

Doktori (PhD) értekezés tézisei

**NÖVÉNYI STRESSZMEMÓRIA MOLEKULÁRIS
GENETIKAI MECHANIZMUSAINAK VIZSGÁLATA**

Farkas Dóra

Doktorjelölt

Témavezető:

Dr. Dobránszki Judit, az MTA doktora



Kerpely Kálmán Növénytermesztési és Kertészeti Tudományok

Doktori Iskola

Debrecen, 2026

1. A doktori értekezés előzményei és célkitűzései

A globális klímaváltozás és az aszályos időszakok gyakoriságának növekedése kritikus kihívást jelent a mezőgazdaság és az élelmiszerbiztonság számára (BISBIS et al., 2018). A konvencionális termesztéstechnológiák korlátozott alkalmazkodóképessége miatt a növénybiológiai kutatások fókusza az innovatív, fizikai alapú kondicionáló (priming) eljárások felé tolódik el, amelyek a növények természetes élettani plaszticitását használják fel a reziliencia fokozására (SELEIMAN et al., 2021). A paradicsom (*Solanum lycopersicum* L.) kiemelt gazdasági jelentősége mellett a molekuláris növényélettan kulcsfontosságú modellorganizmusa. Mivel a szárazságstressz az ontogenezis minden szakaszában korlátozza a produktivitást (ZHOU et al., 2019), elengedhetetlenné vált olyan módszerek kidolgozása, amelyekkel a növényi szervezet előzetesen felkészíthető a várható stresszhatásokra.

A növénybiológia egyik legmeghatározóbb szemléletváltása a szomatikus és transzkriptomi emlékezet, valamint a kognitív folyamatok felismerése (TREWAVAS, 2014). A növények kifinomult epigenetikai mechanizmusok – DNS-metiláció és hiszton-módosítások – révén képesek a környezeti információk sejt szintű tárolására és felidőzésére (GALLUSCI et al., 2023). A teljes genom szintű metilációs és transzkriptomikai vizsgálatok képesek feltárni, hogyan válik egy átmeneti környezeti hatás maradandó élettani lenyomattá (ZHANG et al., 2018).

Öröklődés szerint elkülönítünk ivaros úton öröklődő meiotikus memóriát (LIU et al., 2022), valamint a mitotikus memóriát, mely utóbbi klonális sejtosztódással marad fenn (GARAI és SOPORY, 2023). Időtartam alapján intra-, inter- és transzgenerációs memóriát különböztetünk meg. Míg a transzgenerációs szintet a stabil DNS-metiláció rögzíti, az intragenerációs (szomatikus) válaszokért a kisméretű RNS-ek és az átmeneti, reverzibilis DNS-metilációs és hiszton-módosítások felelősek (GALLUSCI et al., 2023). A transzkriptomi emlékezet során a növény a korábbi stresszhatás eredményeként megváltozott génkifejeződési mintázatot tart fenn, vagy az ismételt ingerre a naiv állapottól eltérő választ ad (AVRAMOVA, 2015). Az expressziós szint időbeli kapcsolata alapján a transzkripció memória két fő típusba sorolható (OBERKOFER et al., 2021):

- 1-es típusú (tartós indukciós) memória: a megváltozott génexpresszió időben túlnyúlik az ingeren, a génexpresszió intenzitása nem tér vissza az alapvonalhoz, hanem folyamatos molekuláris készültséget (hiszterézist) tart fenn a növény.

- 2-es típusú memória (módosított újraindukció): a génexpresszió intenzitása az ingerek között visszatér az alapállapothoz, de az ismételt stresszhatás esetén a válasz mértéke vagy iránya már jelentősen eltér az első, ugyanerre az ingerre adott génexpressziós választól (AVRAMOVA, 2015; BALAZADEH, 2022).

A memóriefunkciók magasabb szintje az asszociatív memória, amely során a növény egy semleges környezeti ingert összekapcsol egy másik ingerrel, és a későbbiekben már e semleges inger hatására, proaktív módon módosítja válaszreakcióit. Ez alapjaiban különbözik a kereszttoleranciától, amely az átfedő molekuláris jelátviteli útvonalakon nyugvó, általános biokémiai edzettség (BHANDAWAT et al., 2020; GAGLIANO et al., 2016).

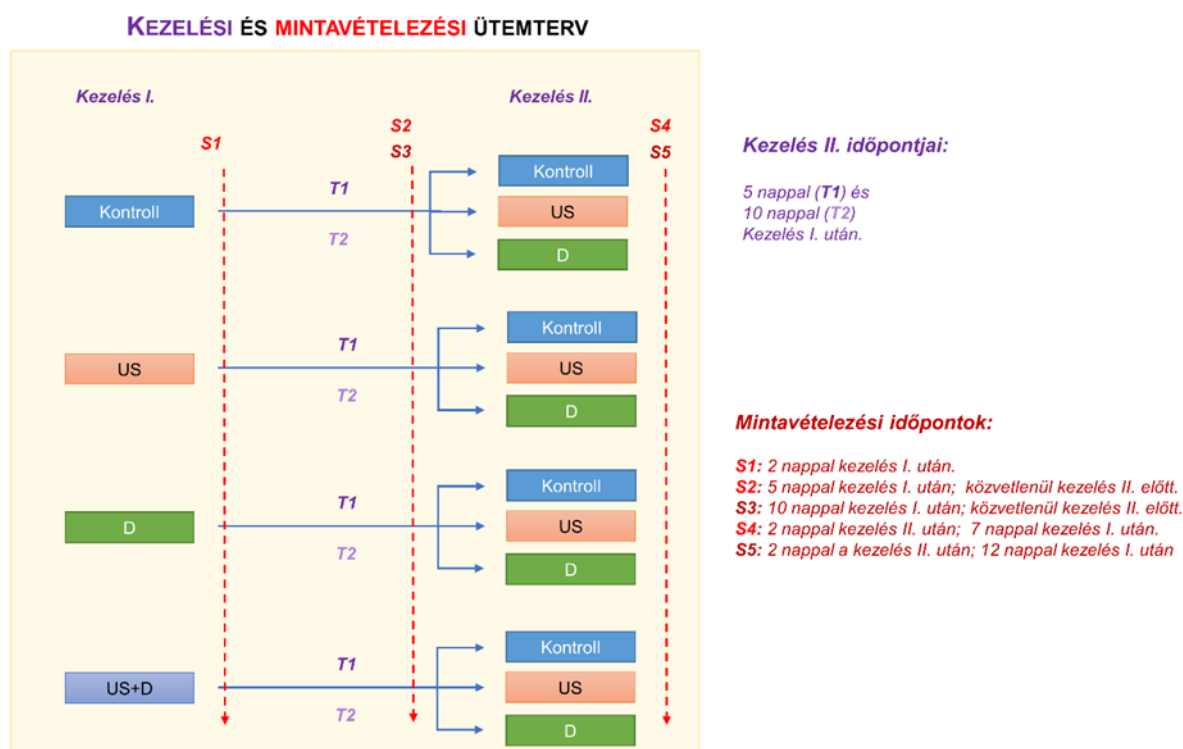
Az ultrahangos kezelés, mint nem-invazív fizikai inger, mechanikai vibrációk és kavitációs jelenségek révén képes befolyásolni a sejtek jelátviteli útvonalait, vegyszerterhelés nélkül. Jelen értekezés központi hipotézise, hogy az ultrahangos kondicionálás képes intragenerációs memóriát létrehozni. Ezen elméleti háttérre alapozva, munkám során az ultrahang- és a szárazságkezelés növényi génátírássra és epigenetikai mintázatokra gyakorolt hatásait vizsgáltam az alábbi specifikus célkitűzések mentén. Céлом volt:

