

A növényi stresszválasz genetikája

Dr. Szabados László, tudományos
tanácsadó

BBTE, Haladó Genetika

Jelen tananyag a Szegedi Tudományegyetemen
készült az Európai Unió támogatásával.

Projektazonosító: EFOP-3.4.3-16-2016-00014

Olvasási idő: 45m perc.

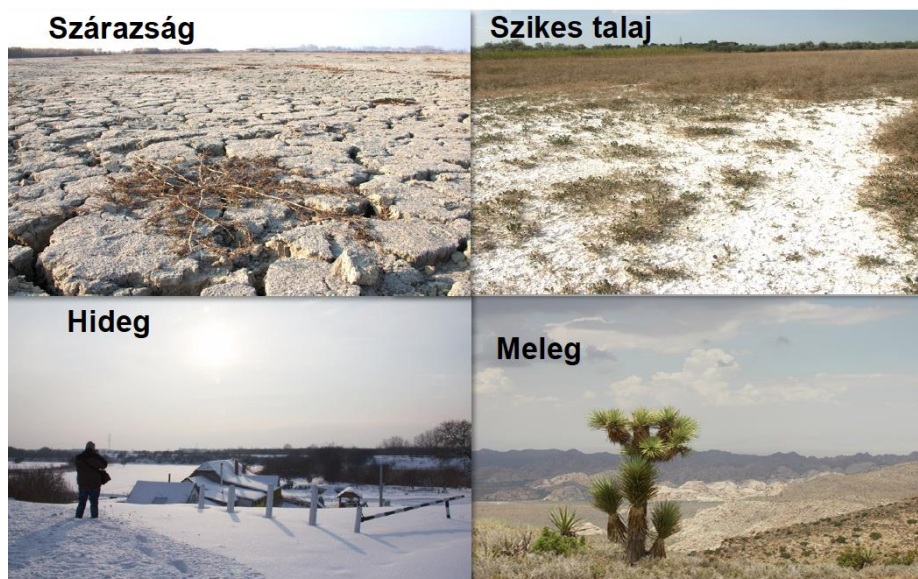
A növényi stresszválasz genetikája

Dr. Szabados László
Tudományos tanácsadó
MTA-SZBK, Szeged

Bevezetés

A magasabbrendű szárazföldi növények folyamatosan változó környezetnek vannak kitéve, ezáltal létfontosságú számukra a megfelelő alkalmazkodási képesség. Mivel a környezeti feltételek időnként lényegesen eltérhetnek az optimálistól, a növényeknek ezért extrém viszonyokhoz is alkalmazkodniuk kell. A növények bizonyos szintig képesek az extrém környezetben is túlélni, növekedni. A stressztűrő képesség mértékében ugyanakkor óriási eltérések vannak az egyes fajok között. Például a búza nem szereti a szikes talajt, az árpa az alacsony sótartalmú talajokon még nő, a sziksfű (*Salicornia*) vagy a sziki zsázsa (*Lepidium crassifolium*) viszont kimondottan kedveli a magas sótartalmú talajokat (1. Ábra).

A környezeti stressz élettani hatásait már több évtizede kutatják, óriási szakirodalma van ennek a témának. A stressztűrő képesség genetikai és molekuláris alapjai viszont még kevésbé ismertek. Az utóbbi évtizedekben sikerült a stresszválasz szabályozásának fontosabb elemeit megismerni, jórészt az *Arabidopsis thaliana* modellnövény intenzív kutatása révén. A Következő fejezetekben a stressztűrés genetikai és molekuláris szabályozásának legfontosabb elemeit próbálom összefoglalni.

