

# Az oxidatív stressz és az antioxidánsok szerepe a növény/patogén kapcsolatban

Király Zoltán

MTA Növényvédelmi Kutatóintézete, Budapest

## BETEGSÉGEK ÉS AZ OXIDATÍV STRESSZ

A növényi betegségek ill. a betegség-ellenállóképesség élettani, biokémiai ill. molekuláris biológiai mechanizmusának megértése azért kap központi szerepet a jövőben, mert a stressz- és fertőzés-rezisztens növények nemesítése kulcsszerepet fog játszani a termékek fokozásában, mégpedig olyan módon, amely csak korlátozottan használ peszticideket, és nem sérti a természetvédelem és a humán- ill. állategészségvédelem követelményeit.

Az utóbbi két évtizedben nyilvánvalóvá vált, hogy számos emberi- és állatbetegség közvetlen okozói a reaktív oxigénfajták, amelyek egy része igen reakcióképes gyök ( $O_2^{\bullet-}$ , azaz szuperoxid anion,  $OH^{\bullet}$ , azaz hidroxil szabadgyök). A hidrogén peroxid ( $H_2O_2$ ) nem gyökös formájú oxigénfajta, amelynek újabban ugyancsak nagy szerepet tulajdonítanak az élővilág károsításában is. Érdekes, hogy azok a humán és növényi betegségek, amelyekben a káros oxigénfajtáknak szerepe van, mind sejt- ill. szöveti nekrozissal járnak együtt.

Az utóbbi években számos laboratóriumban bizonyították, hogy a stresszek és fertőzések által okozott növényi nekrotikus tünetek (azaz a növényi sejt- és szöveti elhalások) is kapcsolatba hozhatók a reaktív oxigénfajták káros hatásaival (Doke, 1983; Király et al., 1993; Levine et al., 1994; Baker and Orlandi, 1995; Lamb and Dixon, 1997; Bolwell, 1999; McDowell and Dangl, 2000; Fodor et al., 2001). A sejt- ill. szöveti elhalás élettani folyamatát az 1. táblázat foglalja össze vázlatosan.

1. táblázat

A fertőzések, stresszek és herbicidek által okozott élettani változások növényekben

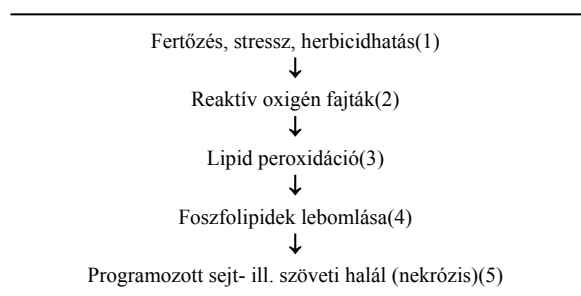


Table 1: Physiological changes in plants caused by infections, stresses and herbicides

Infection, stress or herbicide actions(1), Reactive oxygen species(2), Lipid peroxidation(3), Degradation of phospholipids(4), Programmed cell- and tissue necrotization(5)

Az a szignalizációs folyamat azonban, amely a fertőzéstől vagy stressz-hatástól a reaktív oxigénfajták képződéséhez vezet, alig ismeretes ill.

alig kutatott terület. Az egyik hipotézis szerint a szignál-sorozatban fontos kiinduló szerepet visznek a protein kinázok (Levin et al., 1994; Xing et al., 1996; Ádám et al., 1997; Ligterink et al., 1997; Suzuki and Shinshi, 1995). Ez a folyamat analóg az emlősök T-sejtjeiben aktiválódó tiroxin-kináz mechanizmusával összehasonlítva. Ezeknek az enzimeknek az aktiválása beindítja az NADPH-oxidáz működését, amelynek ismert szerepe van a reaktív oxigén fajták képzésében (amilyen pl. a szuperoxid anion, a hidroxil szabadgyök és a hidrogénperoxid).

A fertőzések és stresszek hatására képződött reaktív oxigénfajtáknak két féle hatást lehet tulajdonítani: sejthalált okoznak a fertőzött vagy stresszek által károsított gazdanövényekben, de a fertőzést előidéző patogéneknél is (Király et al., 1991, 1993; Tzeng and DeVay, 1993). Ez a kettős hatás analógnak tekinthető a humán neutrofilek fagocitózisával összehasonlítva (Morel et al., 1991).