- annak meghatározása, hogy az alkalmazott stressztípusok függvényében jelentkeznek-e szignifikáns eltérések a Micro Tom paradicsomfajta transzkriptomikájában és DNS-metilációjában, az RNA-seq és WGBS adatok elemzésével. Stressz-specifikus molekuláris mintázatok azonosítása,
- annak vizsgálata, hogy a kontrollált körülmények között alkalmazott kezelések kiváltanak-e stabil, molekuláris szinten azonosítható memórianyomokat, vagy csupán átmeneti fiziológiai reakciókról van szó,
- annak tisztázása, hogy a stressztípusok együttes alkalmazása eredményez-e intragenerációs memóriát, és az így kialakult memória meddig marad fenn az egyed életciklusán belül,
- annak vizsgálata, hogy létrejöhet-e olyan asszociatív memória, ahol a vizsgált célgénekre nézve korábban neutrális inger a egy másik inger prediktorává válik, és hogy ez az asszociáció ingerfüggő-e.

2. Anyag és módszer

Kísérleteinkhez a paradicsom (*Solanum lycopersicum* L.) Micro Tom fajtáját alkalmaztuk. A magokat MS makro- és mikroelemeket (MURASHIGE és SKOOG, 1962), valamint 0,15%-os Previcur Energy® gombaölő szert tartalmazó oldattal telített Jiffy-7® tőzegkorongokba vetettük, majd Veg-boxokba helyezve klímakamrában neveltük (24 °C, 16/8 órás fotoperiódus, 89 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PPFD, 65% RH). A háromhetes csíranövényeket teljesen randomizált elrendezésben gondoztuk, az öntözést hetente kétszer, 15 ml csapvízzel biztosítottuk.

A kísérletbe 168 növényt vontunk be. Az I. kezelés során négy főcsoportot (csoportonként 42 egyed) alakítottunk ki: kontroll (C), ultrahang kezelés (US), szárazságstressz (D) és kombinált kezelés (US+D). A szárazságstresszt 10 ml 20%-os PEG-6000 oldattal, az ultrahangos kezelést ultrahang generátorral (30 kHz, 120 W, 5 perc expozíció, növény távolsága az US fejtől 6 cm) végeztük. A kombinált csoportnál az ultrahangot azonnali PEG-es öntözés követte (1. ábra).



1. 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 II. kezelés során az első ingertől számított 5. (T1 kísérletsorozat) vagy 10. napon (T2 kísérletsorozat) minden főcsoportot 3-3 alcsoportra (kontroll, ismételt US, ismételt D) osztottunk az ütemtervnek megfelelően (1. ábra).

A transzkriptomi (RNA-seq) és DNS-metilációs (WGBS) változások követésére öt időpontban (időpontonként 3-3 biológiai replikátum) végeztünk mintavételt: S1 (2 nappal az I. kezelés után); S2 és S3 (5, illetve 10 nappal az I. kezelés után, közvetlenül a II. kezelés előtt); S4 és S5 (2 nappal a T1, illetve T2 sorozat II. kezelése után).

A genomi DNS izolálása (S1 minták, 2 replikátum) Macherey-Nagel Nucleospin® Plant II kittel, a teljes RNS kivonása (3 replikátum) Zymo Quick-RNA™ Plant Miniprep Kittel történt. A minőségellenőrzést NanoPhotometer® N50 készülékkel, a nukleinsav integritását Agilent Bioanalyzer 2100 rendszeren (RNA 6000 Nano Kit) validáltuk. Szekvenálásra kizárólag a fehérje- és sómentes ($A_{260}/A_{280} \sim 1,8-2,0$; $A_{260}/A_{230} > 1,8$), valamint kiváló integritású (RIN > 7,0) mintákat használtuk fel. Az mRNS-könyvtárak előkészítését (poly-A dúsítás, fragmentálás, cDNS-könyvtár) és a szekvenálást a Novogene végezte Illumina NovaSeq X Plus platformon, páros végű (PE150) módban.

A bioinformatikai feldolgozás során a nyers adatok minőségbiztosítását FastQC v0.12.1, a szűrést fastp v0.26.0 szoftverrel végeztük. Az RNA-seq leolvasásokat Hisat2 v2.1.1 algoritmussal illesztettük a *S. lycopersicum* SL4.0 referencia-genomra, a génszintű expressziót FeatureCounts v2.1.1-gyel határoztuk meg (ITAG4.0 annotáció). A differenciálisan kifejeződő gének (DEG) statisztikai elemzését DESeq2 v1.44.0 csomaggal végeztük R környezetben ($|\log_2FC| > 0,58$; korrigált p-adj. < 0,05).

A WGBS adatok illesztését a biszulfitos konverzió után Bismark v0.24.2 szoftverrel végeztük (SL4.0 genom). A deduplikáció után a metilációs szinteket CpG, CHG és CHH kontextusokban nyertük ki. A differenciálisan metilált régiókat (DMR) és géneket (DMG) MethylKit v1.30.0 csomaggal azonosítottuk ($\geq 10x$ lefedettség, $P < 0,05$, 200 bp csúszóablak, >10% metilációs különbség). DMG-nek a géntesten vagy a 3 kb upstream promóter régióban DMR-t tartalmazó egységeket tekintettük, az annotálást a Genomation v1.36.0-val végeztük. A funkcionális Gén Ontológia (GO) dúsítási analízist ClusterProfiler v4.12.6 csomaggal ($P < 0,05$), a vizualizációt ggplot2 v3.5.2 csomaggal végeztük R v4.4.1 környezetben.

Az RT-qPCR vizsgálatokhoz 200 ng össztömegű teljes RNS-ből indítottunk cDNS-szintézist Reverse Transcriptase Core Kit (Eurogentec) és 2,5 μ M random nonamer primerek alkalmazásával. A normalizáláshoz négy referenciagént választottunk ki (SEC, ELO, GAPDH, UBI). Expressziós stabilitásukat a komparatív ΔCt módszerrel (SILVER et al., 2006), valamint a geNorm (VANDESOMPELE et al., 2002), NormFinder (ANDERSEN et al., 2004) és

BestKeeper (PFAFFL et al., 2004) eljárásokkal értékeltük a RefFinder (XIE et al., 2012) szoftver segítségével.

1. táblázat: Célgének és az alkalmazott primerek.