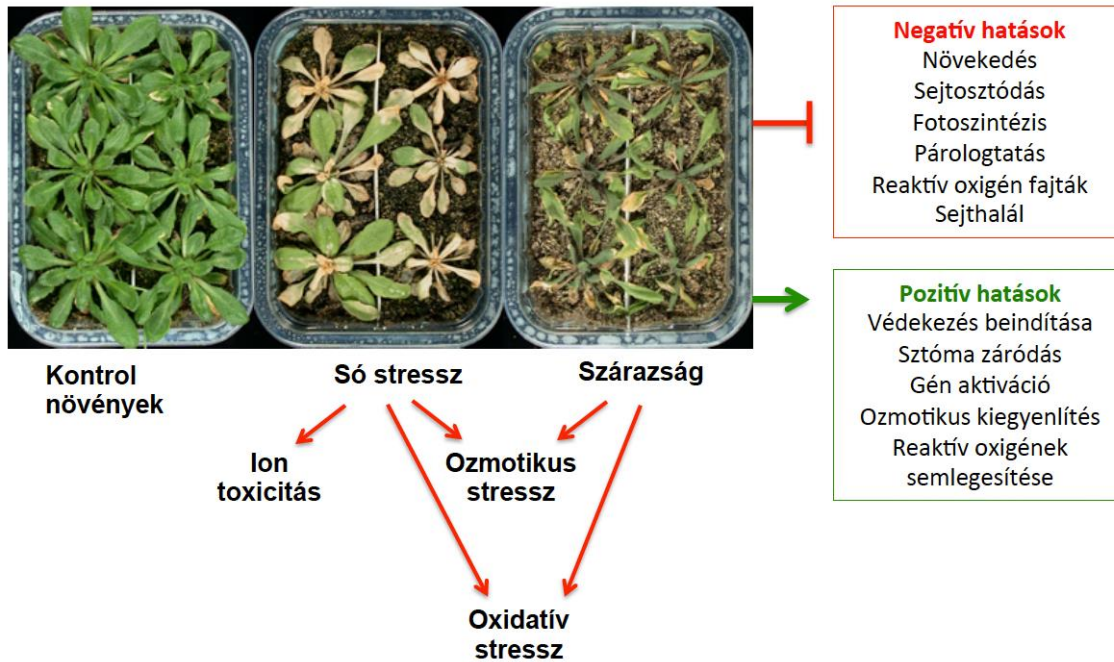


1. ábra. Extrém környezeti viszonyok. A növényeknek speciális alkalmazkodóképességre van szükségük hogy az ilyen környezetben túléljenek és fejlődjenek.

A stresszhatás következményei

A szárazság vagy só stressz több hasonló élettani következménnyel jár. Mindkét esetben dehidratáció lép fel, ami ozmotikus stresszhez vezet. A szárazság esetében a víz hiánya, míg a talaj magas sótartalma az ozmotikus nyomás miatt akadályozza a vízfelvételt. Az ozmotikus stressz önmagában is sejt károsodással jár, mert az elégtelen hirtatóló folyadék a fehérjék kicsapódásához, az enzimek működésének csökkenéséhez vezethet. A só stressz esetében a káros ionok magas koncentrációja (főleg a nátrium a klorid, és egyes nehézfémek) is sejt-károsító folyamatokhoz vezethet. A toxikus ionok gátolják az erre érzékeny fehérjék, enzimek működését, csökkenhetik a nélkülözhetetlen ásványi anyagok, ionok felvételét.

A stresszhatások következményeit már sokan, sok szempontból vizsgálták. A növényt károsító hatások eredményeként leáll a növekedés, a sejtosztódás, a növény fejlődése. A növény a növekedés mérséklésével a védekező mechanizmusok felé tereli energiáit. Fontos következmény a fotoszintézis gátlása, ami az elengedhetetlen metabolitok szintézisének, az energia ellátás csökkenéséhez vezet. Ezzel kapcsolatos az ozmotikus hatások következményeként a sztómák záródásának eredményeként a párologtatás, a levélen keresztüli vízvesztés csökkenése. A gázcsere gátlása elégtelen széndioxid felvételhez vezet, ami tovább csökkenti a fotoszintézist. A széndioxid asszimiláció részleges gátlása ugyanakkor nem jelenti a fény energia megkötésének csökkenését, ami az elektron áramlás gátlásához és reaktív oxigén fajták (szuperoxid, hidrogén peroxid, hidroxil gyökök stb.) felhalmozódásához vezet. A reaktív oxigén fajták oxidálhatják a különböző életfontosságú sejtalkotó makromolekulákat mint például a fehérjéket, zsírokat, nukleinsavakat, ezáltal egy másodlagos, úgynevezett oxidatív stressz kialakulásához vezethetnek. Az oxidatív folyamatok a növény további károsodásához vezetnek, amik extrém esetben sejthalált eredményeznek (Munns, 2002). A növény maga módján védekezik a káros hatások ellen. Ozmoprotektáns metabolitok (pl. bizonyos cukor fajták, egyes amino savak), segítik az ozmotikus stressz kiegyenlítését, a káros hatások mérséklését. Chaperon, hőszok típusú fehérjék bizonyos mértékig stabilizálják az érzékeny enzimek, struktúr fehérjék szerkezetét, késleltetve degradálódásukat. A reaktív oxigén fajták semlegesítéséért többféle mechanizmus felel. Az antioxidáns metabolitok mint például az aszkorbinsav, glutation, közvetlenül képesek az oxidáló molekulákat semlegesíteni. Az antioxidáns enzimek (pl. szuperoxid dizmutáz, aszkorbát peroxidáz, glutation reduktáz, stb.) a reaktív oxigének enzimikus semlegesítését végzik (2. Ábra). Mindezen folyamatok egy több szintű, koordinált genetikai/molekuláris szintű szabályozást igényelnek.



