. Sonochem.* 104, 106821. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2024.106821
 96. Huot, B. – Yao, J. – Montgomery, B. L. – He, S. Y.: 2014. Growth-defense tradeoffs in plants: a balancing act to optimize fitness. *Mol. Plant.* 7(8): 1267-1287. DOI:10.1093/mp/ssu049.

97. Hussain, M. – Rahman M. K. – Mishra, R. C. – Van Der Straeten, D.: 2023. Plants can talk: A new era in plant acoustics. *Trends Plant Sci.* 28, 987-990. DOI: 10.1016/j.tplants.2023.06.014
98. IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change): 2023. Climate Change 2023: Synthesis Report. DOI: 10.59327/IPCC/AR6-9789291691647
99. Jaskiewicz, M. – Conrath, U. – Peterhänsel, C.: 2011. Chromatin modification acts as a memory for systemic acquired resistance in the plant stress response. *EMBO Rep.* 12(1), 50-55. DOI: 10.1038/embor.2010.186
100. Jolliffe, I. T. – Cadima, J.: 2016. Principal component analysis: a review and recent developments. *Philos. Trans. A. Math. Phys. Eng. Sci.* 374(2065), 20150202. DOI: 10.1098/rsta.2015.0202
101. Jung, J. – Kim, S. K. – Kim, J. Y. – Jeong, M. J. – Ryu, C. M.: 2018. Beyond chemical triggers: evidence for sound-evoked physiological reactions in plants. *Front. Plant Sci.* 9: 25. DOI: 10.3389/fpls.2018.00025
102. Kappel, C. – Friedrich, T. – Oberkofler, V. – Jiang, L. – Crawford, T. – Lenhard, M. – Bäurle, I.: 2023. Genomic and epigenomic determinants of heat stress-induced transcriptional memory in Arabidopsis. *Genome Biol.* 24(1): 129. DOI: 10.1186/s13059-023-02970-5.
103. Kawakami, D. – Yoshida, T. – Kanemaru, Y. – Zaquinaula, M. H. H. – Mizukami, T. – Arimoto, M. – Shibata, T. – Goto, A. – Enami, Y. – Amano, H. – Teraoka, T. – Komatsu, K. – Arie, T.: 2019. Induction of resistance to diseases in plant by aerial ultrasound irradiation. *J. Pestic. Sci.* 44(1): 41-47. DOI: 10.1584/jpestics.
104. Khait, I. – Lewin-Epstein, O. – Sharon, R. – Saban, K. – Goldstein, R. – Anikster, Y. – Zeron, Y. – Agassy, C. – Nizan, S. – Sharabi, G. – Perelman, R. – Boonman, A. – Sade, N. – Yovel, Y. – Hadany, L.: 2023. Sounds emitted by plants under stress are airborne and informative. *Cell.* 186 (7), 1328–1336. DOI: 10.1016/j.cell.2023.03.009
105. Khait, I. – Obolski, U. – Yovel, Y. – Hadany, L.: 2019. Sound perception in plants. *Semin. Cell Dev. Biol.* 92, 134–138. DOI: 10.1016/j.semcdb.2019.03.006
106. Kim, D. – Paggi, J. M. – Park, C. – Bennett, C. – Salzberg, S. L.: 2019. Graph-based genome alignment and genotyping with HISAT2 and HISAT-genotype. *Nat Biotechnol.* 37(8): 907-915. DOI:10.1038/s41587-019-0201-4.

107. Kim, J. M. – Sasaki, T. – Ueda, M. – Sako, K. – Seki, M.: 2015. Chromatin changes in response to drought, salinity, heat, and cold stresses in plants. *Front. Plant Sci.* 6: 114. DOI: 10.3389/fpls.2015.00114
108. Kimura, S. – Sinha, N.: 2008. Tomato (*Solanum lycopersicum*): A Model Fruit-Bearing Crop. *CSH Protoc.* 2008: pdb.emo105. DOI: 10.1101/pdb.emo105.
109. Kinoshita, T. – Seki, M.: 2014. Epigenetic memory for stress response and adaptation in plants. *Plant Cell Physiol.* 55(11): 1859-1863. DOI: 10.1093/pcp/pcu125
110. Király, A. – Farkas, D. – Dobránszki, J.: 2025. Ultrasound in plant life and its application perspectives in horticulture and agriculture. *Horticulturae*. 11(3): 318. DOI: 10.3390/horticulturae11030318
111. Knight, H. – Knight, M. R.: 2001. Abiotic stress signalling pathways: specificity and cross-talk. *Trends Plant Sci.* 6(6): 262-267. DOI: 10.1016/s1360-1385(01)01946-x
112. Kouzarides, T.: 2007. Chromatin modifications and their function. *Cell.* 128(4): 693-705. DOI: 10.1016/j.cell.2007.02.005
113. Kovalchuk, I.: 2023. Role of epigenetic factors in response to stress and establishment of somatic memory of stress exposure in plants. *Plants*. 12(21): 3667. DOI: 10.3390/plants12213667
114. Krueger, F. – Andrews, S. R.: 2011. Bismark: a flexible aligner and methylation caller for bisulfite-seq applications. *Bioinformatics*. 27(11): 1571-1572. DOI:10.1093/bioinformatics/btr167.
115. Lämke, J. – Bäurle, I.: 2017. Epigenetic and chromatin-based mechanisms in environmental stress adaptation and stress memory in plants. *Genome Biol.* 18(1): 124. DOI: 10.1186/s13059-017-1263-6
116. Lämke, J. – Brzezinka, K. – Altmann, S. – Bäurle, I.: 2016. A hit-and-run heat shock factor governs sustained histone methylation and transcriptional stress memory. *EMBO J.* 35(2): 162-175. DOI: 10.15252/emboj.201592593
117. Law, J. A. – Jacobsen, S. E.: 2010. Establishing, maintaining and modifying DNA methylation patterns in plants and animals. *Nat. Rev. Genet.* 11(3): 204-220. DOI: 10.1038/nrg2719
118. Lever, J. – Krzywinski, M. – Altman, N.: 2017. Principal component analysis. *Nat. Methods*. 14: 641-642. DOI: 10.1038/nmeth.4346

119. Li, T. – Yan, A. – Bhatia, N. – Altinok, A. – Afik, E. – Durand-Smet, P. – Tarr, P. T. – Schroeder, J. I. – Heisler, M. G. – Meyerowitz, E. M.: 2019. Calcium signals are necessary to establish auxin transporter polarity in a plant stem cell niche. *Nat. Commun.* 10(1): 726. DOI:10.1038/s41467-019-08575-6.
120. Liao, Y. – Smyth, G. K. – Shi, W.: 2014. Featurecounts: an efficient general purpose program for assigning sequence reads to genomic features. *Bioinformatics.* 30(7): 923-930. DOI:10.1093/bioinformatics/btt656.
121. Lichtenthaler H. K.: 1996. Vegetation stress: an introduction to the stress concept in plants. *J. Plant Physiol.* 148(1-2): 4- 14. DOI: 10.1016/S0176-1617(96)80287-2
122. Liu, H. – Able, A. J. – Able, J. A.: 2022. Priming crops for the future: rewiring stress memory. *Trends Plant Sci.* 27(7): 699-716. DOI:10.1016/ j.tplants.2021.11.015
123. Liu, J. – Feng, L. – Gu, X. – Deng, X. – Qiu, Q. – Li, Q. – Zhang, Y. – Wang, M. – Deng, Y. – Wang, E. – He, Y. – Bäurle, I. – Li, J. – Cao, X. – He, Z.: 2019. An H3K27me3 demethylase-HSFA2 regulatory loop orchestrates transgenerational thermomemory in arabidopsis. *Cell Res.* 29(5): 379-390. DOI:10.1038/s41422- 019-0145-8
124. Liu, S. – Jiao, J. – Lu, T. J. – Xu, F. – Pickard, B. G. – Genin, G. M.: 2017. *Arabidopsis* leaf trichomes as acoustic antennae. *Biophys. J.* 113, 2068-2076. DOI: 10.1016/j.bpj.2017.07.035
125. Lloyd, J. P. B. – Lister, R.: 2022. Epigenome plasticity in plants. *Nat. Rev. Genet.* 23(1): 55-68. DOI:10.1038/s41576-021-00407-y .
126. López-Ribera, I. – Vicient, C. M.: 2017. Drought tolerance induced by sound in *Arabidopsis* plants. *Plant Signal. Behav.* 12(10): e1368938. DOI: 10.1080/15592324.2017.1368938
127. Love, M. I. – Huber, W. – Anders, S.: 2014. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biol.* 15(12): 550. DOI: 10.1186/s13059-014-0550-8
128. Lucht, J. M. – Mauch-Mani, B. – Steiner, H. Y. – Metraux, J. P. – Ryals, J. – Hohn, B.: 2002. Pathogen stress increases somatic recombination frequency in arabidopsis. *Nat Genet.* 30(3): 311-314. DOI:10.1038/ng846
129. Ma, L. – Xing, L. – Li, Z. – Jiang, D.: 2025. Epigenetic control of plant abiotic stress responses. *J. Genet. Genomics.* 52(2): 129-144. DOI: 10.1016/j.jgg.2024.09.008

130. Machado, J. – Vasconcelos, M. – Soares, C. – Fidalgo, F. – Heuvelink, E. – Carvalho, S.: 2023. Enzymatic and non-enzymatic antioxidant responses of young tomato plants (cv. Micro-Tom) to single and combined mild nitrogen and water deficit: not the sum of the parts. *Antioxidants*. 12(2): 375. DOI: 10.3390/antiox12020375
131. Mallatt, J. – Blatt, M. R. – Draguhn, A. – Robinson, D. G. – Taiz, L.: 2021. Debunking a myth: plant consciousness. *Protoplasma*. 258(3): 459-476. DOI:10.1007/s00709-020-01579-w
132. Maric, A.: 2025. Memories that last: epigenetic regulation of cold stress response prepares plants for subsequent stress events. *Plant Physiol*. 197(1): kiae579. DOI:10.1093/plphys/kiae579.
133. Markel, K.: 2020. Response to comment on ‘lack of evidence for associative learning in pea plants’. *eLife*. 9: e61689. DOI: 10.7554/eLife.61689.
134. Markel K.: 2016. Pavlov’s pea plants? Not so fast. An attempted replication of Gagliano et al. *eLife*. 9: e57614. DOI:10.1101/2020.04.05.026823.
135. Martin, S. J. – Grimwood, P. D. – Morris, R. G.: 2000. Synaptic plasticity and memory: an evaluation of the hypothesis. *Annu. Rev. Neurosci*. 23(1): 649-711. DOI: 10.1146/annurev.neuro.23.1.649
136. Martinez-Medina, A. – Flors, V. – Heil, M. – Mauch-Mani, B. – Pieterse, C. M. – Pozo, M. J. – Ton, J. – van Dam, N. M. – Conrath, U.: 2016. Recognizing plant defense priming. *Trends Plant Sci*. 21(10): 818-822. DOI: 10.1016/j.tplants.2016.07.009.
137. Matsumura, M. – Nomoto, M. – Itaya, T. – Aratani, Y. – Iwamoto, M. – Matsuura, T. – Hayashi, Y. – Kinoshita, T. – Mori, I. C. – Suzuki, T. – Betsuyaku, S. – Spoel, S. H. – Toyota, M. – Tada, Y.: 2022. Mechanosensory trichome cells evoke a mechanical stimuli-induced immune response in plants. *Nat. Commun*. 13(1): 1216. DOI: 10.1038/s41467-022-28813-8
138. Mauch-Mani, B. – Baccelli, I. – Luna, E. – Flors, V.: 2017. Defense priming: an adaptive part of induced resistance. *Annu. Rev. Plant Biol*. 68(1): 485-512. DOI: 10.1146/annurev-arplant-042916-041132
139. Medyouni, I. – Zouaoui, R. – Rubio, E. – Serino, S. – Ahmed, H. B. – Bertin, N.: 2021. Effects of water deficit on leaves and fruit quality during the development period in tomato plant. *Food Sci. Nutr*. 9(4): 1949-1960. DOI: 10.1002/fsn3.2160