Gén neve	Rövidítés	A forward és reverse primerek szekvenciája (5'–3')	Amplikonhossz (bp)
Exocyst complex component SEC3A	SEC	F – CTCCTCAGTGGACAATGCGT R – TCTTCCACAGCAGCACTGAC	208
Elongation factor 1-alpha	ELO	F – AAGAGGCCATCAGACAAGCC R – TGAGGCAACATAACCACGCT	267
Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase	GAPDH	F – ATTCCATGGGCACAGACTGG R – GGGAGCAAGGCAATTTGTGG	225
Ubiquitin-ribosomal protein eS31 fusion protein-like	UBI	F – CCACTCTCCATCTCGTGCTC R – GTGAGCCCACACTTACCACA	247
Protein auxin-regulated gene involved in organ size	ARGOS	F – GACATGGAATCATCAGAGGCCA R – TGGCAATGGTGAAGCATCA	240
Protein EXORDIUM-like 5	EX	F – ACTCCCTCCGAGAACACTATCTTC R – CAACGAAACAGTACTCCACCACT	241
Transcription factor MYB24-like	MYB	F – AGGCAGATGGAATTGTGTTGC R – CGTTGTCTAGTTCTCCCTGGCA	206
Chlorophyllase-2	CHL	F – CAAATCCGTACTGCCGGAGA R – ACGAGGGATGTATTGAGAACG	205
Probable aquaporin TIP3-2-like	TIP	F – TAGTGATAGCGTTGGCGCAT R – GCCATCAGTAGCAAGCCTCA	206

A célgéneket az RNA-seq adatok LFC értékei alapján választottuk ki. Két célgén esetében az ultrahang szolgált kondicionált ingerként (CS) és a szárazság nem kondicionált ingerként (UCS), míg a másik két célgénél a szerepek felcserélődtek. Az I. kezelés után csak kontrollt kapó csoportok („US és C”, „D és C”, „US+D és C”) a memóriafenntartás nyomon követésére szolgáltak. A primereket SnapGene v8.0 szoftverrel terveztük, tulajdonságaikat a PCR Primer Stats eszközzel ellenőriztük, a specifitást pedig NCBI BLASTn-nel validáltuk (szintézis: Integrated DNA Technologies). A tervezési kritériumok a következők voltak: olvadási hőmérséklet T_m: 56–62 °C; hossz: 18–25 bp; GC-tartalom: 40–60 %; amplikon hossz: 150–250 bp (1. táblázat).

Az RT-qPCR reakciókat (2,5 µl cDNS, 0,1 µM primer-koncentráció) Takyon™ No Rox® SYBR MasterMix dTTP Blue (Eurogentec) készlettel végeztük el AriaMx Real-Time PCR (Agilent) rendszeren. Az amplifikációs protokoll az alábbi lépésekből állt: kezdeti denaturáció

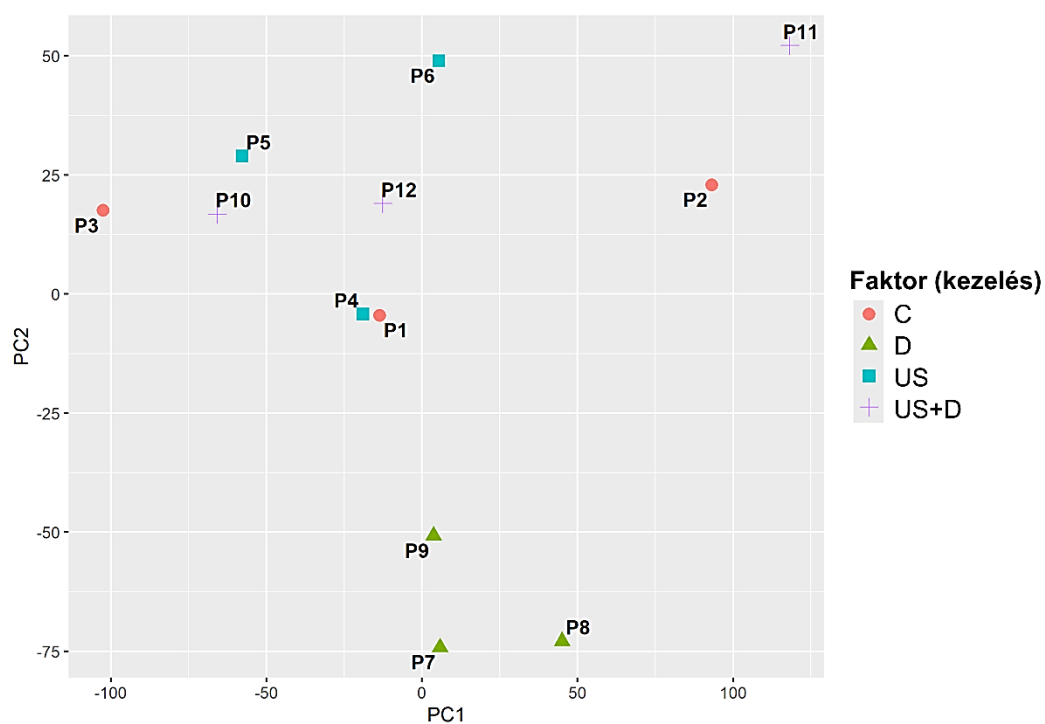
és enzimaktiválás 95 °C, 3 perc), majd 40 ciklus (95 °C - 10 s; primer-specifikus kötődés: 52,5 °C - 20 s; lánchosszabbítás: 72 °C - 30 s). A méréseket 3 biológiai és 3 technikai replikátumban futtattuk.

A relatív génexpressziót a $2^{-\Delta\Delta C_q}$ módszerrel határoztuk meg. Az RNA-seq és az RT-qPCR adatok közötti összefüggést Pearson-féle korrelációs együtthatóval vizsgáltuk. A részletes statisztikai elemzést IBM SPSS Statistics 25 szoftverrel végeztük: a kezelés típusa és az időpont mint fő faktorok hatását kéttényezős varianciaanalízissel (two-way ANOVA), a csoportok közötti szignifikáns különbségeket pedig Tukey-féle B post-hoc tesztel határoztuk meg ($P < 0,05$). A grafikonokat és a szignifikancia-jelöléseket GraphPad Prism 10.0.0 szoftverrel készítettük el.

3. Eredmények

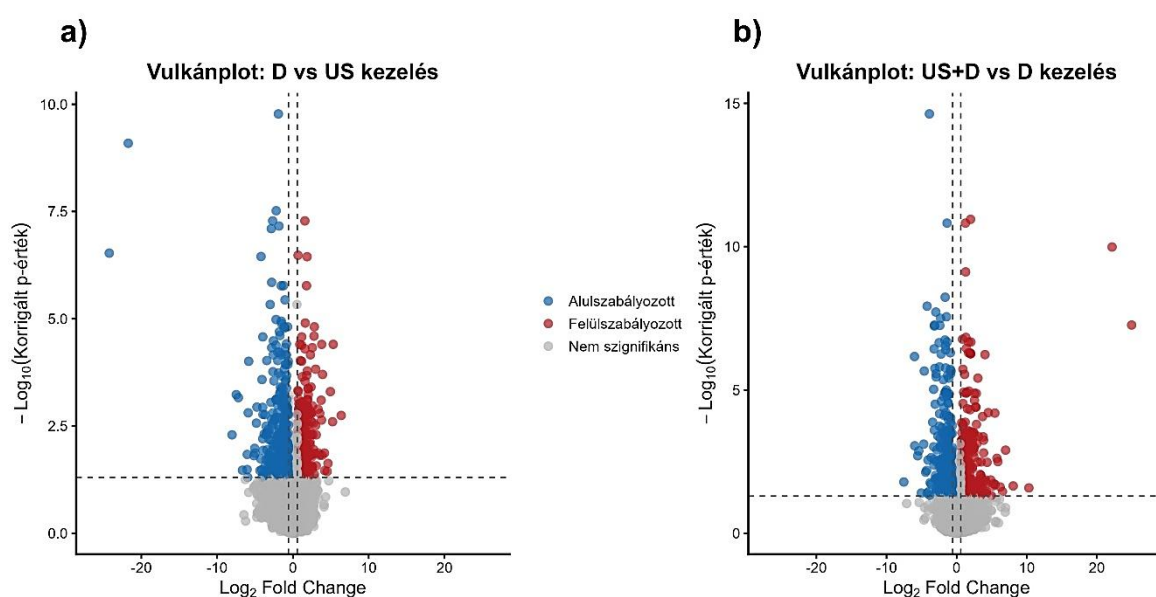
3.1. A transzkriptom-profil globális változásai és a priming hatás