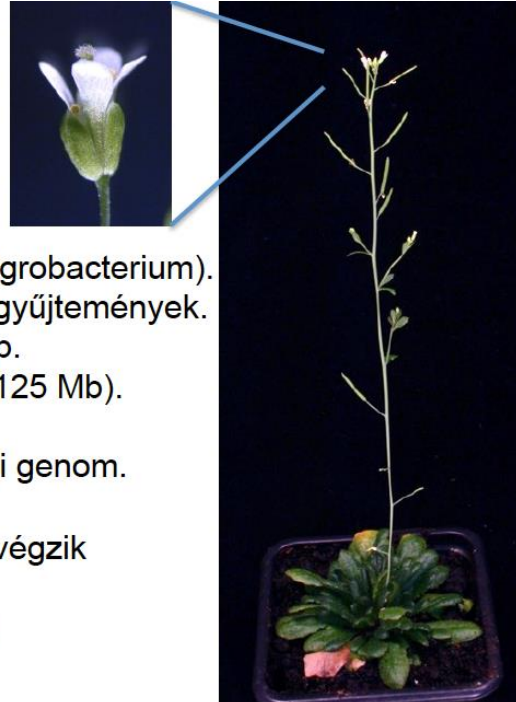
2. ábra. A só és szárzság stressz hatása a magasabbrendű növényekre. Az *Arabidopsis* modellt alkalmazó kísérletben a só stresszt NaCl locsolással, a szárzságot vízmegvonással értük el.

Genetikai alapok

Az extrém környezeti hatások során fellépő abiotikus stresszel szembeni védekezést számos gén szabályozza. A szárzság, hideg vagy hőtűrés, a szikéseken való túlélés képessége tipikusan sokgénés öröklődést mutat. Ezért klasszikus genetikai, nemesítési módszerekkel lehetetlen vagy legalábbis nagyon nehéz az ilyen típusú ellenállóképesség javítása. Hosszas és bonyolult nemesítési programok eredményeként ugyan sikerült egyes haszonnövények ellenállóképességét javítani, de a különbség általában kismértékű. Ugyanakkor a toleráns fajták sokszor kisebb hozamúak megfelelő körülmények között, például az öntözött földeken, jó minőségű talajokon mint az ott optimális hozamot nyújtó, de stressz érzékeny fajták. Az öröklődés bonyolultsága, valamint, a termesztett növények genetikai alkalmatlansága miatt egészen a közelmúltig az ellenállóképesség genetikai/molekuláris szabályozása alig volt ismert. Az áttörést egy általánosan elfogadott modell alkalmazása hozta meg: az *Arabidopsis thaliana* botanikai és gazdasági szempontból jelentéktelen növényfaj, de kiválóan alkalmas kísérleti célokra. Bár a 20. század első felében már folytak kutatások az *Arabidopsis* felhasználásával, az *Arabidopsis* alkalmazása növénybiológiai kísérletekben az 1990-es években terjedt el széles körben. Meg kell említeni, hogy a magyar származású Rédei György professzor volt az egyik úttörője az *Arabidopsis* genetikának, aki a 1960-70-es években végezte a genetikát megalapozó kísérleteit (Rédei, 1975) (3. Ábra).