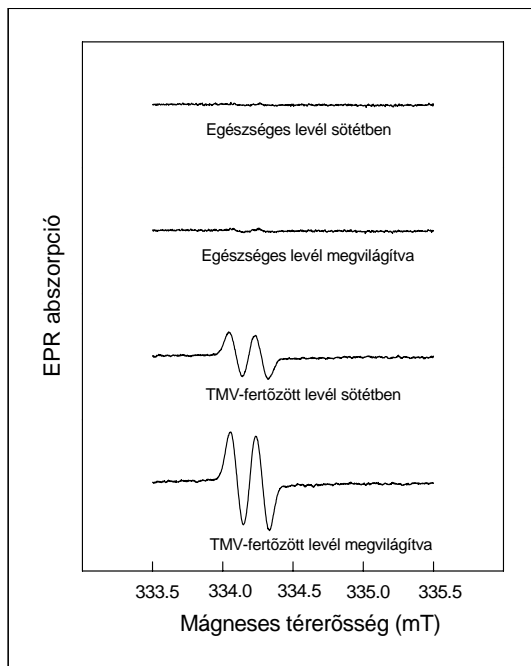
## ANTIOXIDÁNSOK

Az utóbbi két évtizedben ismertté vált mind az állat-mind a növényéletben, hogy a gazda szervezetek károsításával együtt járó sejtelhalást vagy az elhalást okozó reaktív oxigénfajtákat ellensúlyozni tudják az antioxidánsok. Ezek lehetnek enzimikusak vagy nem enzimikus antioxidánsok. Aktiválódásukat stresszek, ill. herbicid-kezelések és fertőzések egyaránt előidézhetik. Mittler, et al. (1999) beszámoltak arról, hogy olyan transzgenikus növények, amelyekben két antioxidáns RNS-e antiszensz formában volt jelen, szélsőségesen érzékenyvé váltak a kórokozók fertőzéseivel szemben, mert a növény a reaktív oxigénfajtákat csak igen kis mértékben tudta detoxifikálni. Más szóval a transzgenikus növény fogékonyabbá vált a szöveti nekrotizálódással szemben, amelyet a fertőzések idéztek elő. Heiser és Elstner (1998) helyesen hangsúlyozta azt a tényt, amely szerint fertőzések és stresszek esetében az egyensúlyt biztosító antioxidáns kapacitás fokozatosan csökken, és az oxigén szabadgyökök károsító hatása dominánssá válik a növényekben. Ha azonban az antioxidatív folyamatok aktívabbá válhatnak, a fertőzés okozta szöveti nekrotizálódás kontroll alá kerül. A növény károsítása tehát attól függ, hogy megmarad-e az egyensúly a reaktív oxigénfajták képződése és az antioxidáns enzimek aktivitása ill. a nem enzimikus antioxidánsok (pl. aszkorbinsav, glutation, E-vitamin stb.) magas szintje között.

Az aszkorbinsav különösen nagy mennyiségben fordul elő a növényekben (1-5 mM a levelekben és 25 mM a kloroplasztiszokban). Igen fontos antioxidánsnak tekinthető, amelynek központi szerepe van abban, hogy megvédje a növényi sejteket

a reaktív oxigénfajták károsításától. A szabadgyököket közvetlenül közömbösíti, miközben monodehidroaskorbinsav gyökké (MDA) oxidálódik. Ha a növényt valamilyen stressz éri, az MDA mennyisége felszaporodik, és jelzi a stressz előfordulását *in vivo* is (Heber et al., 1996). Az MDA az oxidatív stressz szignáljának tekinthető. Kimutattuk azt, hogy az intakt levél-szegmentumokban mért MDA szabadgyök igen nagy mértékben felhalmozódik a dohány mozaik vírus (TMV) által fertőzött nekrotikus tüneteket mutató dohánylevelekben (Fodor et al., 2001). Ez az első eset arra nézve, hogy egy kórokozó által indukált káros oxidatív stresszt jelezni, ill. *in vivo* mérni is lehet a növényben az elektron spin rezonancia (ESR) spektroszkópos eljárás segítségével (1. ábra). Ezt megelőzően igen vitatott megállapítás volt az, hogy az oxidatív stressznek *in vivo* szerepe van a növényi vagy állati szervezet károsításában. Halliwell és Gutteridge (1999) meg is állapítja azt, hogy „gyakran csupán egyetlen evidencia bizonyítja azt, hogy az oxidatív stressz *in vivo* is előfordul, mégpedig az, hogy az antioxidáns védekezési rendszerek aktivitása is fokozódik”. Az antioxidáns védekezési rendszerek a káros reaktív oxigénfajták ellen védik a sejtet ill. a szöveteket.