140. Merilä, J.: 2012. Evolution in response to climate change: In pursuit of the missing evidence. *BioEssays* 34: 811-818. DOI: 10.1002/bies.201200054
141. Mihaylova, E. – Marcheva, M. – Peruhov, N.: 2021. Ultrasound seed treatment for organic farming. *Bulg. J. Agric. Sci.* 27: 78-84.
142. Milutinović, B. – Kurtz, J.: 2016. Immune memory in invertebrates. *Semin Immunol.* 28(4): 328-342. *Academic Press*. DOI: 10.1016/j.smim.2016.05.004
143. Mirouze, M. – Paszkowski, J.: 2011. Epigenetic contribution to stress adaptation in plants. *Curr. Opin. Plant Biol.* 14(3): 267-274. DOI: 10.1016/j.pbi.2011.03.004.
144. Mishra, N. – Jiang, C. – Chen, L. – Paul, A. – Chatterjee, A. – Shen, G.: 2023. Achieving abiotic stress tolerance in plants through antioxidative defense mechanisms. *Front. Plant Sci.* 14: 1110622. DOI: 10.3389/fpls.2023.1110622
145. Mishra, R. C. – Ghosh, R. – Bae, H.: 2016. Plant acoustics: in the search of a sound mechanism for sound signaling in plants. *J. Exp. Bot.* 67(15): 4483-94. DOI: 10.1093/jxb/erw235.
146. Mittler, R.: 2006. Abiotic stress, the field environment and stress combination. *Trends Plant Sci.* 11(1): 15-19. DOI: 10.1016/j.tplants.2005.11.002
147. Monshausen, G. B. – Bibikova, T. N. – Weisenseel, M. H. – Gilroy, S.: 2009. Ca²⁺ regulates reactive oxygen species production and pH during mechanosensing in *Arabidopsis* roots. *Plant Cell.* 21(8): 2341–2356. DOI: 10.1105/tpc.109.068395.
148. Monshausen, G. B. – Haswell, E. S.: 2013. A force of nature: molecular mechanisms of mechanoperception in plants. *J. Exp. Bot.* 64(15): 4663-4680. DOI: 10.1093/jxb/ert204
149. Murashige, T. – Skoog, F.: 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15(3): 473-497. DOI:10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x.
150. Muthusamy, M. – Uma, S. – Backiyarani, S. – Saraswathi, M. S. – Chandrasekar, A.: 2016. Transcriptomic changes of drought- tolerant and sensitive banana cultivars exposed to drought stress. *Front. Plant Sci.* 7: 1609. DOI:10.3389/ fpls.2016.01609.
151. Nankishore, A. – Farrell, A. D.: 2016. The response of contrasting tomato genotypes to combined heat and drought stress. *J. Plant Physiol.* 202: 75-82. DOI: 10.1016/j.jplph.2016.07.006

152. Naumann, U. – Daxinger, L. – Kanno, T. – Eun, C. – Long, Q. – Lorkovic, Z. J. – Matzke, M. – Matzke, A. J.: 2011. Genetic evidence that DNA methyltransferase DRM2 has a direct catalytic role in RNA-directed DNA methylation in *Arabidopsis thaliana*. *Genetics*. 187(3): 977-979. DOI: 10.1534/genetics.110.125401
153. Nick, P.: 2021. Intelligence without neurons: a Turing Test for plants? *Protoplasma*. 258(3): 455-458. DOI:10.1007/s00709-021-01642-0
154. Niyazova, N. – Huseynova, I.: 2024. The Antioxidant Defense System of Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) Varieties under Drought Stress and upon Post-Drought Rewatering. *Biochem. (Mosc.)* 89(6): 1146-1157. DOI: 10.1134/S0006297924060130
155. Nolan, T. – Hands, R. E. – Bustin, S. A.: 2006. Quantification of mRNA using real-time RT-PCR. *Nat Protoc*. 1(3): 1559-82. DOI: 10.1038/nprot.2006.236.
156. Novoplansky, A.: 2015. Future perception in plants. [In: Anticipation across disciplines] Cham: Springer International Publishing, 57-70.
157. Nykänen, H. – Koricheva, J.: 2004. Damage-induced changes in woody plants and their effects on insect herbivore performance: a meta-analysis. *Oikos*. 104: 247-268. DOI: 10.1111/j.0030-1299.2004.12768.x
158. Oberkofler, V. – Pratx, L. – Bäurle, I.: 2021. Epigenetic regulation of abiotic stress memory: maintaining the good things while they last. *Curr. Opin. Plant Biol.* 61: 102007. DOI: 10.1016/j.pbi.2021.102007.
159. Pagano, M. – Del Prete, S.: 2024. Symphonies of Growth: Unveiling the Impact of Sound Waves on Plant Physiology and Productivity. *Biology*, 13(5): 326. DOI: 10.3390/biology13050326
160. Park, C. J. – Seo, Y. S.: 2015. Heat shock proteins: a review of the molecular chaperones for plant immunity. *Plant Pathol. J.* 31(4), 323-333. DOI: 10.5423/PPJ.RW.08.2015.0150
161. Pesti-Asbóth, G. – Molnár-Bíró, P. – Forgács, I. – Remenyik, J. – Dobránszki, J.: 2022. Ultrasonication affects the melatonin and auxin levels and the antioxidant system in potato in vitro. *Front. Plant Sci.* 13: 979141. DOI: 10.3389/fpls.2022.979141
162. Peyronnet, R. – Tran, D. – Girault, T. – Frachisse, J.-M.: 2014. Mechanosensitive channels: feeling tension in a world under pressure. *Front. Plant Sci.* 5: 558. DOI:10.3389/fpls.2014.00558.

163. Pfaffl, M. W. – Tichopad, A. – Prgomet, C. – Neuvians, T. P.: 2004. Determination of stable housekeeping genes, differentially regulated target genes and sample integrity: bestkeeper-excel-based tool using pair-wise correlations. *Biotechnol Lett.* 26: 509-515. DOI:10.1023/B:BILE.0000019559.84305.47.
164. Pfeffer, W.: 1873 Physiologische Untersuchungen. [In: Leipzig, Verlag von Wilhelm Engelmann] 217, DOI: 10.5214/ans.0972-7531.1017309
165. Ponomarenko, A. – Vincent, O. – Pietriga, A. – Cochard, H. – Badel, E. – Marmottant, P.: 2014. Ultrasonic emissions reveal individual cavitation bubbles in water-stressed wood. *J. R. Soc. Interface.* 11: 20140480. DOI: 10.1098/rsif.2014.0480
166. Prime-A-Plant Group – Conrath, U. – Beckers, G. J. – Flors, V. – García-Agustín, P. – Jakab, G. – Mauch, F. – Newman, M. A. – Pieterse, C. M. – Poinssot, B. – Pozo, M. J. – Pugin, A. – Schaffrath, U. – Ton, J. – Wendehenne, D. – Zimmerli, L. – Mauch-Mani, B.: 2006. Priming: getting ready for battle. *Mol. Plant Microbe Interact.* 19(10): 1062-71. DOI: 10.1094/MPMI-19-1062.
167. Plesser, H. E.: 2018. Reproducibility vs. replicability: a brief history of a confused terminology. *Front. Neuroinform.* 11: 1309. DOI:10.3389/fninf.2017.00076.
168. R Core Team.: 2025. R: a language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. (<https://www.R-project.org/>)
169. Rao, X. – Yang, S. – Lü, S. – Yang, P.: 2024. DNA methylation dynamics in response to drought stress in crops. *Plants.* 13: 1977. DOI: 10.3390/plants13141977
170. Rasmussen, S. – Barah, P. – Suarez-Rodriguez, M. C. – Bressendorff, S. – Friis, P. – Costantino, P. – Bones, A. M. – Nielsen, H. B. – Mundy, J.: 2013. Transcriptome responses to combinations of stresses in Arabidopsis. *Plant Physiol.* 161(4): 1783-1794. DOI: 10.1104/pp.112.210773
171. Reed-Guy, S. – Gehris, C. – Shi, M. – Blumstein, D. T.: 2017. Sensitive plant (*mimosa pudica*) hiding time depends on individual and state. *Peer J.* 5: e3598. DOI: 10.7717/peerj.3598
172. Reid, C. R. – Latty, T. – Dussutour, A. – Beekman, M.: 2012. Slime mold uses an externalized spatial “memory” to navigate in complex environments. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 109(43): 17490-17494. DOI: 10.1073/pnas.1215037109

173. Ries, G. – Buchholz, G. – Frohnmeier, H. – Hohn, B.: 2000. UV-damage- mediated induction of homologous recombination in Arabidopsis is dependent on photosynthetically active radiation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 97(24): 13425-13429. DOI: 10.1073/pnas. 230251897
174. Ringnér, M.: 2008. What is principal component analysis? *Nat. Biotechnol.* 26: 303-304 DOI: 10.1038/nbt0308-303
175. Rosenberg, T. – Gal-Ben-Ari, S. – Dieterich, D. C. – Kreutz, M. R. – Ziv, N. E. – Gundelfinger, E. D. – Rosenblum, K.: 2014. The roles of protein expression in synaptic plasticity and memory consolidation. *Front. Mol. Neurosci.* 7: 86. DOI: 10.3389/fnmol.2014.00086
176. Saito, T. – Ariizumi, T. – Okabe, Y. – Asamizu, E. – Hiwasa-Tanase, K. – Fukuda, N. – Mizoguchi, T. – Yamazaki, Y. – Aoki, K. – Ezura, H.: 2011. TOMATOMA: a novel tomato mutant database distributing Micro-Tom mutant collections. *Plant Cell Physiol.* 52(2): 283-96. DOI: 10.1093/pcp/pcr004.
177. Sani, E. – Herzyk, P. – Perrella, G. – Colot, V. – Amtmann, A.: 2013. Hyperosmotic priming of arabidopsis seedlings establishes a long-term somatic memory accompanied by specific changes of the epigenome. *Genome Biol.* 14: R59. DOI:10.1186/gb-2013-14-6-r59
178. Savvides, A. – Ali, S. – Tester, M. – Fotopoulos, V.: 2016. Chemical Priming of Plants Against Multiple Abiotic Stresses: Mission Possible? *Trends Plant Sci.* 21(4): 329-340. DOI: 10.1016/j.tplants.2015.11.003
179. Saze, H.: 2008. Epigenetic memory transmission through mitosis and meiosis in plants. *Semin. Cell Dev. Biol.* 19(6): 527-536. DOI: 10.1016/j.semcdb.2008.07.017
180. Seleiman, M. F. – Al-Suhaibani, N. – Ali, N. – Akmal, M. – Alotaibi, M. – Refay, Y. – Dindaroglu, T. – Abdul-Wajid, H. H. – Battaglia, M. L.: 2021. Drought stress impacts on plants and different approaches to alleviate its adverse effects. *Plants*. 10(2): 259. DOI: 10.3390/plants10020259
181. Sharrock, J. – Sun, J. C.: 2020. Innate immunological memory: from plants to animals. *Curr. Opin. Immunol.* 62: 69-78. DOI: 10.1016/j.coi.2019.12.001

182. Silver, N. – Best, S. – Jiang, J. – Thein, S. L.: 2006. Selection of housekeeping genes for gene expression studies in human reticulocytes using real-time PCR. *BMC Mol. Biol.* 7: 33. DOI: 10.1186/1471-2199-7-33.
183. Simon, C. – Caorsi, V. – Campillo, C. – Sykes, C.: 2018. Interplay between membrane tension and the actin cytoskeleton determines shape changes. *Phys. Biol.* 15(6): 065004. DOI: 10.1088/1478-3975/aad1ab
184. Slotkin, R. K. – Martienssen, R.: 2007. Transposable elements and the epigenetic regulation of the genome. *Nat. Rev. Genet.* 8(4): 272-285. DOI:10.1038/nrg2072
185. Solé, R. – Moses, M. – Forrest, S.: 2019. Liquid brains, solid brains. *Phil. Trans. R. Soc. B.* 374(1774): 20190040. DOI:10.1098/rstb.2019.0040
186. Stark, R. – Grzelak, M. – Hadfield, J.: 2019.: RNA sequencing: the teenage years. *Nat. Rev. Genet.* 20(11): 631-656. DOI: 10.1038/s41576-019-0150-2
187. Stiller, V. – Sperry, J. S.: 2002. Cavitation fatigue and its reversal in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *J. Exp. Bot.* 53(371): 1155-1161. DOI: 10.1093/jexbot/53.371.1155
188. Teixeira da Silva, J. A. – Hidvégi, N. – Gulyás, A. – Tóth, B. – Dobránszki, J.: 2020. Transcriptomic response of in vitro potato (*Solanum Tuberosum* L.) to piezoelectric ultrasound. *Plant Mol. Biol. Rep.* 38: 404-418. DOI: 10.1007/s11105-020-01222-z
189. Teixeira da Silva, J. A. – Dobránszki, J.: 2014. Sonication and ultrasound: impact on plant growth and development. *PCTOC* 117(2): 131-143. DOI: 10.1007/s11240-014-0429-0
190. Telewski, F. W.: 2006. A unified hypothesis of mechanoperception in plants. *Am. J. Bot.* 93(10): 1466-1476. DOI: 10.3732/ajb.93.10.1466
191. The Tomato Genome Consortium: 2012. The tomato genome sequence provides insights into fleshy fruit evolution. *Nature.* 485: 635-641. DOI: 10.1038/nature11119
192. Thellier, M. – Lüttge, U.: 2012. Plant memory: a tentative model. *Plant Biol. (Stuttg).* 15(1): 1-12. DOI: 10.1111/j.1438-8677.2012.00674.x
193. Topcu, Y. – Nambeesan, S. U. – van der Knaap, E.: 2022. Blossom-end rot: a century-old problem in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) and other vegetables. *Mol. Hortic.* 2(1): 1. DOI: 10.1186/s43897-021-00022-9