Tulajdonságok:

- Család: Brassicaceae.
- Gyors életciklus: 3 hónap.
- Könnyű szaporítás, sok mag.
- 5, apró kromoszóma.
- Hatékony transzformációs módszerek (Agrobacterium).
- Sok mutáns, nagy, hozzáférhető mutánsgyűjtemények.
- Nagyfelbontású genetikai és fizikai térkép.
- Legkisebb ismert növényi genom méret (125 Mb).
- Ismert genomikus DNS szekvencia
2000: az első megszekvenált növényi genom.
2016-ban: 33.600 ismert gén
- Legtöbb alapkutatást az Arabidopsis-on végzik
- Pu-bMed: 64 ezer közlemény.
- Interneten elérhető komplex adatbázisok
(pl. TAIR, Araport).



3. ábra. Az Arabidopsis thaliana mint modellnövény.

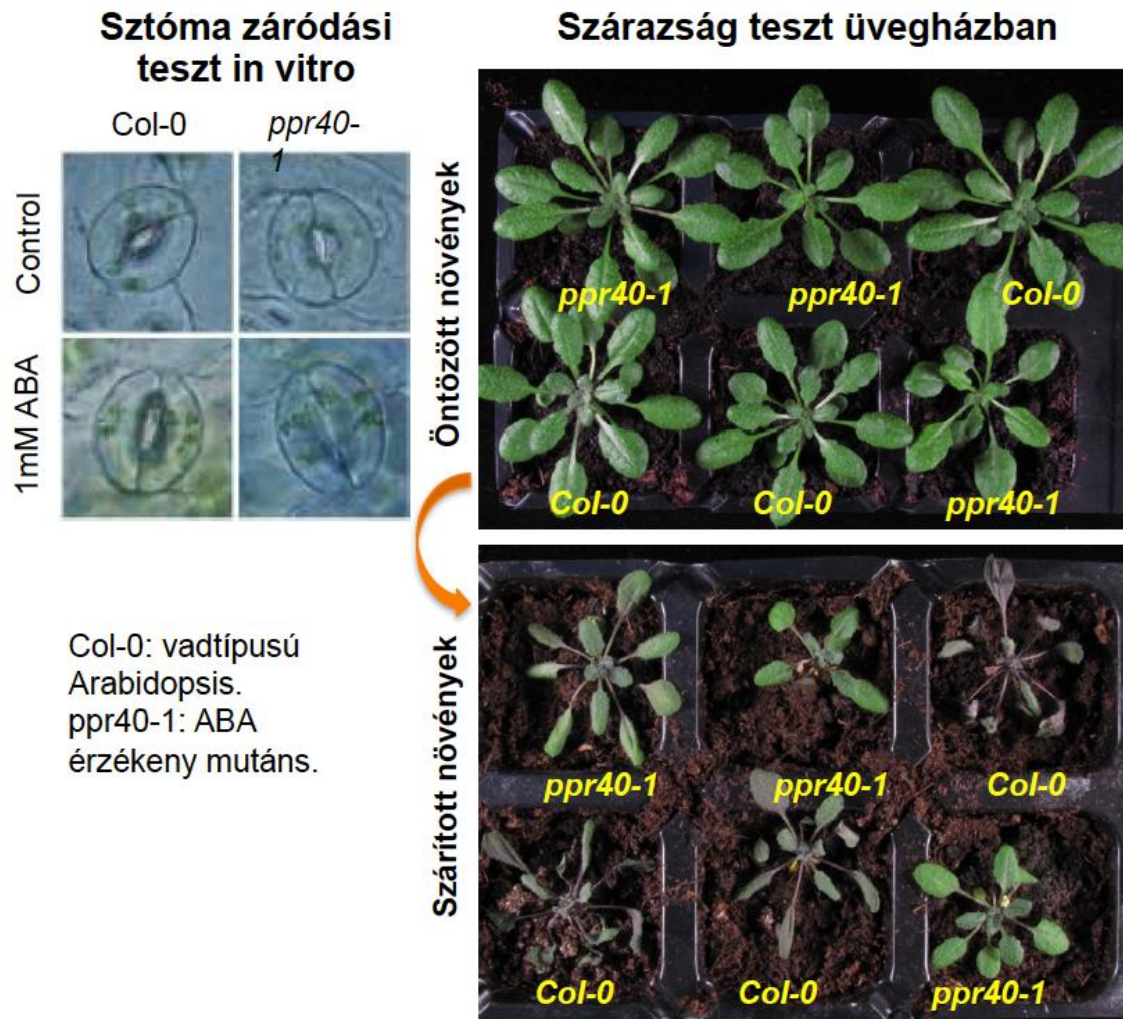
Miért vált az Arabidopsis egy általánosan elfogadott modellé? Az Arabidopsis-nak több olyan tulajdonsága van, ami alkalmassá teszi kísérleti célokra. Kisméretű, igénytelen, törzsás növény, egy négyzetméteren több száz is felnevelhető. Alapjában véve önbeporzó, ami megkönnyíti a genetikailag tiszta vonalak fenntartását. Emellett könnyű keresztezni, ami a genetikai analízis alapja. Gyors tenyészidejű növény, 3 hónap alatt is magot hoz, ami egy év alatt 4 generáció felnevelését is lehetővé teszi. Erre a növényfajra dolgozták ki a legkönnyebb, leghatékonyabb transzformációs módszert, ami lehetővé teszi a transzgenikus növények, inszerciós mutánsok tömeges előállítását, irányított gén analízist. Nem utolsósorban, az Arabidopsis rendelkezik a legkisebb genom mérettel a magasabbrendű növények között, ennek köszönhetően növények közül először az Arabidopsis genom szekvenciáját határozták meg (Arabidopsis, 2000). A koncentrált kutató munka eredményeként ma már több százezer mutáns áll rendelkezésre a gének funkcionális analíziséhez, több száz, különböző élőhelyen gyűjtött variáns ismert a természetes variabilitás vizsgálatához. Az interneten hozzáférhető gén, cDNS és mutánsgyűjtemények az utóbbi években kiegészültek génexpressziós, metilációs, metabolomikai vagy prometomikai adatbázisokkal, amik komplex in sziliko analízist tesznek lehetővé.