1. ábra: A monodehidroaskorbát EPR spektruma a Xanthi-nc dohány levelekben, 2 nappal a TMV-vel történt fertőzés után



A kontroll leveleket pufferrel dörzsöltük be(1)

Figure 1: EPR spectra of MDA in Xanthi-nc tobacco leaves 2 days after inoculation with TMV

Leaves of control plants were rubbed with buffer(1)

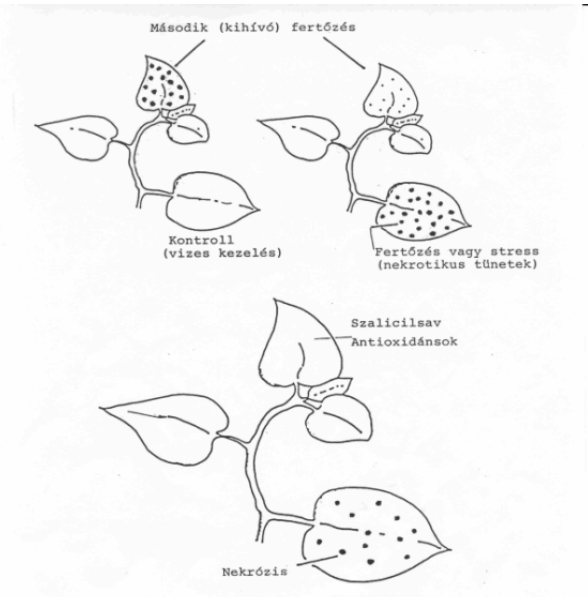
Az MTA Növényvédelmi Kutatóintézetében működő kórélettani team irányította rá a figyelmet arra, hogy a nekrotrof kórokozók által előidézett sejtelhalási folyamatokat a fokozott antioxidáns aktivitás fékezi, csökkenti. Ennek a gyakorlati

növénynevelés szempontjából nagy jelentősége lehet, mert elméletileg mód van arra, hogy nagy antioxidáns-aktivitású sejteket ill. növényeket szelektáljunk, akár *in vitro* is, vagy géntranszformációval olyan transzgenikus növényeket állítsunk elő, amelyek csökkentik a reaktív oxigénfajták károsítását. Újabb kutatásaink szerint az antioxidánsoknak fontos szerepe van abban is, hogy egy egyelőre elméleti kérdést, a szisztémikus szerzett rezisztencia (SAR) mechanizmusát jobban megértjük.