A globális génkifejeződési mintázatok többváltozós statisztikai elemzése, a főkomponens-analízis (PCA) eredményei alapján azt mutatta, hogy a második főkomponens (PC2) mentén éles molekuláris elkülönülés látható a különböző kezelési csoportok között. A kezeletlen abszolút kontrollhoz (C) képest a szárazságstressz (D) és az ultrahangos kezelés (US) egymással teljesen ellentétes irányú transzkriptom-szintű átrendeződést váltott ki a növényi szövetekben. A szárazság hatására a minták a koordináta-rendszer negatív tartománya felé tolódtak el, míg az ultrahangos ingerlés a pozitív irányba mozdította el a globális génkifejeződési profilt. Ez a markáns eltérés közvetlen bizonyítéka annak, hogy a két inger alapvetően eltérő molekuláris útvonalakat, kalcium-szignálokat és fitohormon-válaszokat aktivál. A növények tehát képesek molekuláris szinten megkülönböztetni ezeket az ingereket (GAGLIANO, 2014) (2. ábra).



2. ábra Főkomponens-analízis (PCA) a *Solanum lycopersicum* L. cv. Micro Tom paradicsom transzkriptomikai (RNA-seq) adatai alapján.

A kombinált kezelésben részesült minták (US+D) elhelyezkedése a PC2 tengelyen a kontroll és az ultrahangos kezelés közötti sávban azonosítható. Ez a megfigyelés biológiai szempontból kulcsfontosságú, mivel azt jelzi, hogy az ultrahangos kezelés képes volt módosítani vagy „felülírni” a szárazság által kiváltott tipikus transzkriptom-választ, vagyis a szárazságra jellemző génexpressziós válaszok jelentős része érdemben módosult. Az ultrahangos kezelés itt egyfajta „priming” (felkészítő) ágensként működött a növényi szervezetben. A növény az előkezelés hatására nem a tipikus, pánikszerű szárazsági választ adta, hanem egy olyan módosult állapotot vett fel, amely az US-specifikus profilhoz mutat nagyobb hasonlóságot (MAUCH-MANI et al., 2017) (2. ábra).



3. ábra A differenciálisan expresszált gének (DEG) statisztikai eloszlása. A vulkánplotok a génexpresszió-változás mértékét (Log_2 Fold Change) és annak szignifikanciáját ($-\log_{10}$ korrigált p-érték) szemléltetik.

A vulkánplotok extrém magas expresszió-változási értékei ($|\log_2\text{FC}| > 20$) és a PCA-n látható éles eltolódások igazolják, hogy az ultrahang egy önálló, specifikus transzkriptom-remodelling folyamatot indít el. A hőterképeken látható, a szárazsággal ellentétes irányú génexpressziós válasz igazolja, hogy a növényi molekuláris útvonalak képesek az ingerek minőségi kódolására, ami a tanulás funkcionális definíciójának (interakció eredményeként létrejövő változás) első alapfeltétele (TREWAVAS, 2014; CALVO et al., 2020). Az ultrahang egyfajta felkészítő ágensként működve mérsékelte a stressz-specifikus transzkriptom-eltolódást (HILKER és SCHMÜLLING, 2019) (3. ábra).

A 34.075 gént érintő globális mRNS-expressziós profil vizsgálata során a kontrollhoz viszonyítva szignifikáns mértékű fel-, illetve leszállásos változást azonosítottunk. Az ultrahangos kezelés hatására 86, a szárazságkezelés hatására 410, míg a kombinált kezelés hatására 148 gén mutatott szignifikáns változást ($|\log_2FC| > 0,58$); korrigált p -adj. $< 0,05$). Az átfedések vizsgálata során 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 közös differenciálisan expresszált gént (DEG) találtunk. Mindössze 4 olyan gént azonosítottunk, amely mindhárom kezelésre szignifikánsan eltérő expressziós szinttel válaszolt, ami alátámasztja a kísérleti kezelések nagyfokú inger-specifikusságát és a kapott adatok megbízhatóságát, összhangban a korábbi transzkriptomi vizsgálatokkal (DOBRÁNSZKI et al., 2019; TEIXEIRA DA SILVA et al., 2020).

3.2. Genomszintű DNS-metilációs válaszok, mint a memória epigenetikai alapjai

Hasonlóképpen az mRNS-expressziós profilhoz, mindkét alkalmazott inger megváltoztatta a paradicsomnövények globális DNS-metilációját. A 34.075 gén promóter- és kódoló régióit egyaránt magában foglaló globális citozin-DNS-metilációs analízis során összesen 211 differenciálisan metilált gént (DMG) azonosítottunk a kezeletlen kontrollhoz viszonyítva, figyelembe véve az összes kezelést és szekvenciakörnyezetet. Ezek az epigenetikai módosulások az elraktározott információk stabil sejt szintű hordozói, vagyis a metilációs memórianyomok. Huszonöt DMG bizonyult teljesen azonosnak mindhárom kezelési csoport összehasonlításában.

A transzkriptom-szintű változásokkal párhuzamosan a genomszintű metilációs profilok elemzése rávilágított arra, hogy a metilációs tájkép mindhárom szekvencia-kontextusban jellegzetes eloszlást mutat a génszerkezet mentén. A DNS-metiláció mértéke a géntestben (gene body) a legmagasabb, míg a transzkripció starthelyek (TSS) és transzkripció végpontok (TTS) környékén markáns lokális csökkenés figyelhető meg. A CpG, CHG és CHH kontextusokban rendre 122, 86 és 46 DMG volt érintett. A vulkánplotok aszimmetriája alapján a CpG kontextusban zajlott a legintenzívebb epigenetikai átrendeződés, ami jelzi, hogy a szárazságstressz rendszerszintű hiper- és hipometilációs folyamatokat indít el, amelyek alapvető anyagcsere-utakat érintenek.

A kontextusok profil-eltolódásai a kezelések nem-additív jellegét igazolták. Az ultrahang és a szárazság közvetlen összehasonlítása során (US vs. D) tapasztalt jelentős eltérés a CHG kontextusban bizonyítja, hogy a két inger teljesen eltérő epigenetikai ujjlenyomatot hagy hátra.