194. Trewavas, A. – Baluška, F. – Mancuso, S. – Calvo, P.: 2020. Consciousness facilitates plant behavior. *Trends Plant Sci.* 25(3): 216-217. DOI: 10.1016/j.tplants.2019.12.015
195. Trewavas, A.: 2014. Instinct, reflex and conditioned behaviours: characteristics of plant behaviour? [In: Plant behaviour and intelligence] Oxford University Press. 243-254.
196. Turgut-Kara, N. – Arikan, B. – Celik, H.: 2020. Epigenetic memory and priming in plants. *Genetica*. 148(2): 47-54. DOI: 10.1007/s10709-020-00093-4
197. Upadhyay, R. K. – Handa, A. K. – Mattoo, A. K.: 2019. Transcript abundance patterns of 9- and 13-lipoxygenase subfamily gene members in response to abiotic stresses (heat, cold, drought or salt) in tomato (*Solanum Lycopersicum* L.) highlight member-specific dynamics relevant to each stress. *Genes*. 10(9): 683. DOI:10.3390/genes10090683.
198. Upton, R. N. – Correr, F. H. – Lile, J. – Reynolds, G. L. – Falaschi, K. – Cook, J. P. – Lachowicz, J.: 2023. Design, execution, and interpretation of plant RNA-seq analyses. *Front. Plant Sci.* 14: 1135455. DOI: 10.3389/fpls.2023.1135455
199. van Hulten, M. – Pelser, M. – van Loon, L. C. – Pieterse, C. M. – Ton, J.: 2006. Costs and benefits of priming for defense in Arabidopsis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 103(14): 5602-7. DOI: 10.1073/pnas.0510213103
200. Van Loon, L. C.: 2016. The intelligent behavior of plants. *Trends Plant Sci.* 21(4): 286-294. DOI: 10.1016/j.tplants.2015.11.009
201. Vandesompele, J. – De Preter, K. – Pattyn, F. – Poppe, B. – Van Roy, N. – De Paepe, A. – Speleman, F.: 2002. Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. *Genome Biol.* 3(7): research0034. DOI: 10.1186/gb-2002-3-7-research0034.
202. VanGuilder, H. D. – Vrana, K. E. – Freeman, W.M.: 2008. Twenty-five years of quantitative PCR for gene expression analysis. *Biotechniques*. 44(5): 619-26. DOI: 10.2144/000112776.
203. Vázquez-Hernández, M. C. – Parola-Contreras, I. – Montoya-Gómez, L. M. – Torres-Pacheco, I. – Schwarz, D. – Guevara-González, R. G.: 2019. Eustressors: Chemical and physical stress factors used to enhance vegetables production. *Sci. Hortic.* 250: 223-229. DOI: 10.1016/j.scienta.2019.02.053

204. Vesper, M. J. – Evans, M. L.: 1978. Time-dependent changes in the auxin sensitivity of coleoptile segments: apparent sensory adaptation. *Plant Physiol.* 61(2): 204-208. DOI: 10.1104/pp.61.2.204
205. Virilouvet, L. – Fromm, M.: 2015. Physiological and transcriptional memory in guard cells during repetitive dehydration stress. *New Phytol.* 205(2): 596-607. DOI: 10.1111/nph.13080.
206. Walter, J. – Jentsch, A. – Beierkuhnlein, C. – Kreyling, J.: 2013. Ecological stress memory and cross stress tolerance in plants in the face of climate extremes. *Environ. Exp. Bot.* 94: 3-8. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2012.02.009
207. Walters, D. – Heil, M.: 2007. Costs and trade-offs associated with induced resistance. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 71(1-3): 3-17. DOI: 10.1016/j.pmpp.2007.09.008
208. Wang, X. – Li, Q. – Xie, J. – Huang, M. – Cai, J. – Zhou, Q. – Dai, T. – Jiang, D.: 2021. Absciscic acid and jasmonic acid are involved in drought priming-induced tolerance to drought in wheat. *Crop J.* 9(1): 120-132. DOI: 10.1016/j.cj.2020.06.002
209. Wang, Z. – Gerstein, M. – Snyder, M.: 2009. RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics. *Nat. Rev. Genet.* 10(1): 57-63. DOI: 10.1038/nrg2484.
210. Wassenegger, M. – Heimes, S. – Riedel, L. – Sanger, H. L.: 1994. RNA-directed de novo methylation of genomic sequences in plants. *Cell.* 76(3): 567-576. DOI: 10.1016/0092-8674(94)90119-8
211. Wheeler, T. – von Braun, J.: 2013. Climate change impacts on global food security. *Science.* 341(6145): 508-13. DOI: 10.1126/science.1239402.
212. Wibowo, A. – Becker, C. – Marconi, G. – Durr, J. – Price, J. – Hagmann, J. – Papareddy, R. – Putra, H. – Kageyama, J. – Becker, J.: 2016. Weigel D, Gutierrez-Marcos J.: 2016. Hyperosmotic stress memory in Arabidopsis is mediated by distinct epigenetically labile sites in the genome and is restricted in the male germline by DNA glycosylase activity. *Elife.* 7: e44302 DOI: 10.7554/eLife.13546
213. Wickham, H.: 2016. ggplot2. [In: Elegant graphics for data analysis.] New York: Springer-Verlag
214. Xie, F. – Xiao, P. – Chen, D. – Xu, L. – Zhang, B.: 2012. Mirdeepfinder: a miRNA analysis tool for deep sequencing of plant small RNAs. *Plant Mol. Biol.* 80(1): 75-84. DOI: 10.1007/s11103-012-9885-2.

215. Xie, G. – Xu, R. – Chong, L. – Zhu, Y.: 2023. Understanding drought stress response mechanisms in tomato. *Veg. Res.* 4: e001. DOI: 10.48130/vegres-0023-0033
216. Xu, M. – Li, R. – Liu, W.: 2025. Deciphering the molecular mechanisms underlying abscisic acid-alleviated growth inhibition caused by perfluorooctane sulfonic acid in tomato plants. *J. Hazard. Mater.* 495: 139109. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2025.139109
217. Yakupoğlu, G.: 2023. Effects of magnetic field and ultrasound applications on endogenous melatonin content and drought stress tolerance of pepper seedlings. *Horticulturae*, 9(6): 704. DOI: 10.3390/horticulturae9060704
218. Yang, Z. – Zhi, P. – Chang, C.: 2022. Priming seeds for the future: plant immune memory and application in crop protection. *Front. Plant Sci.* 13: 961840. DOI: 10.3389/fpls.2022.961840
219. Yoneda, A. – Ohtani, M. – Katagiri, D. – Hosokawa, Y. – Demura, T.: 2020. Hechtian strands transmit cell wall integrity signals in plant cells. *Plants*. 9(5): 604. DOI: 10.3390/plants9050604
220. Yu, G. – Wang, L.-G. – Han, Y. – He, Q.-Y.: 2012. Clusterprofiler: an R package for comparing biological themes among gene clusters. *OMICS: J. Integr. Biol.* 16(5): 284-287. DOI: 0.1089/omi.2011.0118
221. Yu, T. – Ma, X. – Zhang, J. – Cao, S. – Li, W. – Yang, G. – He, C.: 2025. Progress in transcriptomics and metabolomics in plant responses to abiotic stresses. *Curr. Issues Mol. Biol.* 47(6): 421. DOI: 10.3390/cimb47060421
222. Zandalinas, S. I. – Balfagón, D. – Gómez-Cadenas, A. – Mittler, R.: 2022. Plant responses to climate change: metabolic changes under combined abiotic stresses. *J. Exp. Bot.* 73(11): 3339-3354. DOI: 10.1093/jxb/erac073
223. Zandalinas, S. I. – Mittler, R.: 2022. Plant responses to multifactorial stress combination. *New Phytol.* 234(4): 1161-1167. DOI: 10.1111/nph.18087
224. Zhang, C. – Kong, Y. – Xiang, Q. – Ma, Y. – Guo, Q.: 2023. Bacterial memory in antibiotic resistance evolution and nanotechnology in evolutionary biology. *Iscience.* 26(8): 107433. DOI: 10.1016/j.isci.2023.107433
225. Zhang, H. – Lang, Z. – Zhu, J. K.: 2018. Dynamics and function of DNA methylation in plants. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 19(8): 489-506. DOI: 10.1038/s41580-018-0016-z

226. Zhang, P. – Yang, H. – Liu, F – Li, X.: 2023. Stress memories for better tolerance in plants-a potential strategy for crop breeding. *Agronomy*. 13: 2105. DOI: 10.3390/agronomy13082105
227. Zhang, Y. – Xu, J. – Li, R. – Ge, Y. – Li, Y. – Li, R.: 2023. Plants' response to abiotic stress: mechanisms and strategies. *Int. J. Mol. Sci.* 24(13): 10915. DOI: 10.3390/ijms241310915
228. Zhou, J. – Chen, S. – Shi, W. – David-Schwartz, R. – Li, S. – Yang, F. – Lin, Z.: 2021. Transcriptome profiling reveals the effects of drought tolerance in Giant Juncao. *BMC Plant Biol.* 21(1): 2. DOI:10.1186/s12870-020-02785-7
229. Zhou, R. – Kong, L. – Wu, Z. – Rosenqvist, E. – Wang, Y. – Zhao, L. – Zhao, T. – Ottosen, C.-O.: 2019. Physiological response of tomatoes at drought, heat and their combination followed by recovery. *Physiol. Plantarum*. 165: 144-154. DOI: 10.1111/ppl.12764
230. Zhu, J. K.: 2016. Abiotic stress signaling and responses in plants. *Cell*. 167(2): 313-324. DOI: 10.1016/j.cell.2016.08.029



Nyilvántartási szám: DEENK/596/2026.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Farkas Dóra
Doktori Iskola: Kerpely Kálmán Doktori Iskola
MTMT azonosító: 10086787

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

Idegén nyelvű tudományos közlemények külföldi folyóiratban (5)

1. **Farkas, D.**, Dobránszki, J.: Quantifying Intergenerational Plasticity in Tomato: Temporal Divergence as a Cost-Effective Survival Strategy Against Drought Following Parental Ultrasound Priming.
Horticulturae. 12 (4), 1-17, 2026. EISSN: 2311-7524.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/horticulturae12040422>
IF: 3.4 (2025)
2. Dobránszki, J., Vassileva, V., Agius, D. R., Moschou, P. N., Gallusci, P., Berger, M. M. J., **Farkas, D.**, Basso, M. F., Martinelli, F.: Gaining insights into epigenetic memories through artificial intelligence and omics science in plants.
J. Integr. Plant Biol. 67 (9), 2320-2349, 2025. ISSN: 1672-9072.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/jipb.13953>
IF: 12.5
3. **Farkas, D.**, Király, A., Ambrus, V. A., Tóth, B., Dobránszki, J.: Short-term transcriptional memory and association-forming ability of tomato plants in response to ultrasound and drought stress stimuli.
Plant Signal Behav. 20 (1), 1-22, 2025. ISSN: 1559-2316.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/15592324.2025.2556982>
IF: 4.1
4. Király, A., **Farkas, D.**, Dobránszki, J.: Ultrasound in plant life and its application perspectives in horticulture and agriculture.
Horticulturae. 11 (3), 1-28, 2025. EISSN: 2311-7524.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/horticulturae11030318>
IF: 3.4
5. **Farkas, D.**, Dobránszki, J.: Vegetal memory through the lens of transcriptomic changes: recent progress and future practical prospects for exploiting plant transcriptional memory.
Plant Signal Behav. 19 (1), 1-16, 2024. ISSN: 1559-2316.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/15592324.2024.2383515>
IF: 3.6





Idegen nyelvű konferencia közlemények (1)

6. **Farkas, D.**, Dobránszki, J.: Parental effects on progeny: intergenerational phenotypic plasticity in potato plants.
Journal of Horticulture, Forestry and Biotechnology. 30 (1), 1-7, 2026. ISSN: 2066-1797.