## A SZISZTEMIKUS SZERZETT REZISZTENCIA (SAR) ÉS AZ ANTIOXIDÁNSOK

A SAR lényege (2. ábra) az, hogy ha egy növényi szervet, pl. levelet egy nekrotizáló patogénnel fertőzünk, vagy valamilyen más, abiotikus ágenssel kezelünk, amely szöveti elhalást idéz elő, a távol eső levelek ellenállóvá válnak egy következő második fertőzéssel szemben, amelyet valamilyen nekrotrof kórokozó idéz elő. Az első stressz ellenállóságot idéz elő egy következő stresszel (fertőzéssel) szemben. Ha a humán-ill. állati szervezeteknek van immunmemóriájuk, ehhez hasonlóan a növényi szervezeteknek van stresszmemóriájuk. A távhatású (szisztémikus) rezisztencia (SAR) elsősorban nekrotizáló patogénektől szemben érvényesül. A SAR indukálása szintén nekrotikus ágensekhez (pl. nekrotrof patogénekhez) van kötve. A rezisztencia abban nyilvánul meg, hogy a távoli levelekben a szisztémikus hatás következtében az ún. kihívó (második) fertőzés nekrotikus tünetei visszaszorulnak. Valójában a nekrotizálódást gátolja, szorítja vissza valami. Egy svájci és egy amerikai kutatócsoport 12 évvel ezelőtt megállapította, hogy a szalicilsav (SA)-tartalom mind az először fertőzött levelekben, mind a távol eső, még fertőzetlen levelekben felhalmozódik (Malamy et al., 1990; Métraux et al., 1990). Ennél nem sokkal többet tudunk a szisztémikus rezisztencia biokémiai mechanizmusáról. Néhány évvel később (Fodor et al., 1997) rámutattunk arra, hogy a stimulálódott antioxidatív folyamatok lehetnek az okai annak, hogy a távol eső, rezisztenssé vált levelekben a későbbi fertőzés okozta nekrotizálódás visszaszorul. A távoli, rezisztenssé vált levelekben a glutationszint megemelkedett, a glutation-reduktáz és a glutation S-transzferáz aktivitása, valamint a szuperoxid-dizmutáz (SOD) aktivitása fokozódott. Az antioxidánsok együttes hatása tehát gátolta a rezisztens levelekben a vírusfertőzés okozta nekrotizálódást, amelyet a reaktív oxigénfajták idéztek elő. Az antioxidánsok aktivitásában észlelt fokozódás az első fertőzés után kb. 2 héttel később következett be, éppen akkor, amikor a távoli, rezisztenssé vált levelekben a szisztémikus szerzett rezisztencia (SAR) kialakult. Az ok-okozati összefüggés arra enged következtetni, hogy a SAR előidézésében az antioxidánsoknak van legalábbis fő szerepe. Érdekes, hogy a dohány leveleibe injektált szalicilsav (SA) is fokozta az antioxidánsok aktivitását.

2. ábra: Az alsó levél fertőzése vagy az ott ható egyéb stressz indukált rezisztenciát idéző a felső levelekben egy következő (kihívó) fertőzéssel vagy stressz-hatással szemben



A felső levelekben még a kihívó fertőzés előtt felszaporodik a szalicilsav és aktiválódnak az antioxidánsok(2)

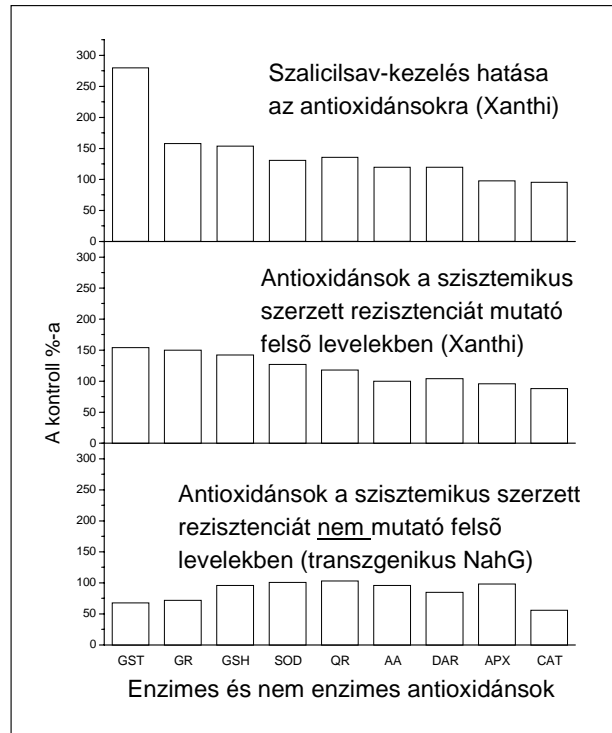
Figure 2: Infection or stress on the lower leaf induces resistance in the upper leaves against a challenge (second) infection or stress

In the upper leaves the accumulation of the salicylic acid and activation of antioxidants occur well before the challenge infection(2)

A kérdést szeretnénk volna eldönteni egy más irányú vizsgálattal is. Gaffney et al. (1993) már előzőleg kimutatta, hogy egy olyan transzgenikus növény, amely a SA akkumulálására képtelen, nem tudja megvalósítani a SAR jelenségét sem. Dohányba transzformáltak egy baktérium gént (*nahG*), amely a szalicilsav-hidroxiláz enzimet kódolja. Ez az enzim a szalicilsavat katekollá alakítja át. TMV fertőzés után a transzgenikus dohány nem halmozott fel szalicilsavat, és nem mutatta a szisztémikus szerzett rezisztenciát sem. Mi kimutattuk, hogy a NahG dohányban az első, ún. indukáló fertőzés után nem aktiválódnak az antioxidánsok a távoleső, még fertőzetlen levelekben, mint ahogyan azt a rezisztenciára képes, nem transzgenikus Xanthi-nc dohányban észleltük, amelyben az első fertőzés hatására a SA-képzés is bekövetkezik. A transzgenikus NahG dohányban több antioxidáns enzim a vírusfertőzés után nem stimulálódott, hanem csökkent (3. ábra).