Ez alátámasztja azt a megállapítást, miszerint a növény a metilom szintjén is képes minőségi különbséget tenni a mechanikai vibráció és az ozmotikus stressz között. A kombinált kezelés (US+D) egyedi, a különálló kezelésektől teljesen eltérő metilációs mintázatot eredményezett, különösen a plasztikusabb CHG és CHH szinteken, jól látható lokális eltéréseket mutatva a géntest területén. Ez arra utal, hogy az ultrahang és a szárazság együttes jelenléte nem csupán a két hatás matematikai összeadódása, hanem egy komplex epigenetikai áthangolódást vált ki. A CHH kontextusban látható egyedi metilációs pontok előre vetítik a *de novo* metilációs folyamatok finomhangoló szerepét a stressz-memória kialakulásában.

Az RNA-seq és a WGBS adatok, azaz a génszintű transzkripció és a genomszintű DNS-metilációs változások között közvetlen lineáris korrelációt nem találtunk a stresszekre adott válaszreakciók során. Ez az eredmény magyarázható azzal, hogy a növényi memória kialakulásában más, egymással együttműködő molekuláris és epigenetikai mechanizmusok is szerepet játszanak, amelyek együttesen befolyásolják a transzkriptomi választ (DOBRÁNSZKI et al., 2025; GALLUSCI et al., 2023). A szakirodalom alapján a szárazságra adott válaszként egyéb epigenetikai mechanizmusokat, például specifikus hiszton-metilációs, hiszton-acetilációs és hiszton-foszforilációs mintázatokat (GUARINO et al., 2022), valamint a nem-kódoló RNS-eket, köztük a mikroRNS-eket (GELAW et al., 2021) is összefüggésbe hozták már a stressz-memóriával. Emiatt a közvetlen memóriavizsgálatok során a továbbiakban az RNS-szekvenálásból nyert, stabil és validálható expressziós eredményekre támaszkodtunk, és a transzkripció memóriát vettük figyelembe.

3.3. Célgének kiválasztása és a transzkripció adatok validálása

A növényi transzkripció memória a módosult transzkriptom-szintű válaszreakciókon alapul. Bizonyos reagáló gének egy kezdeti inger hatására adott szinten kifejeződnek. Az inger megszűnését követően vagy fenntartják a megváltozott génexpressziós szintet egy bizonyos ideig (1. típusú transzkripció memória: tartós indukció), vagy az inger megszűnését követően visszatérnek az alapállapotba, és ha a növény később ugyanazt az ingert kapja, szignifikánsan eltérő transzkripció választ mutat a növényi gén, mint a kezdeti inger hatására (2. típusú transzkripció memória: módosult re-indukció) (OBERKOFER et al., 2021). A transzkripció memória és az asszociatív memória részletes vizsgálatához az omikai adatok alapján 4 specifikus, stressz-reprezentatív célgént választottunk ki, amelyek alkalmasak a memórianyomok követésére:

- Szárazság-specifikus markerek: a felülszabályozott aquaporin TIP3-2-szerű (TIP) gén és az alulszabályozott MYB24-szerű (MYB) transzkripció faktor.
- Ultrahang-specifikus markerek: a felülszabályozott EXORDIUM-szerű 5 (EX) fehérje és a leszabályozott ARGOS gén.

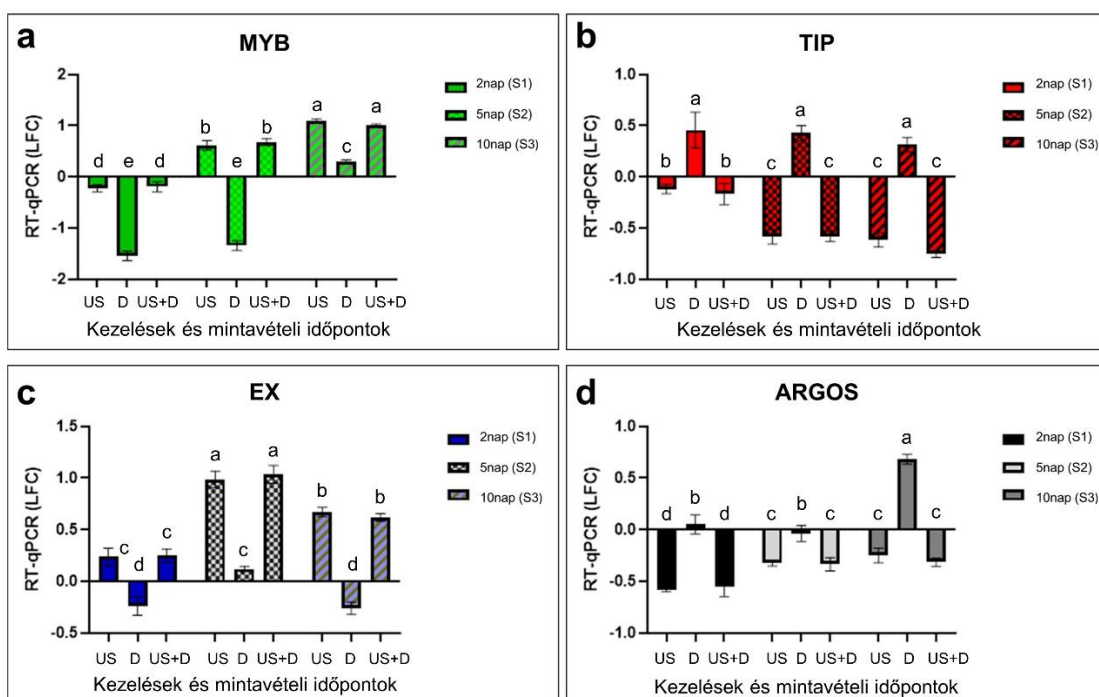
Mivel az ultrahang nem volt hatással a szárazság-specifikus gének expressziójára, és a szárazság sem befolyásolta az ultrahang-specifikus géneket, megállapítottuk, hogy a két inger valóban független egymástól. A pontos RT-qPCR mérések alapfeltétele a kísérleti körülmények között is stabilan expresszálódó referenciagének (háztartási) kiválasztása. Mivel a különböző matematikai algoritmusok eltérő módon súlyozzák a génexpressziós varianciákat, négy potenciális referenciagén (UBI, ELO, SEC, GAPDH) stabilitását vizsgáltuk meg integrált szoftveres úton.

A BestKeeper algoritmus alapján az UBI bizonyult a legstabilabbnak, mivel ennél volt a legalacsonyabb a standard szórás ($SD = 1,05$) és a variációs koefficiens ($CV = 5,21\%$). Ezzel szemben a GAPDH mutatta a legnagyobb ingadozást, ami alkalmatlanná tette a normalizálásra. A geNorm, NormFinder és a Delta Ct módszerek eredményei megerősítették ezt a rangsort. A különböző algoritmusok rangsorolási értékeinek mértani közepéből számított komprehenzív RefFinder mutató alapján az UBI (rangsorolási érték: 1) a legalkalmasabb referenciagén a vizsgálatokban, így a további mRNS-expressziós vizsgálataink során az UBI gént alkalmaztuk belső kontrollként.

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 rendkívül erős és szignifikáns pozitív Pearson-korrelációt tapasztaltunk ($r = 0,881$; $R^2 = 0,7761$; $P < 0,0001$), ami igazolja a mérési pontok szoros illeszkedését a regressziós egyenesre. A Tukey-féle b-teszt alapján meghatározott homogén csoportok világosan mutatták az egyes kezelések közötti szignifikáns különbségeket. Az adatok ilyen fokú egyezése és a validálási folyamat sikere lehetővé tette, hogy a további növénymintákban az UBI referenciagén alkalmazásával, nagy biztonsággal végezzük el a célgének relatív mennyiségi meghatározását és a transzkripció elemzését.