Magyar nyelvű absztrakt kiadványok (1)

7. **Farkas, D.**, Dobránszki, J.: Intelligens növények - Mítosz vagy tény?
In: XX. Tiszántúli Agrártudományi Napok : Absztraktkötet. Szerk.: Veres Szilvia, Stündl László, Debreceni Egyetem Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar, Debrecen, 29, 2024. ISBN: 9789634906568

Idegen nyelvű absztrakt kiadványok (2)

8. Dobránszki, J., Király, A., **Farkas, D.**: Epigenetic changes induced by in vitro plant culture and their role in cultivation and adaptation.
In: Libro Resumen XVI Convención Científica Internacional UNICA 2024. Szerk.: C. Anisia Ruiz Gutiérrez, Editorial Universitaria Ciego de Ávila, Ciego de Ávila, Kuba, 73-73, 2024. ISBN: 9789598501649
9. **Farkas, D.**, Dobránszki, J.: Molecular background of plant memory.
In: Biotechnology at the University of Debrecen-2022 : International Symposium : Abstract book, Faculty of Science and Technology, Department of Molecular Biotechnology and Microbiology, Institute of Biotechnology and Faculty of Agricultural and Food Sciences and Environmental Management, Central Laboratory of Agricultural and Food Products, Debrecen, 55, 2022. ISBN: 9789634904687

További közlemények

Idegen nyelvű tudományos közlemények külföldi folyóiratban (8)

10. Ambrus, V. A., **Farkas, D.**, Király, A., Tóth, B., Abdalla, N., Dobránszki, J.: Comparative Transcriptomic Analysis of Two Apple Cultivars in Response to Dual Cytokinin Applied In Vitro.
Plants-Basel. 15 (7), 1-24, 2026. ISSN: 2223-7747.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/plants15071001>
IF: 4.7 (2025)
11. Király, A., Ambrus, V. A., **Farkas, D.**, Abdalla, N., Dobránszki, J.: Differential Alteration of Gene Expression by Benzyl Adenine and meta-Topolin in In Vitro Apple Shoots.
Plants-Basel. 14 (23), 1-25, 2025. ISSN: 2223-7747.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/plants14233691>
IF: 4.7





12. Kun-Nemes, A., **Farkas, D.**, Szilágyi-Tolnai, E., Fazekas, M., Paholcsek, M., Stündl, L., Bíróné Molnár, P., Cziáky, Z., Dobránszki, J., Gálné Remenyik, J.: Effect of Exogenous Melatonin Supply on Potato Plants Grown In Vitro.
Antioxidants. 14 (8), 1-29, 2025. EISSN: 2076-3921.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/antiox14080917>
IF: 8.2
13. Szarvas, P., **Farkas, D.**, Csabai, J., Kolesnyk, A., Dobránszki, J.: In vitro micropropagation of *Dianthus plumarius* subsp. *praecox*, a wild carnation species, for ornamental horticultural and gene conservation purposes.
Sci. Hortic. 339, 1-7, 2025. ISSN: 0304-4238.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2024.113886>
IF: 4.6
14. **Farkas, D.**, Csabai, J., Kolesnyk, A., Szarvas, P., Dobránszki, J.: In vitro micropropagation protocols for two endangered *Dianthus* species - via in vitro culture for conservation and recultivation purposes.
Plant Methods. 21 (1), 1-11, 2025. EISSN: 1746-4811.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/s13007-025-01335-2>
IF: 5.2
15. Dobránszki, J., **Farkas, D.**, Gulyás, A., Bagyánszky, G., Szép, K., Hidvégi, N.: Transcriptomic effects of irrigation with magnetized water on tomato (*Solanum lycopersicum* L.) during plant development.
Heliyon. 11 (15), 1-12, 2025. EISSN: 2405-8440.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.heliyon.2025.e44007>
16. **Farkas, D.**, Ambrus, V. A., Király, A., Abdalla, N., Dobránszki, J.: Transcriptomic response of apple (*Malus x domestica* Borkh. cv. Húsvéti rozmaring) shoot explants to in vitro cultivation on media containing thidiazuron or 6-benzylaminopurine riboside.
Plant Cell Tissue Organ Cult. 161 (2), 1-15, 2025. ISSN: 0167-6857.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11240-025-03062-x>
IF: 2.8
17. Cseh, Z., Dobránszki, J., Novák-Hermann, I., Szarvas, P., **Farkas, D.**, Csabai, J., Kolesnyk, A.: Osoblivosti vvedennja v kulturu in vitro ridkisnih taksoniv gvozdik Ugorshhini = The peculiarities of in vitro introduction of rare carnation taxa from Hungary.
Sci. Bull. Uzhhorod Univ. (Ser. Biol.). 54, 128-134, 2023. ISSN: 2075-0846.
DOI: <http://dx.doi.org/10.32782/1998-6475.2023.54.128-134>





Idegen nyelvű konferencia közlemények (1)

18. Cseh, Z., Dobránszki, J., Novák-Hermann, I., Szarvas, P., **Farkas, D.**, Kolesznyi, A., Csabai, J.:
Effect of various sterilization procedures on the invitro germination of carnation species
protected in Hungary.
In: Fenntartható Tápanyag-gazdálkodási Tudományos Műhely Konferenciája 2024 Innovatív
megoldások a XXI. század mezőgazdaságában. Szerk.: Oláh Katalin, Kosztyuné Krajnyák
Edit, Szabó Béla, Bara Eszter, Nyíregyházi Egyetem Műszaki és Agrártudományi Intézet,
Nyíregyháza, 180-186, 2024. ISBN: 9786156032720

Magyar nyelvű absztrakt kiadványok (2)

19. **Farkas, D.**, Dobránszki, J.: Direct-ZOL TM-96 MagBead RNA Kit optimalizációja növényi mintára.
In: I. Magyar Agrártudományi Doktoranduszok Szimpóziuma. Szerk.: Hajdú Péter,
Doktoranduszok Országos Szövetsége, Debrecen, 86, 2023. ISBN: 9786156457189
20. Tálás, L., Kiss, A., **Farkas, D.**, Deák, A. G., Szemán-Nagy, G.: Az Aspergillus Fumigatus
tapadási és növekedési dinamikájának hosszútávú videomikroszkópos vizsgálata.
In: Tavaszí Szél Konferencia 2019 : Nemzetközi Multidiszciplináris Konferencia :
Absztraktkötet. Szerk.: Németh Katalin, Doktoranduszok Országos Szövetsége, Debrecen,
197, 2019. ISBN: 9786155586422

Idegen nyelvű absztrakt kiadványok (1)

21. **Farkas, D.**, Szarvas, P., Csabai, J., Dobránszki, J.: In vitro micropropagation as an ex situ
conservation strategy for a threatened carnation species.
In: Libro Resumen XVI Convención Científica Internacional UNICA 2024. Szerk.: C. Anisia
Ruiz Gutiérrez, Editorial Universitaria Ciego de Ávila, Ciego de Ávila, Kuba, 73-74, 2024.

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 57,2

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

27

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, 2026.09.16.



KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS

Ezúton szeretném kifejezni köszönetemet mindazoknak, akik szakmai támogatásukkal, tanácsaikkal és bizalmukkal hozzájárultak doktori értekezésem elkészüléséhez.

Elsőként hálás köszönetemet fejezem ki témavezetőmnek, Prof. Dr. Dobránszki Juditnak, akinek szakmai irányítása, folyamatos támogatása és a kutatás során tanúsított türelme nélkül ez a munka nem jöhetett volna létre. Köszönöm a szabadságot, amelyet a kísérleti munka során kaptam, és azokat az építő jellegű kritikákat, amelyek segítettek tudományos szemléletmódom formálásában.

Külön köszönettel tartozom az Agrár Genomikai és Biotechnológiai Központ munkatársainak a barátságos munkakörnyezetért és a technikai segítségért. Hálásan köszönöm Ambrus Viktornak a bioinformatikai elemzések során nyújtott szakmai támogatását és precíz munkáját, amely alapvető fontosságú volt a nagy mennyiségű szekvenálási adat értelmezésében. Különösen köszönöm Dr. Gonda-Király Anita, Halász-Molnár Orsolya és Dr. Véghné Tóth Bianka kollegáimnak és barátaimnak a molekuláris biológiai mérések és elemzések során nyújtott pótolhatatlan segítségét.

Végezetül szeretném megköszönni családomnak és barátaimnak a végtelen türelmet és lelki támogatást. Külön hálával és szeretettel tartozom férjemnek, Dobránszki Dénesnek, akinek önzetlen támogatása, megértése és biztatása nélkül nem tudtam volna végigjárni ezt az utat. Köszönöm, hogy a legnehezebb időszakokban is mellettem állt, hitt bennem, és biztos hátteret nyújtott ahhoz, hogy minden figyelmemet a tudományos munkának szentelhessem.

A munkát a következő projektek támogatták:

A TKP2021-EGA-20 számú projekt a Kulturális és Innovációs Minisztérium támogatásával valósult meg a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapból, a TKP2021-EGA pályázati program finanszírozásában.

NYILATKOZATOK

NYILATKOZAT

Ezen értekezést a Debreceni Egyetem Kerpely Kálmán Doktori Iskola keretében készítettem, a Debreceni Egyetem doktori (Ph.D.) fokozatának elnyerése céljából.

Debrecen, 2026.09.21.

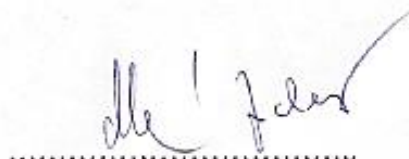


Farkas Dóra
a jelölt aláírása

NYILATKOZAT

Tanúsítom, hogy *Farkas Dóra* doktorjelölt 2022-2026 között a fent megnevezett Doktori Iskola keretében irányításommal végezte munkáját. Az értekezésben foglalt eredményekhez a jelölt önálló alkotó tevékenységével meghatározóan hozzájárult, az értekezés a jelölt önálló munkája. Az értekezés elfogadását javaslom.