Összefoglalva: a szalicilsav hatására fertőzés után aktiválódnak az antioxidáns rendszerek, amelyek hatástalanítják, legalábbis részben, az oxigén szabad gyökök (az oxidatív stressz) által beindított nekrotizálódást, vagyis rezisztenssé teszik a távoli leveleket egy második, ún. kihívó fertőzéssel szemben.

3. ábra: Az antioxidánsok változásai a Xanthi dohányban és a transzgenikus NahG dohányban a szalicilsav-kezelés illetve a szisztémikus szerzett rezisztencia indukálása után



Az indukálás az alsó levélen kifejlődő szöveti nekrotizisok illetve a szalicilsav hatására indul be a Xanthi dohány esetében. A transzgenikus NahG dohány nem halmoz fel szalicilsavat, és az antioxidánsok sem aktiválódnak(3)

Figure 3: Alterations of several antioxidants in Xanthi tobacco and in the NahG transgenic plants after the salicylic acid treatment or after induction of systemic acquired resistance

This induction is caused by tissue necroses developing on the lower leaf as well as by the treatment with salicylic acid. Transgenic NahG tobacco cannot accumulate salicylic acid and the antioxidants cannot be activated(3)

### REAKTÍV OXIGÉNFAJTÁKKAL SZEMBEN ELLENÁLLÓ NÖVÉNYEK IN VITRO SZELEKCIÓJA

Olyan dohánynövényeket, amelyek ellenállóak voltak a paraquat által képzett reaktív oxigénfajtákkal szemben, elsőként Furusawa et al. (1984) szelektált *in vitro* kísérletekben. Később mi kimutattuk (Barna et al., 1993), hogy ezeknek a növényeknek ellenállósága a káros oxigénfajták ellen korrelációt mutat olyan fertőzésekkel szemben, amelyek nekrotikus tüneteket idéznek elő a fogékony dohányban. Azt észleltük, hogy ezek a rezisztens növények ellenállóak többféle biotikus stresszel (fertőzéssel) és abiotikus stresszel szemben is, azaz multirezisztenciával rendelkeznek. A biotikus stresszek között szerepelt a *Botrytis cinerea*, a dohány nekrotizáló vírus (TNV) és egy toxin (fuzarinsav). A rezisztens típusban a fertőzés ill. a toxin által előidézett nekrotikus tünetek visszaszorultak. Az abiotikus stresszek a következők

voltak: hideghatás, hőkárosítás, a HgCl<sub>2</sub> által előidézett szöveti nekrozis hatás és a paraquat által előidézett nekrotikus károsodás. Kiderült, hogy a reaktív oxigénfajtákkal szemben rezisztens dohány és egyes gyomok antioxidáns kapacitása sokkal nagyobb, mint a fogékony kontroll növényekéi (Shaaltiel et al., 1998; Gullner et al., 1991, 1995; Barna et al., 1993). Később ugyanilyen kísérleti terv alapján burgonya kallusz-szöveteket szelektáltunk olyan agar táptalajon, amely paraquatot tartalmazott, tehát amelyben folytonosan képződtek a káros oxigénfajták. A szelekciós eljárást vázlatosan a 2. táblázat mutatja be.

2. táblázat

**A reaktív oxigénfajtákkal szemben rezisztens növények ellenállnak a stresszek és fertőzések okozta nekrotikus tünetekkel szemben is**

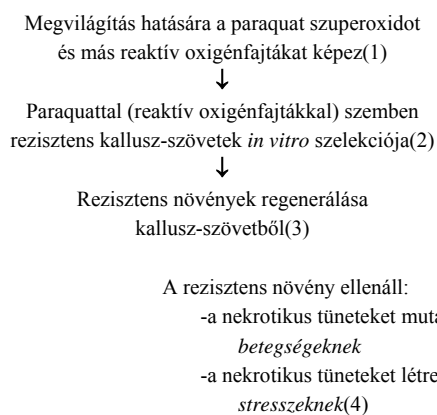


Table 2: Plants resistant to reactive oxygen species are also resistant to necrotic symptoms caused by infections and stresses

Under illumination the paraquat produces several reactive oxygen species(1), *In vitro* selection of callus tissues resistant to paraquat (to reactive oxygen species)(2), Regeneration of whole plants from the resistant callus tissues(3), The regenerated plants are resistant to diseases or stresses which cause necrotic symptoms(4)

Ebben az esetben is a fokozott antioxidáns-kapacitásnak van szerepe az oxidatív stressz ill. az általa okozott nekrotikus tünetek csökkentésében vagy eliminálásában. A valószínű mechanizmust a 3. táblázat mutatja vázlatosan.