Stressz érzékelés és a stresszválasz szabályozása

A környezeti elváltozások érzékelése az első lépés ami meghatározza a növény válaszütemét. Általában olyan speciális receptor fehérjék kapcsolják be a jelátviteli folyamatokat, amik külső hatásra konformáció változáson mennek keresztül, ami módosítja az aktivitásukat. A különböző környezeti stresszhatások érzékeléséről elég kevés információ áll

rendelkezésre. Az ozmotikus változásokat Arabidopsis-ban egy membránhoz kötött hisztidin kináz (ATHK1) ozmoszenzor képes érzékelni, ami hasonló az élesztő szenzor fehérjéjéhez (Urao et al., 1999). Hasonló szenzor fehérjét találtak a rizsben is, ami arra utal, hogy az ozmoszenzorok hasonlóak a különböző növényekben (Kushwaha et al., 2014). Az ATHK1 típusú érzékelők mellett valószínűleg más receptorok is részt vesznek az ozmotikus stressz érzékelésében. A többi stressz típus érzékelése még kevésbé ismert. A membránhoz kapcsolt SOS1 antiporterről gyanítják, hogy részt vesz a só stressz érzékelésében, de ezt eddig nem sikerült egyértelműen bizonyítani (Hasegawa et al., 2000). Az oxidatív stressz érzékelésében bizonyos, hidrogén peroxidra érzékeny hősokk faktorok vehetnek részt, amelyek aktivitása redox egyensúlytól függő trimerizációt feltételez (Miller and Mittler, 2006) (Perez-Salamo et al., 2014).