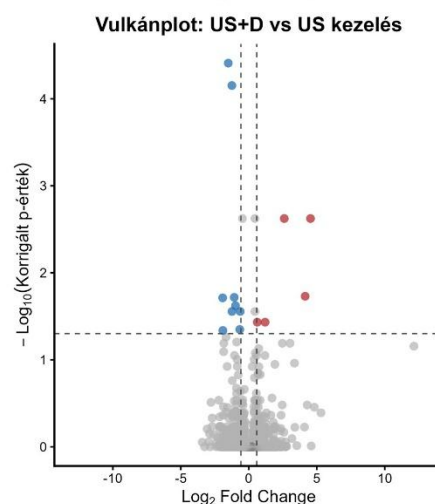
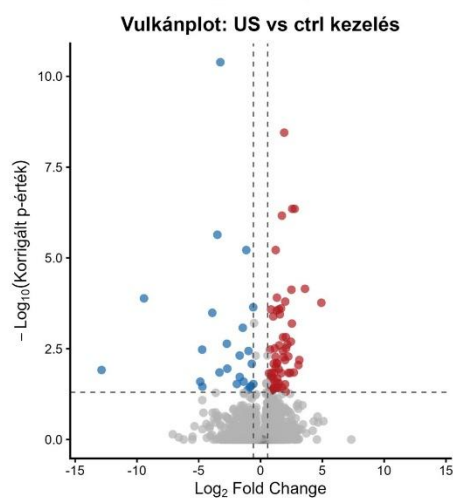
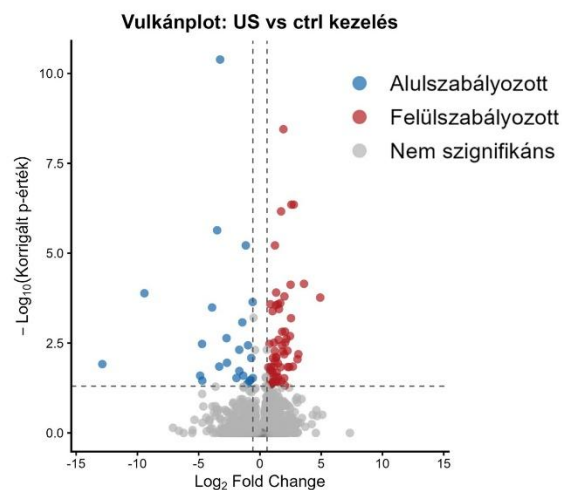
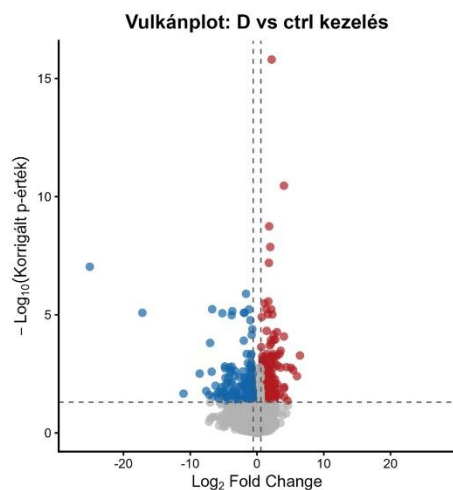
Debrecen, 2026.09.21.



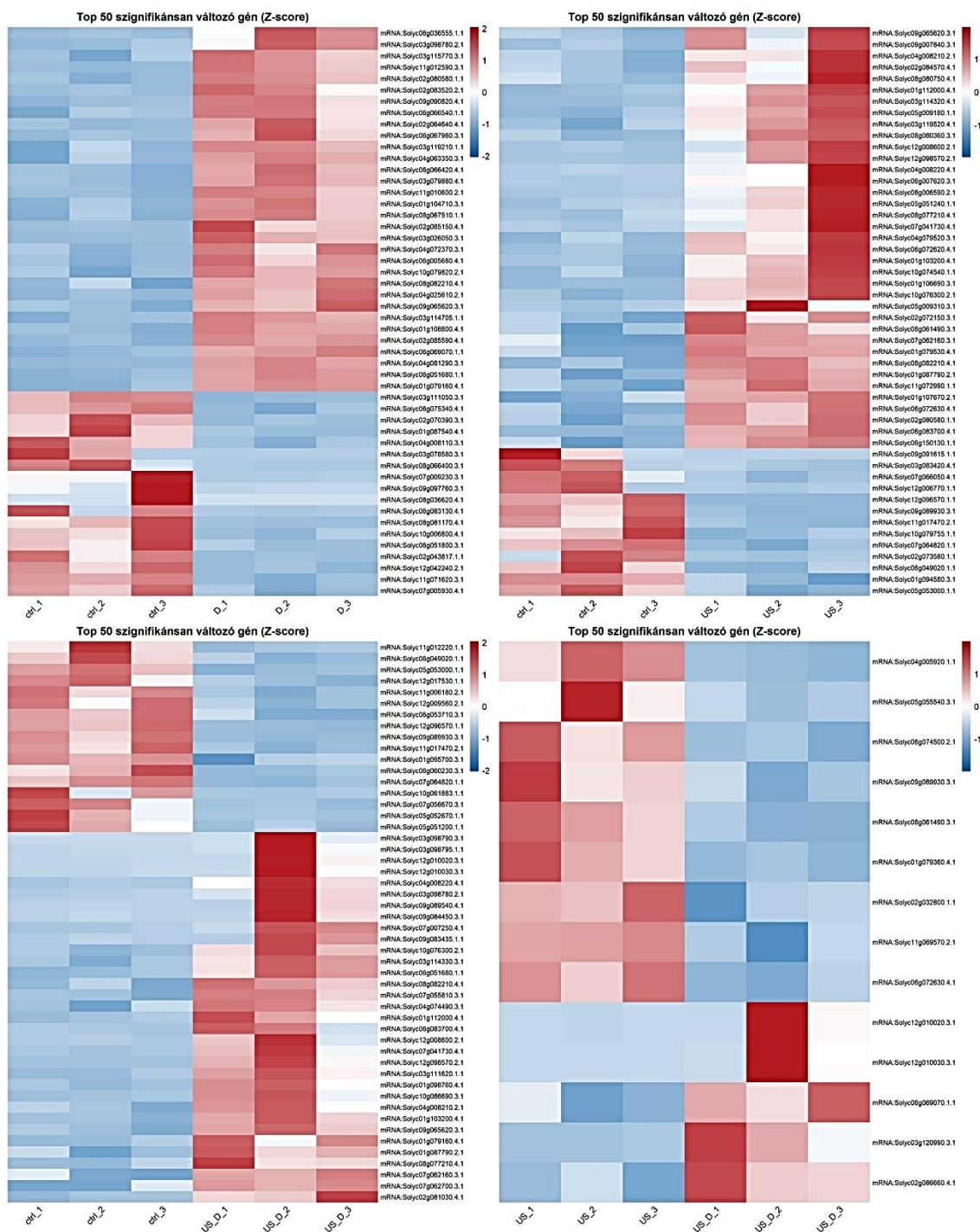
Prof. Dr. Dobránszki Judit
Tudományos tanácsadó
MTA doktora
a témavezető aláírása

MELLÉKLETEK

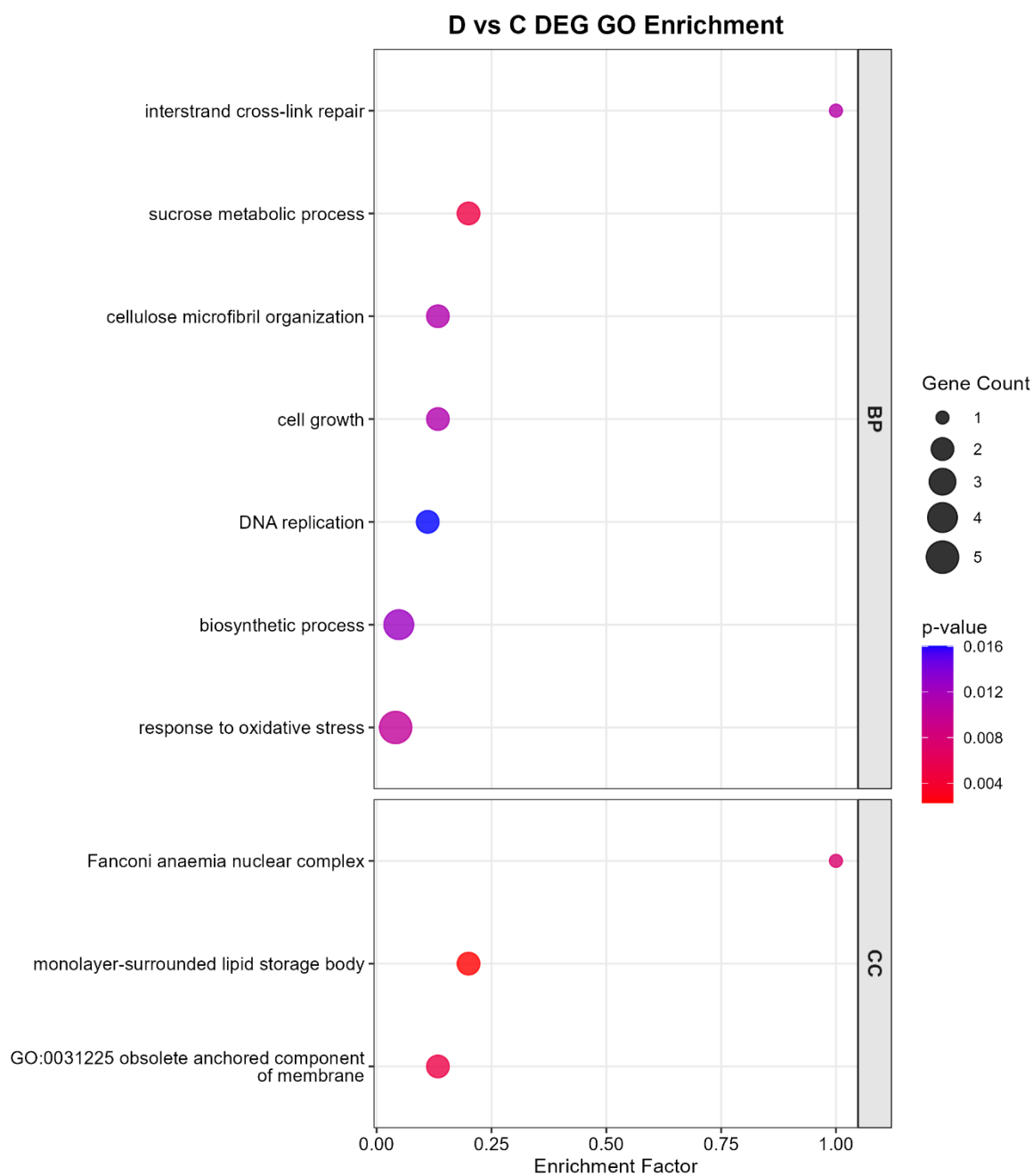
1. melléklet: Differenciális génexpressziós profilokat szemléltető vulkánplotok az RNA-seq adatok alapján. Az ábrák a különböző kezelési kombinációk (szárazság - D, ultrahang - US, és kombinált - US+D) kontrollcsoporthoz (ctrl), illetve egymáshoz viszonyított hatását mutatják. A függőleges tengely a statisztikai szignifikancia mértékét $-\log_{10}$ korrigált p-érték), a vízszintes tengely a génkifejeződés változásának mértékét $\log_2$ Fold Change) ábrázolja. A piros pontok a felülszabályozott, a kék pontok az alulszabályozott, a szürke pontok pedig a nem szignifikáns változást mutató géneket jelölik.