3. táblázat

**Az antioxidánsok szerepe a nekrozist okozó fertőzések és stresszek elleni növényi rezisztenciában**

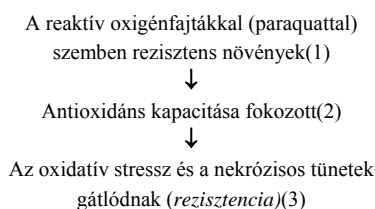


Table 3: Role of antioxidants in resistance to stresses and infections that cause necrotizations

Resistant plants to reactive oxygen species (paraquat)(1), their antioxidant capacity is increased(2), inhibited oxidative stress and necrotic symptoms (resistance)(3)

Megjegyzendő, hogy a fentiekben vázolt új nemesítési elképzelés ill. eljárás alapján újabban Haydu Zsolt (FVM Szőlészeti és Borászati Kutatóintézete, Kecskemét) állított elő paraquattal szembeni szelekció alapján lisztharmat-ellenálló szőlőtörzseket, Barnabás Beáta és munkatársai (MTA Mezőgazdasági Kutatóintézete, Martonvásár) pedig *in vitro* szelekció alapján állított elő paraquat-rezisztens kukoricavonalakat.

**TRANSZGENIKUS NÖVÉNY ELŐÁLLÍTÁSA, AMELYNEK REZISZTENCIÁJA A FERRITIN GÉN MAGAS SZINTŰ KIFEJEZŐDÉSÉTŐL FÜGG**

A növényi rezisztencia létrehozásának egy másik megközelítési módja olyan transzgenikus növény nemesítése, amely a szervezetben lévő szabad vasat megkötő ferritin gént magas szinten fejezi ki. Az eljárás elméleti alapja a következő: Ismert tény, hogy a legkárosabb szabad gyök, az OH<sup>•</sup> (hidroxil-szabadgyök) képződésének legfontosabb útja a Fenton-reakción keresztül bonyolódik le (Fe<sup>2+</sup> + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> → Fe<sup>3+</sup> + OH<sup>-</sup> + OH<sup>•</sup>). Mind a növényi, mind az állati szervezetekben a Fenton-reakcióhoz szükséges szabad vas hozzáférhető ugyan, de mennyisége igen kicsi. A szabad vas túlnyomó többségét a ferritin gén terméke, a ferritin fehérje megkötö és továbbszállítja. Ha a ferritin gén működése nem kielégítő, sok szabad vas áll rendelkezésre a Fenton-reakció lebonyolódásához, azaz viszonylag sok káros OH<sup>•</sup> keletkezik, amely sejt- ill. szöveti nekrozisokat idéz elő. Ha azonban a ferritin gén magas szinten kifejeződik, a Fenton-reakció és az általa okozott károsítások mérséklődnek, vagyis fertőzések és stresszek hatására kisebb mértékű lesz a szöveti elhalás (nekrozis). A ferritin gén kedvező működése valójában úgy fogható fel, mint egy primér antioxidatív védekezési mechanizmus. Fel lehet tételteni tehát, hogy azok a transzgenikus növények, amelyek ezt a gént magas szinten kifejezik, betegségs- és stressz-rezisztensek lesznek. Az MTA Szegedi Biológiai Kutatóintézetében Dudits Dénes és munkatársai a ferritin gént lucernából izolálták, dohányba és burgonyába transzformálták. A transzgenikus dohánytörzsek ellenállóságát abiotikus és biotikus (fertőzés által előidézett) stresszekkel szemben vizsgáltuk (Deák et al., 1999). Ezek a növények normális fotoszintetikus funkciót mutattak és az oxigén szabadgyök toxicitással szemben is ellenállóak voltak. Az előállított transzgenikus vonalak utódnövényei is azt mutatták, hogy a ferritin géntermék fokozottan halmozódik fel a levelekben. A fokozott betegségezisztenciát az igazolta, hogy három, nekrotikus tüneteket előidéző kórokozó fertőzése után a nekrotikus levélfoltok száma csökkent és a nekrotikusok mérete is kisebb volt. A kórokozók a következők voltak: dohány nekrozis vírus (TNV) és két gombakórokozó, az *Alternaria alternata* és a *Botrytis cinerea*. Ennek az új „növénynemesítési” eljárásnak az alapelvét és egyes lépéseit a 4. táblázat mutatja be vázlatosan.