A sejten belüli jelátvitel több lépésben, számos metabolikus illetve enzimatisz szereplő közreműködésével valósul meg. Az ozmotikus és só stressz jelátvitel fontos komponensei a foszforilációs reakciók, amelyek speciális cél fehérjék poszt-transzkripciós módosításáért felelnek. A MAP kináz kaskádokról ismert, hogy több stresszhatás jelátvitelében részt vesznek. Az Arabidopsis MPK3, MPK4 és MPK6 kinázokról tudjuk, hogy az oxidatív jeleket közvetítik. A peroxid szignál származhat abiotikus vagy biotikus hatásokból is. A MPK4 valamint MPK7 kinázok a só és a szárazság stresszhatások közvetítésében is részt vesznek (Colcombet and Hirt, 2008; Sinha et al., 2011). A SnRK2 kinázok elsősorban az ozmotikus stresszválasz szabályozásában vesznek részt. A SNRK2.1/4/5/7/8/9/10 alcsoport elsősorban abszcizinsavtól (ABA) független módon közvetíti az ozmotikus stresszhatás jeleit. A jobban ismert SNRK2.2/3/6 alcsoport, ami főleg az ABA jelátvitelben fontos (Fujii et al., 2011; Kulik et al., 2011). Az ABA a szárazság és só stressz-hez kapcsolódó molekuláris válasz legfontosabb szabályozó hormonja. A stressz során megemelkedő ABA hormon PYR/PYL receptor családba tartozó fehérjékhez kötődve inaktíválja a jelátvitelt gátló PP2C típusú foszfatázokat (pl. ABI1, ABI2). A foszfatázok ABA hiányában defoszforilálják és inaktíválják a SnRK2.2/3/6 kinázokat. ABA hatására a PP2C-k disszociálnak a SnRK2 kinázokról, a gátlás megszűnik, ami a három SnRK2 kináz aktivációjával jár (Sheard and Zheng, 2009). Az aktív SnRK2 kinázok foszforilálják a cél fehérjéket, amik között fontos transzkripciós faktorok (pl. ABI5, ABF1, ABF3), és a sztóma záródásban kulcsfontosságú ion transzporterek (pl. SLAC1, KAT1) találhatóak (Finkelstein, 2013; Yoshida et al., 2015). A sztóma záródásért a SNRK2.6 által foszforilált és aktivált SLAC1 ion csatorna felelős, míg a KAT1-t a foszforilálás gátolja (Yoshida et al., 2015; Yu et al., 2015). Az ABA érzékenység alapvetően meghatározza a szárazságtűrés mértékét (4. Ábra).



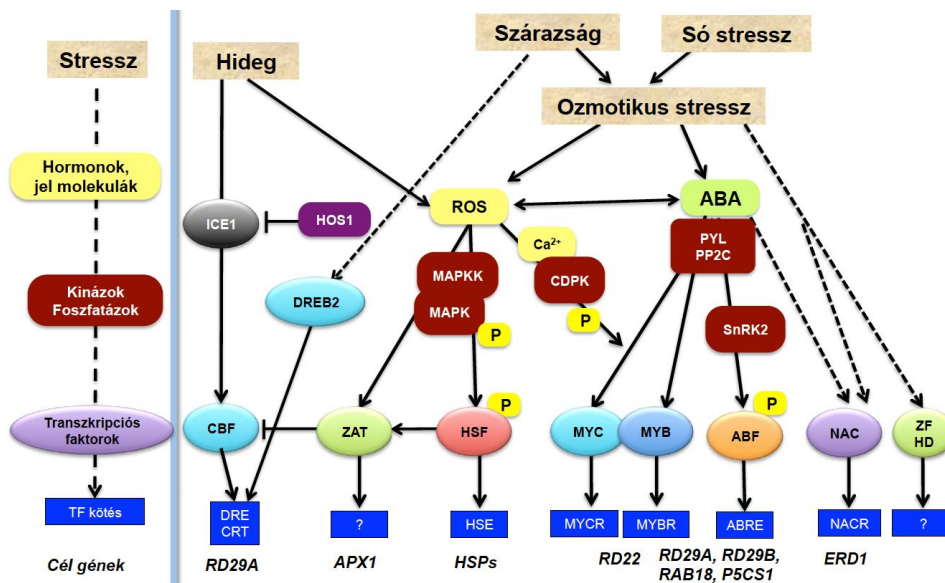
4. ábra. Egy ABA érzékeny mutáns (*ppr40-1*) gyorsabb sztómazáródás révén jobban túléli a szárítással járó vízvesztést mint a vad típusú növény (*Col-0*).