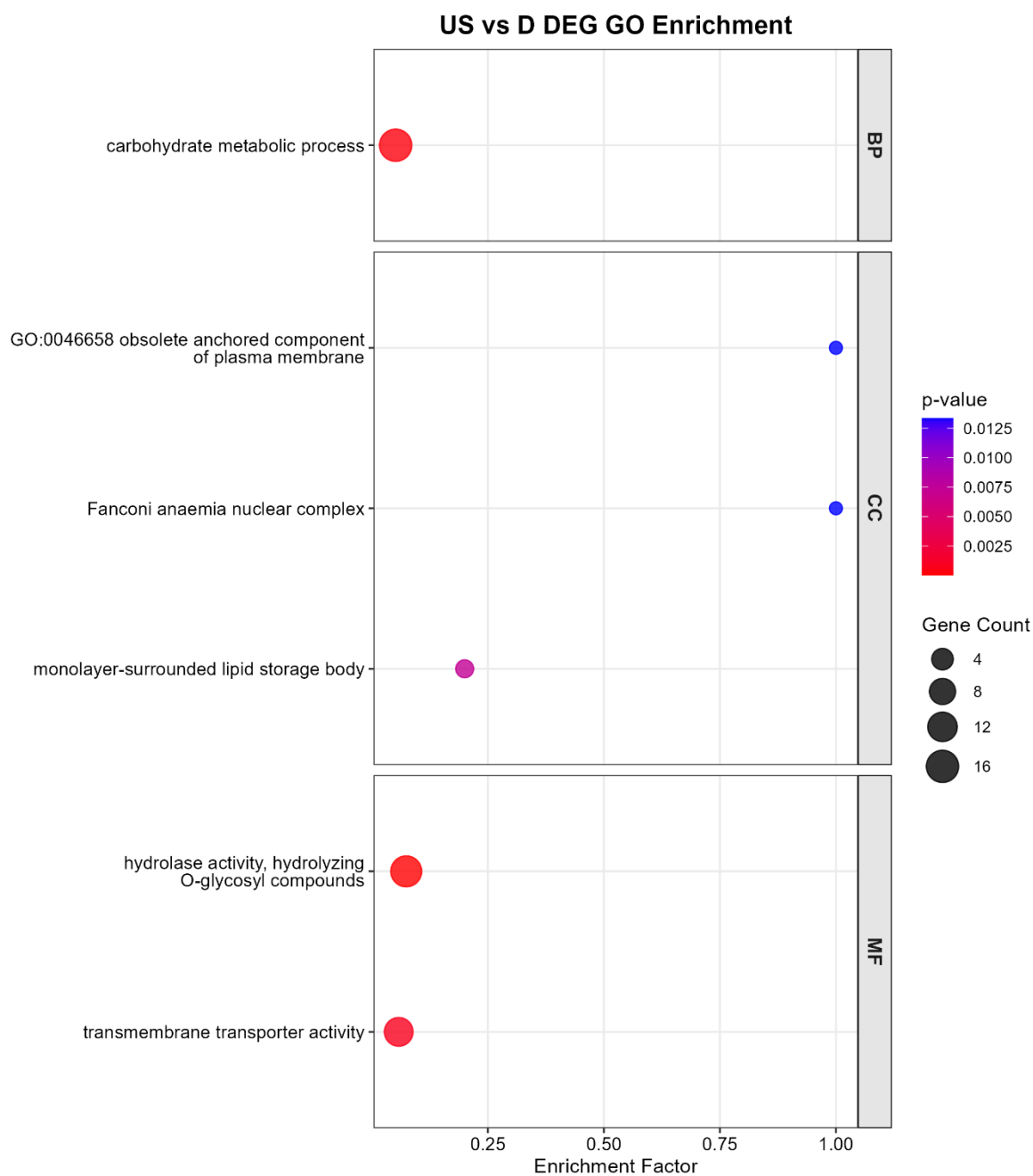
2. melléklet: A legjelentősebben változó (Top 50 szignifikáns) gének expressziós hőtérképei a különböző kezelések (D, US, US+D) hatására. A vörös szín a felül-, a kék az alulszabályozott géneket jelöli (Z-score). Az oszlopok a biológiai ismétléseket, a sorok az egyes génazonosítókat reprezentálják.



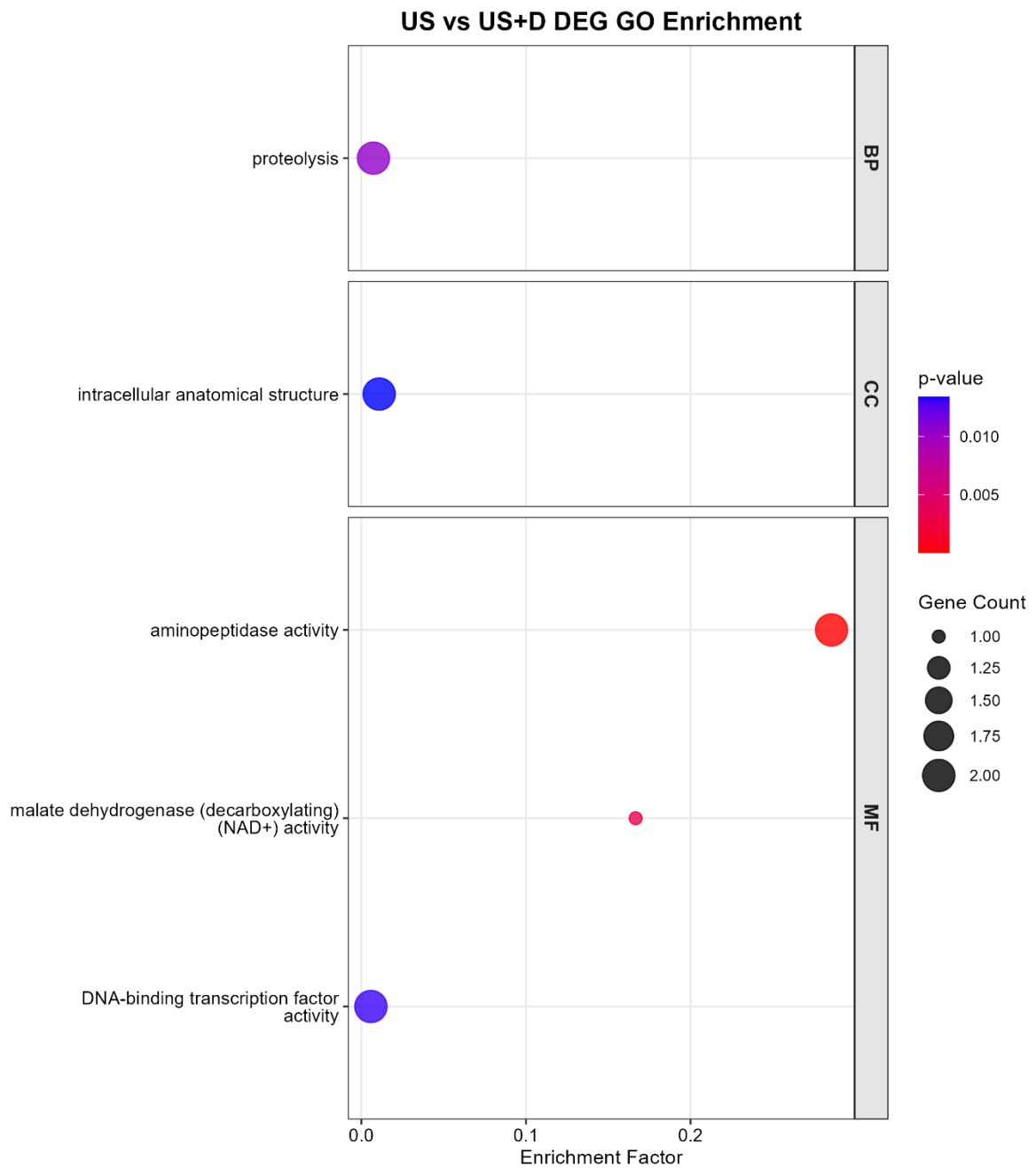
3. melléklet: GO (Gene Ontology) dúsulási analízis (Enrichment) a szárazságstressz (D) hatására differenciálisan kifejeződő gének (DEG) körében. A pontok mérete az érintett gének számát (Gene Count), színük a statisztikai szignifikanciát (p-value) jelzi. A diagram a biológiai folyamatok (BP) és a sejtalkotók (CC) kategóriáiban mutatja a legjelentősebben érintett útvonalakat (pl. szacharóz-anyagcsere, oxidatív stresszválasz)



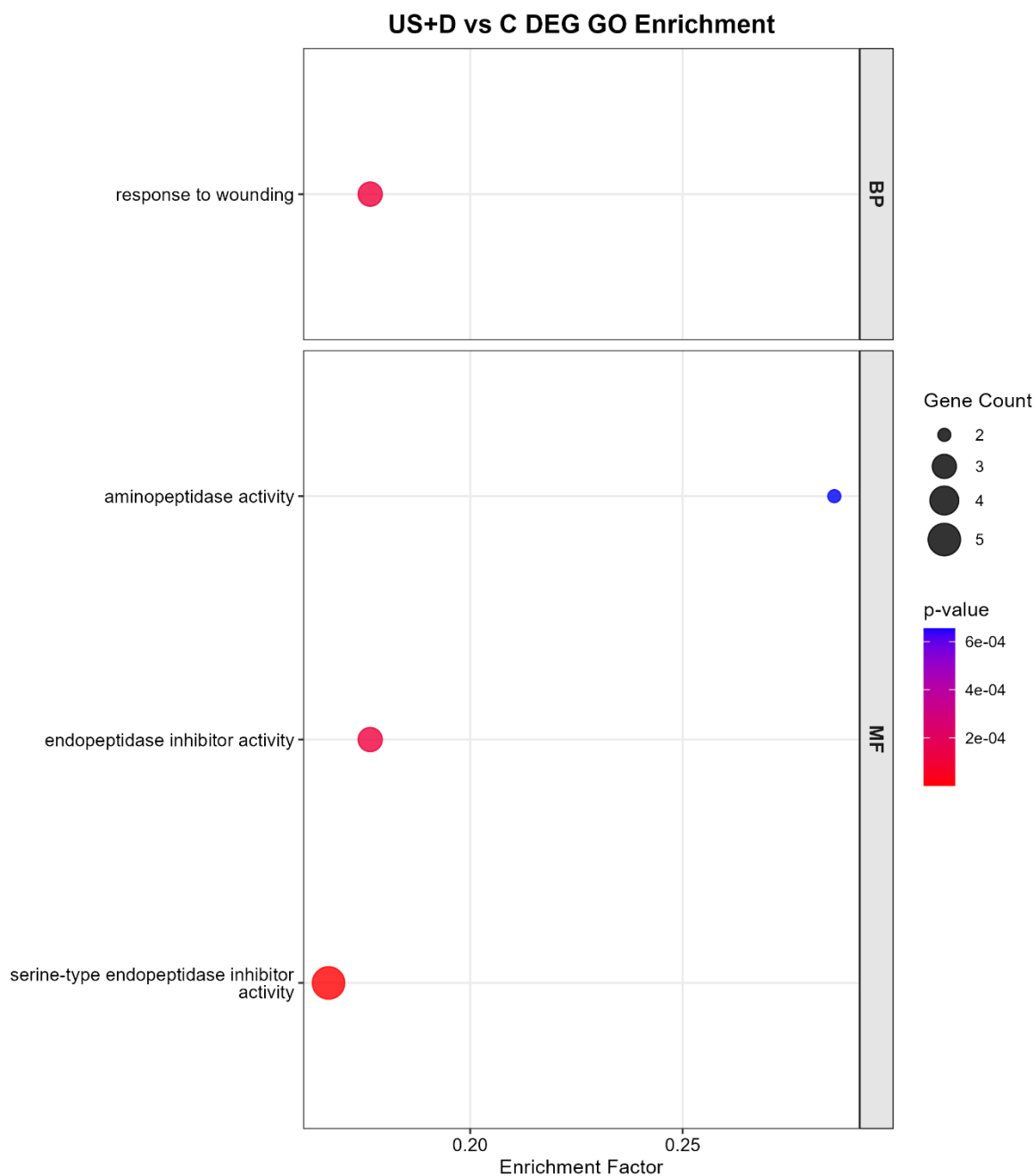
4. melléklet: GO (Gene Ontology) dúsulási analízis az ultrahang (US) és a szárazságstressz (D) hatására differenciálisan kifejeződő gének (DEG) összehasonlításában. A diagram a biológiai folyamatok (BP), a sejtalkotók (CC) és a molekuláris funkciók (MF) kategóriáiban mutatja a legjelentősebben érintett útvonalakat. A pontok mérete az érintett gének számát (Gene Count), színük a statisztikai szignifikanciát (p-value) tükrözi.