3.4. A transzkripció memória időbeli dinamikája

A célgének expressziós intenzitásában bekövetkező változások alapján megvizsgáltuk a szomatikus memória megőrzének időtartamát a 2. (S1), az 5. (S2) és a 10. (S3) napon, az abszolút kontrollcsoporthoz viszonyítva. 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 ($r = 0,757$, illetve $r = 0,748$). Némileg alacsonyabb ($r = 0,647$), de továbbra is erősen szignifikáns korrelációt találtunk az 5 és 10 napos RT-qPCR adatok összehasonlításakor, ami statisztikailag is igazolja a transzkripció memória jelenlétét.



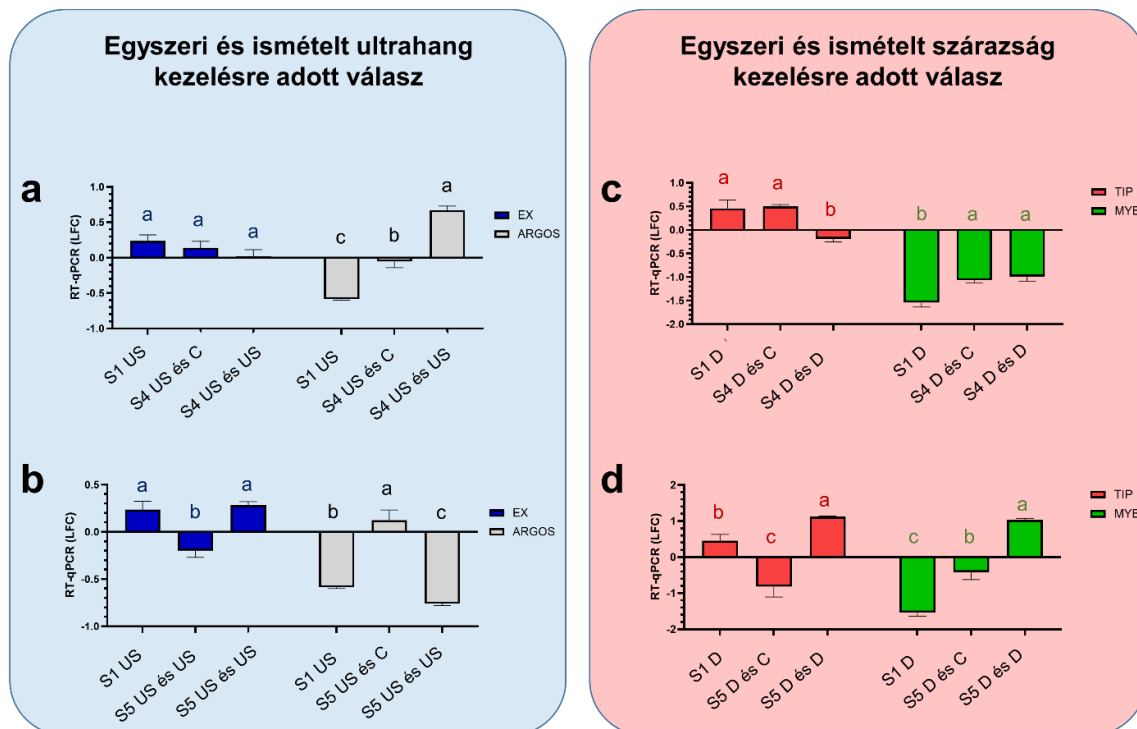
4. ábra. Memória-megőrzés a stressz-ingert követő 5. vagy 10. napon. A célgének RT-qPCR-rel becsült differenciális expressziós logaritmikus változási (LFC) értékei a 2. (S1), az 5. (S2) és a 10. (S3) napon.

A MYB transzkripció faktor esetében nem volt jelentős különbség a kezdeti ingerre (D, S1) adott transzkripció válasz és az 5. napon mért génkifejeződési intenzitás (D, S2) között, ami arra utal, hogy a növények 5 napig stabilan megőrizték az emlékezetet (4. ábra). Mivel a génexpresszió időtartama meghaladta a kezdeti ingert, és az LFC-értékek eltértek az alapvonalától, a folyamatban hiszterézis alakult ki, ami 1. típusú (vagy fenntartott indukciós) memóriát bizonyít. Ezzel szemben 10 nap elteltével a mért expressziós értékek (D, S3) már jelentősen eltértek a korábbi mérésektől, így a transzkripció memória az 5. és a 10. nap között elhalványult. Pontosabban, a 7. napon az MYB expressziós intenzitása még mindig eltérően

fejeződött ki az abszolút kontrollcsoporthoz képest (S4), de kisebb mértékben; ezért az emlékezet még részben fennmaradt.

Ezt támogatja az a megfigyelés is, hogy amikor a növényeket az 5. napon újra kezeltük, nem volt szignifikáns különbség a „D és D”, valamint a „D és C” kezelési csoportoknál a 7. napon (S4) mért értékek között; azaz mivel az emlékezet fennmaradt, a szárazságstressznek való ismételt kitettség nem váltott ki további 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 12. napon (S5). Ez alátámasztja korábbi feltételezésünket, miszerint az emlékezet tiszta fenntartása 7–10 napig tartott, mivel a 10. napon ismételt ingerre a 12. napon jelentősen eltérő válaszokat kaptunk. Az MYB gén 12. napon tapasztalt felülszabályozódása mögött feltehetően a növények eltérő fiziológiai kora és az ezzel járó fejlődési sajátosságok állnak (5. ábra).

A TIP aquaporin gén szintén az 1. típusú transzkripciós memória jeleit mutatta, de a MYB fenntarthatóságával ellentétben a TIP indukciója nemcsak 5, hanem 10 napig is teljesen változatlan maradt (nem volt szignifikáns különbség a D kezelési csoport S1, S2 vagy S3 időpontban mért LFC-értékei között). A 12. napon azonban a TIP jelentősen alulszabályozottá vált, ami azt jelzi, hogy a szárazság emlékezete nem maradt fenn 12 napig (4. ábra). Amikor a D kezelést az 5. napon megismertük, a TIP a 7. napon (S4) még mindig felülszabályozott volt, de kisebb mértékben, ami a habituáció (hozzászokás) vagy familiarizáció jele lehet. Mivel azonban az emlékezet csak 10 napig maradt fenn, a 12. napon (S5) a TIP jelentős felülszabályozását figyeltük meg a 2. napon mért értékhez képest. Ez azt jelzi, hogy a 10. napon, a növények érzékenyebben reagáltak az ismételt szárazság ingerre, mint korábban, vagyis szenzitizációs válaszreakció alakult ki. Az expresszió intenzitása jelentősen nagyobb volt a 12. napon (S5), mint amikor azt fiatalabb, 3 hetes növényeknél alkalmaztuk (5. ábra).



5. 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, különböző kezelések (ultrahang- és szárazságstressz) hatására. Minden LFC-érték az abszolút kontrollcsoport (C az S1-nél; C és C az S4 és S5 időpontokban) viszonyítva értendő.