**A ferritin gén termékének hatása a növényi betegség – ill. stressz-rezisztenciára**

A ferritin gént magas szinten kifejező növény(1):

- a szabad vasat lekötő(2)
- gátolja a Fenton-reakciót(3)
- gátolja az OH<sup>\*</sup> képződését(4)
- gátolja a szöveti nekrotizisokat, amelyeket(5)
  - a paraquat(6)
  - a NaCl(7)
  - a TNV(8)
  - az *Alternaria alternata*(9)
  - a *Botrytis cinerea*(10)
  - a fuzarinsav toxin idéző(11)
- fokozza a rezisztenciát a nekrotikus tünetekkel szemben(12)

Table 4: Effect of the gene ferritin on plant resistance to diseases and stresses

Plant expressing the gene ferritin on a high level(1), binds the free iron(2), inhibits the Fenton reaction(3), inhibits the production of OH<sup>\*</sup>(4), inhibits tissue necrotization(5), caused by paraquat(6), NaCl(7), TNV(8), *Alternaria alternata*(9), *Botrytis cinerea*(10), the toxin fusaric acid(11), increases resistance to necrotic symptoms(12)

Összefoglalva azt mondhatjuk, hogy az intracelluláris szabad vas lekötése a ferritin által

védekezést jelent a Fenton-reakcióval ill. a OH<sup>\*</sup> képződésével szemben, amelynek eredménye az, hogy a növény védve lesz azokkal a nekrotizisokkal szemben is, amelyeket fertőzések és stresszek idéznek elő. Más szavakkal a növény rezisztenssé válik.

A növények rezisztenciájának növelése és kihasználása a leghatásosabb módszer az ún. környezetkímélő növényvédelemben, amely célul tűzte ki a növényvédőszeresek használatának visszaszorítását ill. részleges megszüntetését. A rezisztencia-nemesítésnek eddigi, szokványos módszerei (*in vivo* szelekció, keresztezés) jók, de hosszadalmasak és körülményesek. Ezért fontos az, hogy új rezisztencia-nemesítési eljárásokat vezessünk be a környezetkímélés céljának elérése érdekében. A fenti kísérletek azt mutatják, hogy két új eljárást is érdemes lesz a jövőben alkalmazni a nemesítésben. Az egyik módszerrel transzgenikus növényeket állíthatunk elő a ferritin gén magas szintű expressziójának biztosításával, a másik módszer, az *in vitro* szelekciós és növényregenerációs eljárást alkalmazza, hogy nagy antioxidáns kapacitású növényeket állítson elő. Ez utóbbi esetben tehát a növény genetikai módosítása nem géntvitellel, hanem a spontán mutációk *in vitro* szelektálásával szövettenyészetekben bonyolódik le.