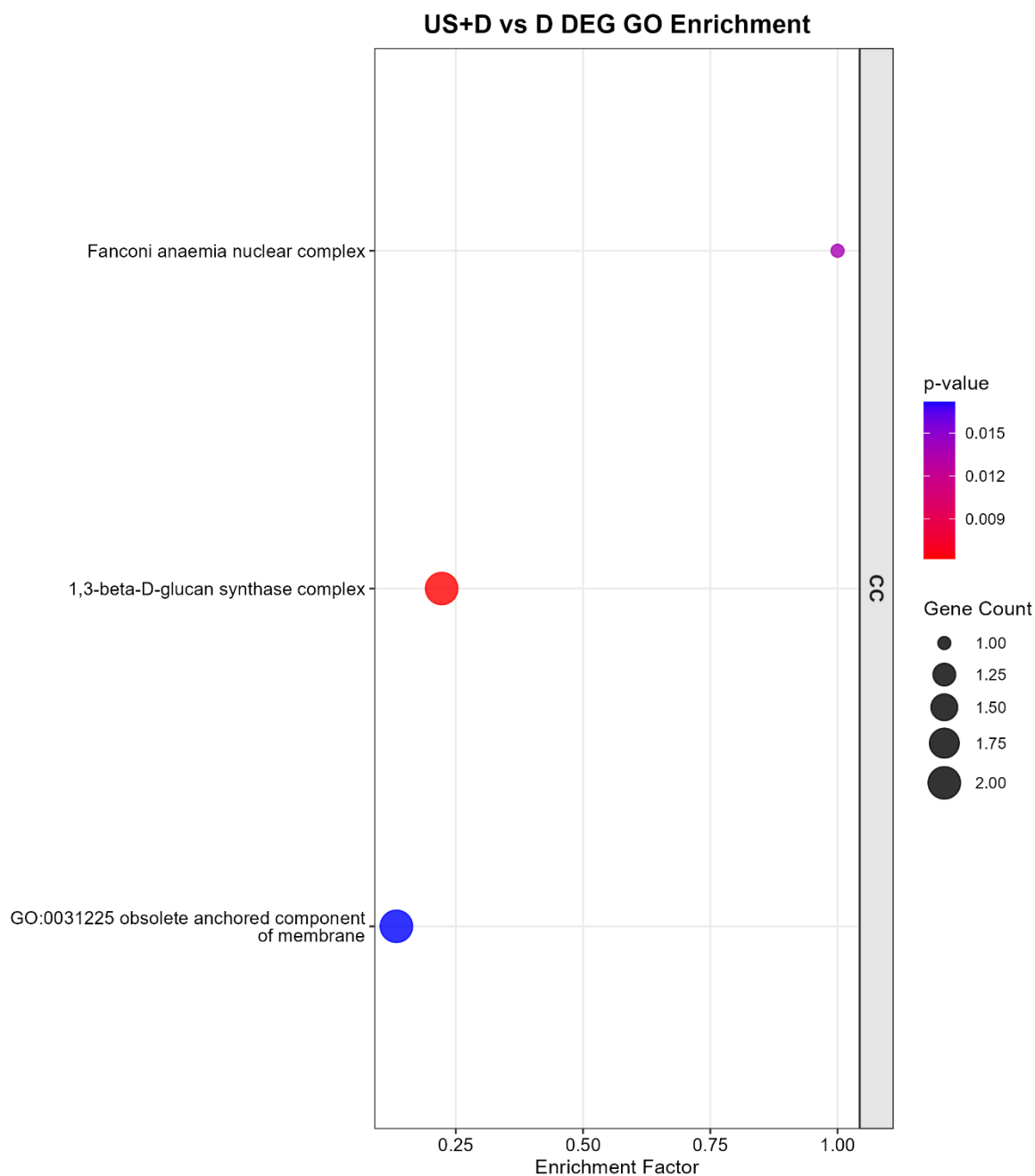
5. melléklet: GO (Gene Ontology) dúsulási analízis az ultrahang (US) és a kombinált kezelés (US+D) hatására differenciálisan kifejeződő gének (DEG) körében. A diagram a biológiai folyamatok (BP), a sejtalkotók (CC) és a molekuláris funkciók (MF) kategóriáiban mutatja a leginkább érintett útvonalakat.



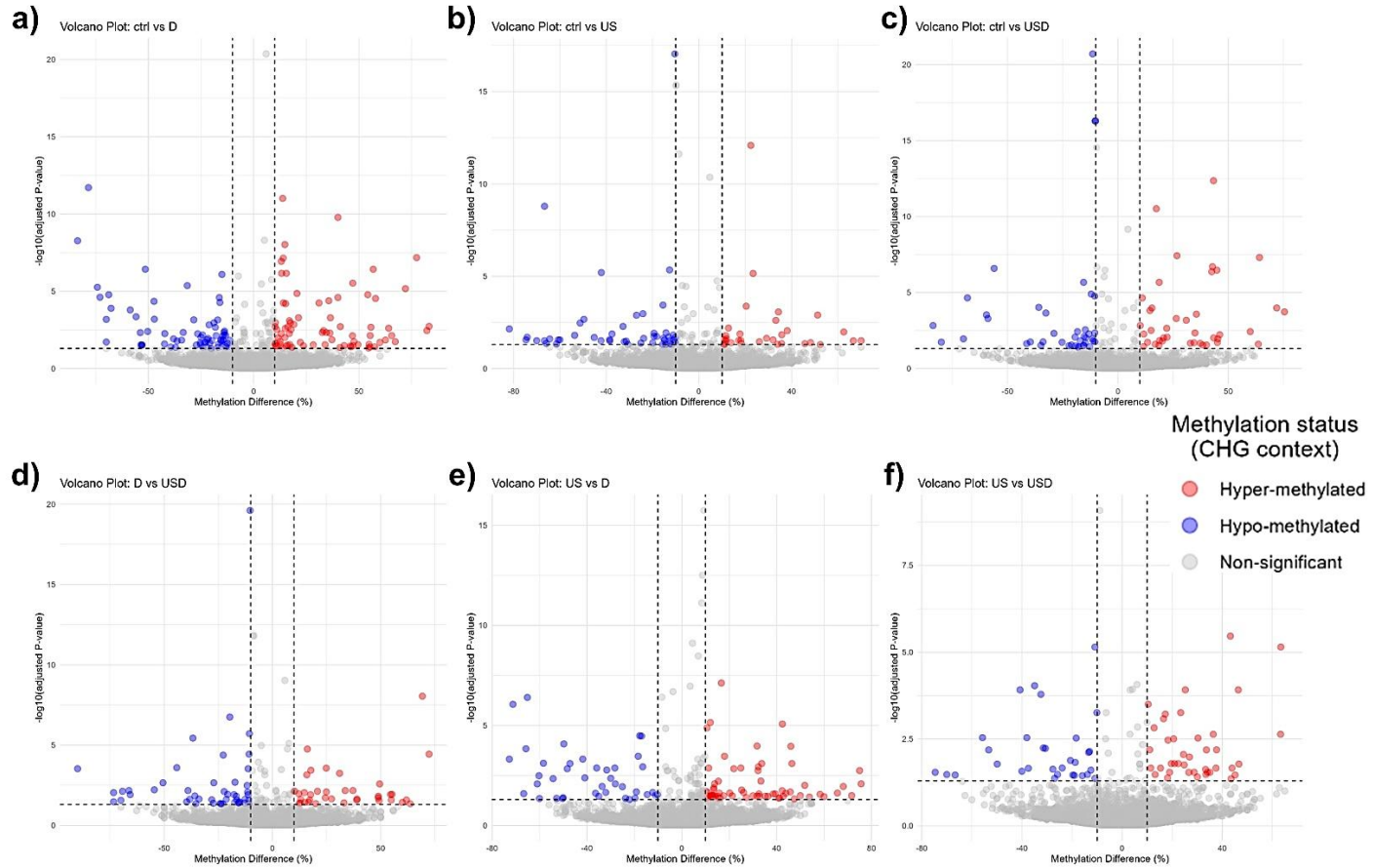
6. melléklet: GO (Gene Ontology) dúsulási analízis a kombinált kezelés (US+D) és a kontrollcsoport (C) összehasonlításában azonosított differenciálisan kifejeződő gének (DEG) körében. Az ábra a biológiai folyamatok (BP) és a molekuláris funkciók (MF) kategóriáit szemlélteti.



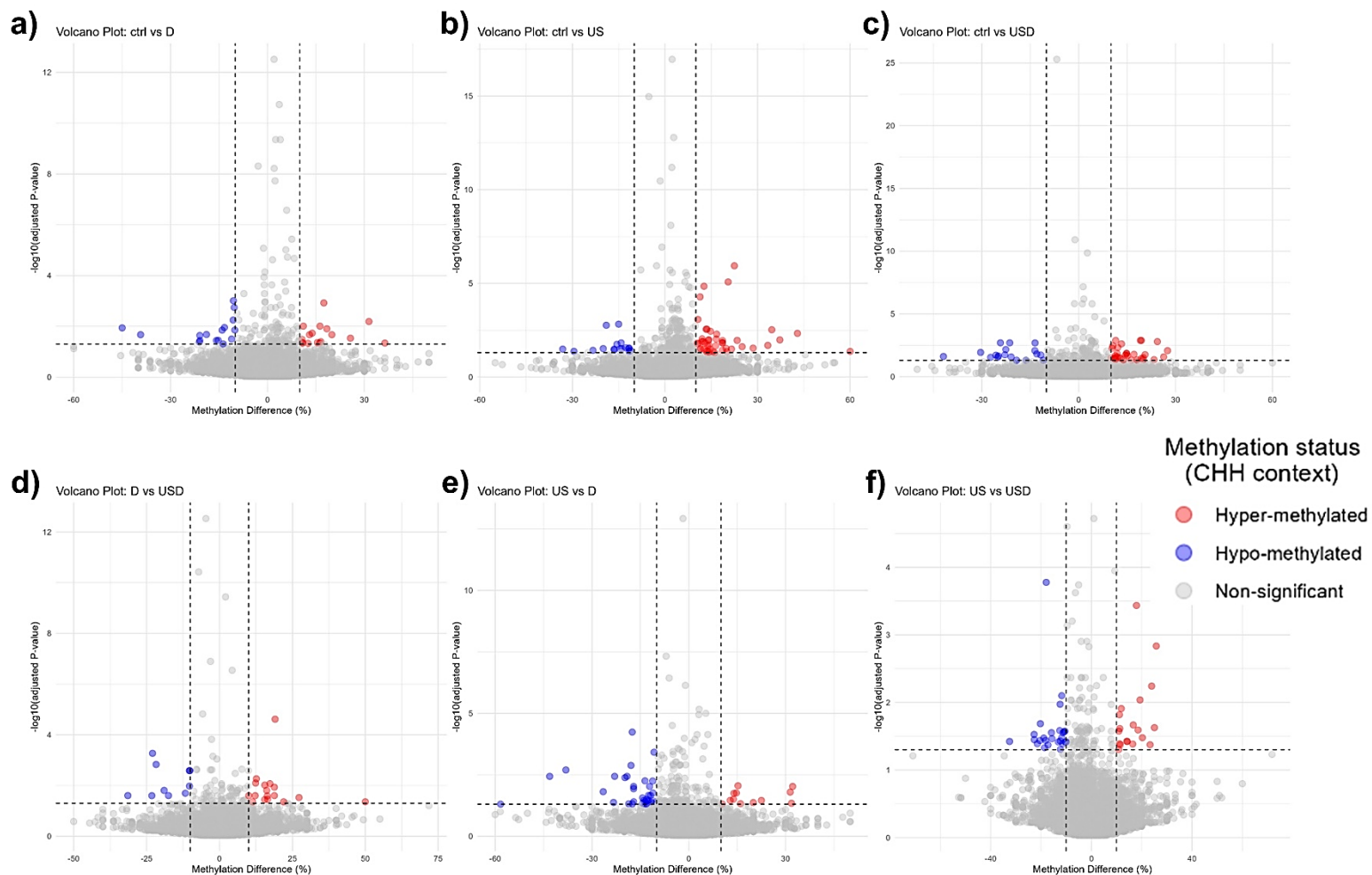
7. melléklet: GO (Gene Ontology) dúsulási analízis a kombinált kezelés (US+D) és az önálló szárazságstressz (D) hatására differenciálisan kifejeződő gének (DEG) összehasonlításában. A diagram a sejtalkotók (CC) kategóriájában mutatja a legjelentősebben érintett útvonalakat.