Az EX expressziós intenzitásának eredményei az ultrahangos (US) kezelési csoportban azt mutatja, hogy a felülszabályozás mértéke növekedett a 2. naptól az 5. napig. Ugyanakkor a 10. napon (S3) az EX célgén még mindig felülszabályozott volt, de kisebb mértékben az S1 és S2 időpontokban mért értékekhez képest. Ez jelzi, hogy az US-re adott génexpressziós válasz időbeli késéssel következett be, de a tartós hatás 10 nap után is megfigyelhető volt, ami a célgén tartós indukciójára (1. típusú transzkripciós memória) utal (4. ábra). A 7. napon (S4) nem volt túlzott reakció az ismételt ingerre (US és US), mivel nem történt jelentős felülszabályozás az EX célgénben; ezért a növények megtanulhatták és megjegyezhették, hogy figyelmen kívül hagyják a két ingert, és lecsendesítették válaszuk intenzitását (familiarizáció). A 12. napon azonban változás állt be az US-re adott reakció irányában, mivel az EX expressziós intenzitása alulszabályozottá vált, ami arra utal, hogy az inger emlékezete a 10. napra teljesen törlődött (4. ábra). Ezt alátámasztja az a tény, hogy a 10. napon megismételt US-kezelés a 12. napon (US és US, S5) az EX gén olyan felülszabályozását okozta, amely nem tért el szignifikánsan a 2. napon mért LFC-értékektől. Ebben az esetben – a TIP-pel ellentétben – a növény kora vélhetően nem befolyásolta a válasz intenzitását (5. ábra).

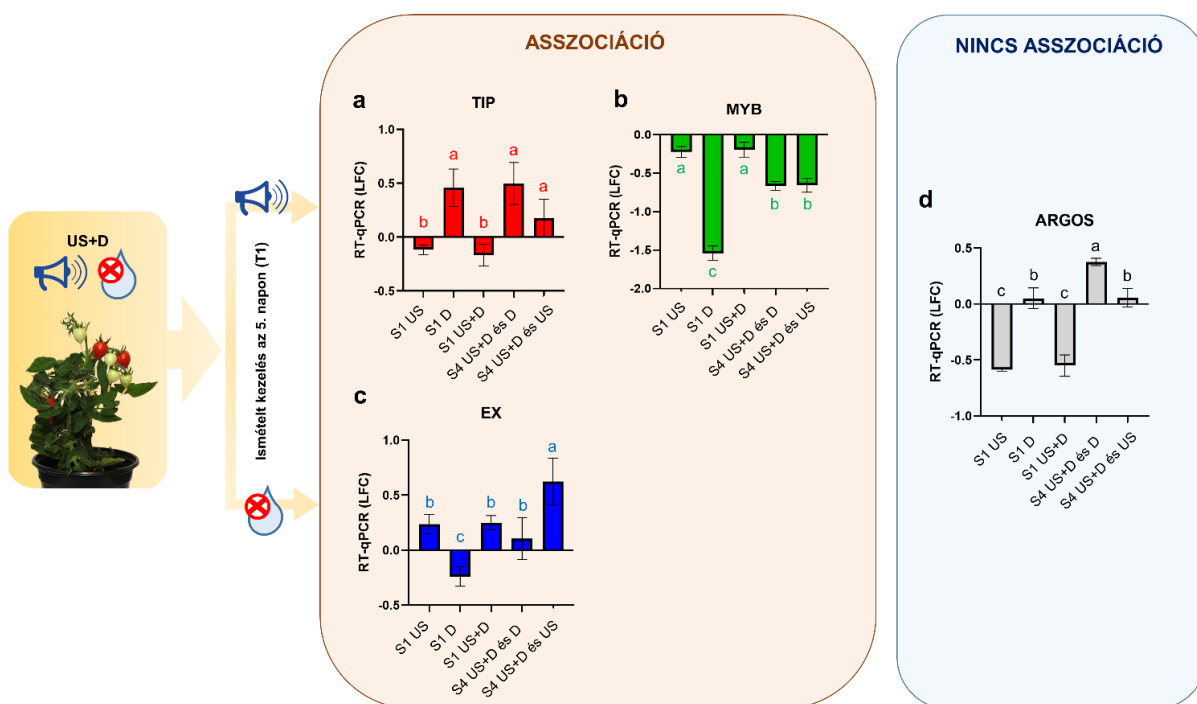
Az ARGOS tekintetében az US kezelésnél az S2 és S3 időpontban mért LFC-értékek nem tértek el szignifikánsan egymástól, azonban jelentősen különböztek az S1-nél mért értéktől. Ez az eredmény arra utal, hogy az ARGOS esetében az US kezelésre adott válaszként 10 napon keresztül tartós indukció esete áll fenn (4. ábra). Ha az ismételt US inger ezen a 10 napos időintervallumon belülre esett, akkor a válasz intenzitása mind irányában, mind erősségében megváltozott (S4). Ugyanakkor a 12. napon az US kezelésre adott válaszként mért LFC-érték szignifikánsan eltért a korábbi mérésektől, ami azt sugallja, hogy az emlékezet a 10. napra törlődött. Az ismételt US inger a 10. napon az S1-nél tapasztalthoz hasonló választ váltott ki a 12. napon, vagyis az ARGOS újbóli alulszabályozását. Az ARGOS expressziós viselkedése az ismételt US-hatásra válaszul 2. típusú transzkripciós memóriára (módosult re-indukció; -/+) utal (BALAZADEH, 2022; OBERKOFER et al., 2021) (5. ábra).

Esetenként az emlékezet fenntartása gátolhatja a regenerációs folyamatot vagy lelassíthatja a növény fejlődését; máskor viszont 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 való korábbi kitettség lehetőséget adott a növényeknek a tapasztalat megjegyzésére két gén megnövekedett transzkriptum szintje révén rövid ideig (5 napig), majd 7 nap után ez az emlék törlődött. Ez alátámasztja eredményeinket, miszerint a növények transzkriptomi szinten képesek rövid ideig (7–10 napig) emlékezni a múltbeli eseményekre.

A fiziológiai kor, amelyben a növények az ingernek ki vannak téve, meghatározhatja az emlékezet kialakulását és fenntartásának időtartamát. A védekezésre és növekedésre fordított erőforrások átcsoportosítása révén a jövőbeli stresszválaszok költségeinek minimalizálása érdekében a fiatal növények számára előnyös lehet a memóriafenntartásba való befektetés (HOUT et al., 2014). Amíg a fás szárú növényeknél ismert a több hónapig vagy évig tartó, hosszú távú memória az előző évi rágási károk „kezelésére” (NYKÄNEN és KORICHEVA, 2004), addig az egynyári növények főként a rövid távú memória kialakításába fektetnek a virágzás előtt, minimalizálva ezzel energetikai költségeiket a sikeres szaporodás érdekében (HILKER et al., 2016). A mi kísérleti rendszerünkben az ultrahang ingerre az ARGOS és EX gének 10 napig emlékeztek, a szárazság esetében az MYB csökkent expressziója 7 napig, míg a TIP fokozott expressziója 10 napig tartott.