**IRODALOM**

- Ádám, A. L. et al. (1997): Rapid and transient activation of a myelin basic protein kinase in tobacco leaves treated with harpin from *Erwinia amylovora*. Plant Physiol., 115. 853-861.
- Baker, C. J.-Orlandi, E. W. (1995): Active oxygen and plant pathogenesis. Annu. Rev. Phytopathol., 33. 299-321.
- Barna, B. et al. (1993): Juvenility and resistance of a superoxide-tolerant plant to diseases and other stresses. Naturwissenschaften, 80. 420-422.
- Bolwell, G. P. et al. (1999): Role of active oxygen species and NO in plant defence responses. Curr. Opin. Plant Biol., 2. 287-294.
- Deák, M. et al. (1999): Plant ectopically expressing the iron-binding protein, ferritin, are tolerant to oxidative damage and plant pathogens. Nature Biotech., 17. 192-196.
- Doke, N. (1983): Involvement of superoxide anion generation in the hypersensitive response of potato tuber tissues to infection with an incompatible race of *Phytophthora infestans* and to the hyphal wall components. Physiol. Plant Pathol., 23. 345-357.
- Fodor, J. et al. (1997): Local and systemic responses of antioxidants to tobacco mosaic virus infection and to salicylic acid in tobacco. Plant Physiol., 114. 1443-1451.
- Fodor, J. et al. (2001): *In vivo* detection of tobacco mosaic virus-induced local and systemic oxidative burst by electron paramagnetic resonance spectroscopy. Plant Cell Physiol., 42. 247-251.
- Furusawa, I. et al. (1984): Paraquat-resistant tobacco calluses with enhanced superoxide dismutase activity. Plant Cell Physiol., 17. 1247-1254.
- Gaffney, T. et al. (1993): requirement of salicylic acid for the induction of systemic acquired resistance. Science, 261. 754-756.
- Gullner, G. et al. (1991): Enhanced inducibility of antioxidant systems in a *Nicotiana tabacum* L. biotype results in acifluorfen resistance. Z. Naturforsch., 46C. 875-881.
- Gullner, G. et al. (1995): Induction of glutathione S-transferase activity in tobacco by tobacco mosaic virus infection. Pestic. Sci., 45. 290-291.
- Halliwel, B.-Gutteridge, J. M. C. (1999): Free Radicals in Biology and Medicine. 3<sup>rd</sup> ed. Oxford Univ. Press.
- Heber, U. et al. (1996): Monodehydroascorbate radical detected by electron paramagnetic resonance spectrometry is a sensitive probe of oxidative stress in intact leaves. Plant Cell Physiol., 37. 1066-1072.
- Heiser, I.-Elstner, E. F. (1998): The biochemistry of plant stress: oxygen activation as a basic principle. Ann. N.Y. Acad. Sci., 851. 224-233.
- Király, Z. et al. (1991): Pathophysiological aspects of plant disease resistance. Acta Phytopathol. Entomol. Hung., 26. 233-250.
- Király, Z. et al. (1993): Effect of oxy free radicals on plant pathogenic bacteria and fungi and on some plant diseases. In: Gy. Mózsik et al. (eds.) Oxygen Free Radicals and Scavengers in the Natural Sciences. Akad. Kiadó, Budapest, 9-19.
- Lamb, C.-Dixon, R. A. (1997): The oxidative burst in plant disease resistance. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 48. 251-257.
- Levine, A. et al. (1994): H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive response in bean. Cell, 79. 583-593.
- Ligterink, W. et al. (1997): Receptor-mediated activation of a MAP kinase in pathogen defense of plants. Science, 267. 2054-2057.
- Malamy, J. et al. (1990): Salicylic acid: a likely endogenous signal in the resistance response of tobacco to viral infection. Science, 250. 1002-1004.

- 
- McDowell, J. M.-Dangl, J. L. (2000): Signal transduction in the plant immune response. *Trends Biochem. Sci.*, 25. 79-82.
- Métraux, J. P. et al. (1990): Increase in salicylic acid at the onset of systemic acquired resistance in cucumber. *Science*, 250. 1004-1006.
- Mittler, R. et al. (1999): Transgenic tobacco plants with reduced capability to detoxify reactive oxygen intermediates are hyperresponsive to pathogen infection. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 96. 14165-14170.
- Morel, F. et al. (1991): The superoxide-generating oxidase of phagocytic cells: Physiological, molecular and pathological aspects. *Eur. J. Biochem.*, 201. 523-546.
- Shaaltheil, Y. et al. (1988): Cross tolerance to herbicidal and environmental oxidants of plant biotypes tolerant to paraquat, sulfur dioxide and ozone. *Pest. Biochem. Physiol.*, 31. 13-23.
- Suzuki, K.-Shinshi, H. (1995): Transient activation and tyrosine phosphorylation of a protein kinase in tobacco cells treated with a fungal elicitor. *Plant Cell*, 7. 639-647.
- Tzeng, D. D.-DeVay, J. E. (1993): Role of oxygen radicals in plant disease development. *Adv. Plant Pathol.*, 10. 1-34.
- Xing, T. et al. (1996): Regulation of plant defense response to fungal pathogens: Two types of protein kinases in the reversible phosphorylation of the host plasma membrane H<sup>+</sup> - ATPase. *Plant Cell*, 8. 555-564.