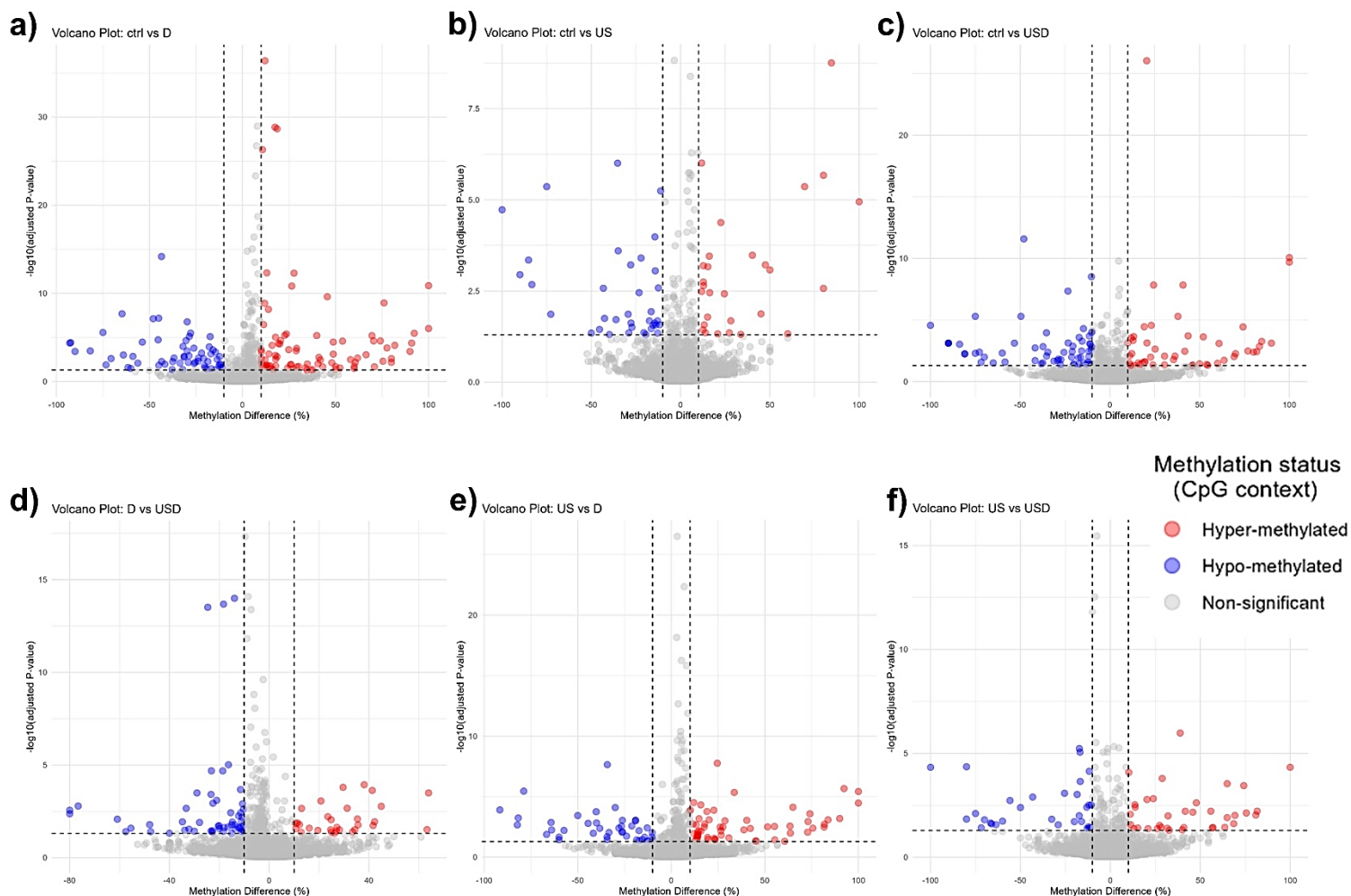
8. melléklet: DMR-ek eloszlása CHG környezetben. A vulkánplotok a DNS-metilációs különbségeket (vízszintes tengely) és a statisztikai szignifikanciát (függőleges tengely) ábrázolják. A piros pontok a szignifikáns hipermetilációt, a kék a hipometilációt, a szürkék pedig a nem szignifikáns változást jelölik ($P < 0,05$). A szaggatott vonalak a relevanciaküszöböt mutatják.



9. melléklet: DMR-ek eloszlása CHH környezetben. A vulkánplotok a DNS-metilációs különbségeket (vízszintes tengely) és a statisztikai szignifikanciát (függőleges tengely) ábrázolják. A piros pontok a szignifikáns hipermetilációt, a kékek a hipometilációt, a szürkék pedig a nem szignifikáns változást jelölik ($P < 0,05$). A szaggatott vonalak a relevanciaküszöböt mutatják.



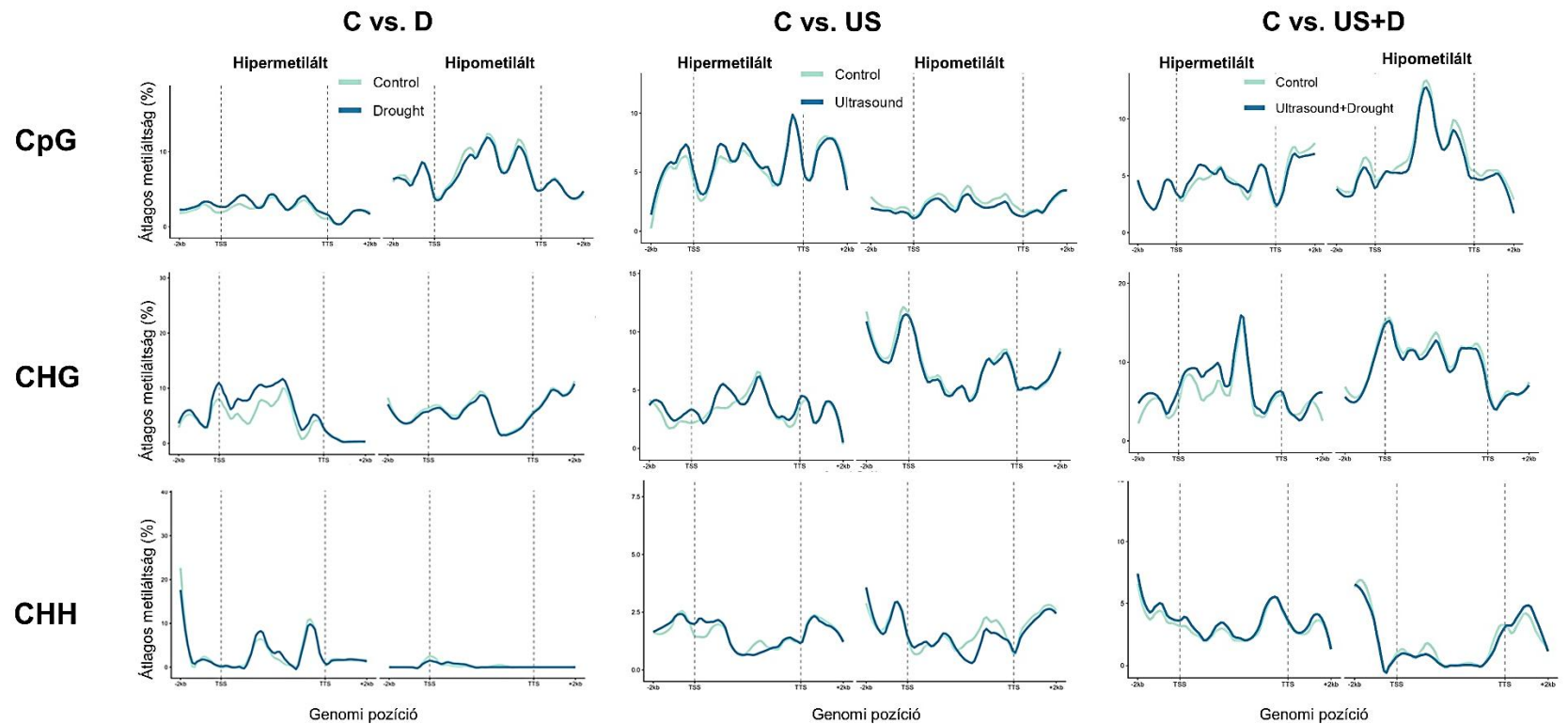
10. melléklet: DMR-ek eloszlása CpG környezetben. A vulkánplotok a DNS-metilációs különbségeket (vízszintes tengely) és a statisztikai szignifikanciát (függőleges tengely) ábrázolják. A piros pontok a szignifikáns hipermetilációt, a kék a hipometilációt, a szürkék pedig a nem szignifikáns változást jelölik ($P < 0,05$). A szaggatott vonalak a relevanciaküszöböt mutatják.



11. melléklet: A kutatás során generált nagy terjedelmű adatsorok (RNA-seq és WGBS táblázatok) méretükre való tekintettel nem képezik a jelen értekezés nyomtatott mellékletének részét. Ezen adatok teljes körűen elérhetőek a FARKAS et al. 2025. publikációban (DOI: 10.1080/15592324.2025.2556982), illetve annak online kiegészítő anyagaiban (Supplementary materials). A nyers szekvenálási adatok (RNA-seq és WGBS) a nemzetközileg elismert NCBI Gene Expression Omnibus (GEO) adatbázisában kerültek archiválásra, és a GSE303939 azonosító (accession number) alatt bárki számára hozzáférhetőek. Minden egyéb, az eredmények alátámasztásához szükséges releváns adat megtalálható a hivatkozott közleményben és annak mellékleteiben.

NÉV	LEÍRÁS
1. kiegészítő táblázat	RT-qPCR mérések átfogó adatsora.
2. kiegészítő táblázat	Szignifikánsan differenciálisan alul- és felülexpresszált gének (DEG-ek) paradicsomnövényekben, 2 nappal az ultrahang- és szárazság-kezelés önálló vagy kombinált alkalmazását követően, páronkénti összehasonlításban.
3. kiegészítő táblázat	A transzkripció szinten felül- vagy alulszabályozott gének génontológiai (GO) dúsulási analízise paradicsomnövényekben, 2 nappal az ultrahang- és szárazság-kezelés önálló vagy kombinált alkalmazását követően, páronkénti összehasonlításban.
4. kiegészítő táblázat	Differenciálisan metilált gének (DMG-k) génannotációi CpG szekvenciakörnyezetben, a GO annotációs eredmények alapján, 2 nappal az ultrahang- és szárazság-kezelés önálló vagy kombinált alkalmazását követően, paradicsomnövényekben.
5. kiegészítő táblázat	Differenciálisan metilált gének (DMG-k) génannotációi CHG szekvenciakörnyezetben, a GO annotációs eredmények alapján, 2 nappal az ultrahang- és szárazság-kezelés önálló vagy kombinált alkalmazását követően, paradicsomnövényekben.
6. kiegészítő táblázat	Differenciálisan metilált gének (DMG-k) génannotációi CHH szekvenciakörnyezetben, a GO annotációs eredmények alapján, 2 nappal az ultrahang- és szárazság-kezelés önálló vagy kombinált alkalmazását követően, paradicsomnövényekben.
7. kiegészítő táblázat	A CpG szekvenciakörnyezetben hiper- vagy hipometilált DMG-k génontológiai (GO) dúsulási analízise paradicsomnövényekben, 2 nappal az ultrahang- és szárazság-kezelés önálló vagy kombinált alkalmazását követően, páronkénti összehasonlításban.
8. kiegészítő táblázat	A CHG szekvenciakörnyezetben hiper- vagy hipometilált DMG-k génontológiai (GO) dúsulási analízise paradicsomnövényekben, 2 nappal az ultrahang- és szárazság-kezelés önálló vagy kombinált alkalmazását követően, páronkénti összehasonlításban.
9. kiegészítő táblázat	A CHH szekvenciakörnyezetben hiper- vagy hipometilált DMG-k génontológiai (GO) dúsulási analízise paradicsomnövényekben, 2 nappal az ultrahang- és szárazság-kezelés önálló vagy kombinált alkalmazását követően, páronkénti összehasonlításban.
10. kiegészítő táblázat	A génexpresszió és a DNS-metiláció közötti korreláció paradicsomnövényekben, 2 nappal az ultrahang- és szárazság-kezelés önálló vagy kombinált alkalmazását követően.

12. melléklet: Genomszintű DNS-metilációs profilok eloszlása a kontrollhoz viszonyítva. A panelek a CpG (felső sor), CHG (középső sor) és CHH (alsó sor) kontextusú mintázatokat szemléltetik a génszerkezet mentén. Az oszlopok a kontrollhoz (C) képest vizsgált egyedi és kombinált kezeléseket mutatják: szárazság (C vs. D), ultrahang (C vs. US) és kombinált kezelés (C vs. US+D). A görbék közötti eltérések a kezelések hatására bekövetkező lokális metilációs különbségeket jelzik a genomi pozíció függvényében.



13. melléklet: Genomszintű DNS-metilációs profilok összehasonlítása a különböző kezelési csoportok között. A panelek a CpG (felső sor), CHG (középső sor) és CHH (alsó sor) kontextusú mintázatokat szemléltetik. Az oszlopok a kezelések közötti közvetlen relációkat mutatják: ultrahang vs. szárazság (US vs. D), szárazság vs. kombinált kezelés (D vs. US+D), valamint ultrahang vs. kombinált kezelés (US vs. US+D). A görbék eltérése az ultrahangos kondicionálás és a szárazságstressz kölcsönhatásából adódó epigenetikai különbségeket reprezentálja.