3.5. Asszociatív transzkripció memória

A kereszt-akklimatizáció (cross-acclimation) olyan közös jelzőútvonalakon alapul, amelyeket különböző típusú stresszhatások is aktiválhatnak. Azonban a kereszt-priming (cross-priming) lehetőségének szigorú kizárása érdekében a célgéneket úgy választottuk ki, hogy eltérő expressziós mintázatot mutassanak a két jelre (US és D): az mRNS-szekvenálás alapján (S1) kizárólag az egyik stimulusra reagáltak, a másokra pedig egyáltalán nem. 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, vagyis egyértelmű feltételes választ (CR) detektáltunk. A vizsgált négy célgén közül három – a TIP, az MYB és az EX – egyértelműen bizonyította a növények asszociatív tanulási képességét a 7. napon (S4).



6. ábra A célgének expressziós intenzitásának változásai az ismételt ingerlés hatására, kombinált tréninget (kondicionálást) követően. A célgének 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.

A TIP expressziója szignifikánsan felülszabályozott volt a szárazság (D) hatására az S1 időpontban, míg az ultrahang önmagában semmilyen választ nem váltott ki (semleges inger) (4. ábra). A kombinált tréning (US+D), majd a növények kezdetben semleges ingernek, az ultrahangnak (CS) való kitétele után az ultrahang önmagában is kiváltotta a TIP szignifikáns felülszabályozását a 7. napon (S4). Az elért expressziós érték nem tért el szignifikánsan sem az S1-nél mért tiszta 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 az inger sikeresen kiváltotta a feltételes választ (CR). Bár az expressziós intenzitások értékei között számszaki különbség volt, a két csoport (US+D és D, valamint US+D és US) statisztikailag nem tért el szignifikánsan egymástól. Ez a megfigyelés azt bizonyítja, hogy a növények a kombinált tréningnek köszönhetően képesek voltak megjegyezni a két inger közötti asszociációt, és transzkriptomi szinten megfelelő proaktív választ adtak, felülszabályozva a TIP-et a kondicionált inger (CS) és az ultrahang alkalmazása után az 5. napon (6. ábra).

Ugyanezt a logikát követve az ultrahang a MYB gén esetében is sikeresen kondicionált ingerként (CS) szolgált. A molekuláris adatok alapján az ultrahang az S1 időpontban nem volt hatással az MYB génexpressziójára, míg a szárazság a célgén intenzív alulszabályozását váltotta ki (4. ábra). A kondicionálás (US+D) után – a TIP-hez hasonlóan – az ultrahang (US) önmagában is kiváltotta a feltételes választ (CR). Az asszociatív memória létezése egyértelműen bizonyított, mivel statisztikailag teljesen ugyanazt az expressziós intenzitást mértük (nem volt szignifikáns különbség) a 7. napon (S4), amikor a kondicionált növények az 5. napon szárazságkezelést (US+D és D) vagy ultrahangos kezelést (US+D és US) kaptak (6. ábra).

Fordított inger-asszociációban az EX gén esetében a szárazság (D) szolgált semleges jelként (CS), az ultrahang (US) pedig feltétlen ingerként (UCS) funkcionált, mivel az US-jel az EX szignifikáns felülszabályozását okozta (4. ábra). 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 az 5. napon –, szignifikánsan eltértek egymástól a 7. napon (S4). Feltételezhetően ez a különbség az ultrahangra adott késleltetett válasznak tudható be, mivel az EX az 5. napon (S2) eleve túlexpresszáldott 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 szignifikáns felülszabályozását okozta, ami egyértelműen arra utal, hogy a szárazság sikeresen kiváltotta a feltételes választ (CR), igazolva az asszociáció kialakulását (6. ábra).

Ezzel szemben az ARGOS tekintetében, bár az US és az US+D kezelések esetében sikerült kimutatni a szomatikus transzkripció rövid távú emlékezet fenntartását (4. és 5. ábra), nem találtunk bizonyítékot a két inger közötti asszociáció kialakulására. Ezen hipotézis alapján azt kellett volna tapasztalnunk, hogy a 7. napra (S4) a kondicionálás után a szárazság (CS) kiváltja a feltételes választ (CR) (az ARGOS alulszabályozását), de az eredmények ettől teljesen eltérő mértékű és irányú expressziós szinteket mutattak, így ebben az esetben asszociáció kialakulása nem feltételezhető.

4. Az értekezés új tudományos eredményei

A *Solanum lycopersicum* L. cv. Micro Tom paradicsomon végzett molekuláris vizsgálatok eredményeként a növényi stressz-memória területén az alábbi új tudományos megállapítások kerültek rögzítésre:

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. Kutatásom során 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 molekuláris (transzkriptomikai) szinten, bizonyítva, hogy az alkalmazott kezelések nem csupán átmeneti reakciókat, hanem rövidtávú, intragenerációs emlékezetet váltottak ki.
4. A folyamat időbeli lefutását elemezve kimutattam 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 nézve a semleges inger önmagában is képes kiváltani a feltétlen ingerre jellemző specifikus génexpressziós választ. Eredményeimmel azt is alátámasztottam, hogy ez az asszociációs 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.

5. Az eredmények gyakorlati hasznosíthatósága

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. Az asszociatív tanulás 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. aszály) bekövetkezte előtt.
3. A meghatározott 7–10 napos transzkripciós memória-intervallum alapján optimalizálható a stresszkezelési protokollok időzítése. A mezőgazdasági gyakorlatban ez segítséget nyújt az ismételt kezelések vagy az öntözési ciklusok hatékonyabb tervezéséhez, elkerülve a növények habituációját (hozzászokását) vagy éppen kihasználva a szenzitizáció (érzékenyítés) előnyeit.
4. A transzkripciós memória és a DNS-metilációs 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 környezeti alkalmazkodását.
6. A molekuláris habituáció azonosítása jelentős gyakorlati relevanciával bír, mivel igazolja, hogy a növények kondicionálása révén megelőzhető az ismételt stresszhatások okozta felesleges energiaveszteség 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.

6. Irodalomjegyzék (felhasznált irodalom)

1. 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.
2. 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.
3. 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
4. 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.
5. 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.
6. 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
7. 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
8. 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.
9. 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
10. 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

11. Garai, S. – Sopory S.K.: 2023. Memory of plants: present understanding. *Nucleus*. 66(1): 47-51. DOI:10.1007/s13237-022-00399-y
12. 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
13. 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
14. 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
15. Gelaw, T. A. – Sanan-Mishra, N.: 2021. Non-coding RNAs in response to drought stress. *Int. J. Mol. Sci.* 22: 12519. DOI:10.3390/ijms22212519.
16. Hilker, M. – Schmülling, T.: 2019. Stress priming, memory, and signalling in plants. *Plant Cell Environ.* 42(3): 753-761. DOI: 10.1111/pce.13526. PMID: 30779228.
17. 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.
18. 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
19. 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
20. 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.
21. 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
22. 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.

23. 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.
24. 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
25. 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.
26. 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
27. Trewavas, A.: 2014. Instinct, reflex and conditioned behaviours: characteristics of plant behaviour? [In: Plant behaviour and intelligence] Oxford University Press. 243-254.
28. 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.
29. 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.
30. 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
31. 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

7. Publikációk az értekezés témakörében



**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

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

Nyilvántartási szám: DEENK/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

Idegen 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 rozmaryn) 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.**, Kolesznyk, 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. Tálas, L., Kiss, A., **Farkas, D.**, Deák, A. G., Szemán-Nagy, G.: Az Aspergillus Fumigatus
tapadási és növekedési dinamikájának hosszútávú videomikroszkópos vizsgálata.
In: Tavaszi 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.