Az ABRE promoter elemhez kapcsolódó bZIP típusú ABI5 transzkripciós faktor a mag érését segíti és a csírázást gátolja, míg az ABF/AREB transzkripciós faktorok a kifejlett növényben aktiválják a stressz és ABA indukált géneket az ozmotikus hatásra. Az ABA jelátvitel ezen kívül az intracelluláris kalcium koncentráció változásai, kalcium függő kinázok, lipid jelátvitel komponensei, reaktív oxigén molekulák is befolyásolják. A transzkripciós szabályozás fontos résztvevői az ABI3 és a AP2 típusú ABI4 transzkripciós faktorok, amik elsősorban a mag érését és a csírázást ellenőrzik és a MYB típusú transzkripciós faktorok, amik szintén az ABA jelátvitel pozitív szabályozói (Finkelstein, 2013), (5. Ábra).

Az ABA jelátvitel mellett fontosak a stressz jelátvitel ABA-tól független szabályozási folyamatai. Az AP2/ERF transzkripciós családba tartozó DREB/CBF transzkripciós faktorok a DRE promoter elemet ismerik fel, és hozzá kapcsolódva aktiválják a stressz-indukált cél géneket. A DREB/CBF faktorok és az általuk szabályozott gének a hideggel, a só és szárazságstresszel szembeni tolerancia kulcs elemei (Agarwal et al., 2006). A RAP2 csoportba tartozó ERF transzkripciós faktorok az oxigénhiányos környezetben (pl. áradás) való túléléshez szükségesek (Perata and Voisenek, 2007). A RAP2 faktorok az anoxiás állapot

szenzoraiként is működnek, mert aktivitásukat egy oxigénhiánytól függő N terminális régió stabilizálja (N-end rule pathway) (Licausi et al., 2011). A hipoxia mellett a RAP2 típusú faktorok az ozmotikus és oxidatív stresszválaszt is szabályozzák (Papdi et al., 2015).

A hőstresszel szembeni válaszokat színén ABA-tól független jelátviteli rendszerek szabályozzák. Legfontosabb komponensei a hősokk transzkripciós faktorok (HSF), amik a magas hőmérsékletre aktiválódó géneket aktiválják. A növényekben a HSF fehérjét egy komplex géncsalád kódolja. Arabidopsis-ban 21 HSF gént ismerünk, amik közt pozitív és negatív szabályozó funkcióval rendelkezők is előfordulnak. A növényi hősokk faktorok nem csak a magas hőmérséklettel kapcsolatos szabályozásban vesznek részt, egyes faktorok más stresszhatásokkal (só, szárazság, oxidatív stressz, sérülés, stb.) szembeni ellenállóképességet is befolyásolják (Scharf et al., 2012). Jellemzőjük, hogy stresszhatásra trimerizálódnak, és a sejtmagban a hősokk elemeket (HSE) tartalmazó gének promoteréhez kapcsolódva aktiválják a transzkripciót. A sejt redox állapota befolyásolja a trimerek stabilitását, ami bizonyos szenzor funkcióra is enged következtetni (Miller and Mittler, 2006). Az "A" típusú HSF fehérjék a hőstressz legfontosabb pozitív szabályozó faktorai (Scharf et al., 2012). Érdekes a HSFA4A faktor funkciója nem elsősorban a hősokk káros hatásának kivédése, hanem a só, nehézfém, és általában az oxidatív stresszel szembeni válaszreakciók aktiválása. A HSFA4A faktort a MPK3 és MPK6 MAP kinázok foszforilálják, ami fontos a transzkripciós aktivitáshoz (Perez-Salamo et al., 2014) (5. Ábra).



5. ábra. A stresszválaszt szabályozó jelátviteli folyamatok vázlata. Baloldalt az érzékelés a jelátvitel és transzkripciós szabályozás kategóriái, jobboldalt az egyes stressz típusokhoz kapcsolható szabályozási folyamatok kapcsolódásai láthatók.

Metabolikus folyamatok.

A káros környezeti hatások során többféle élettani, metabolikus és fejlődési változást lehet megfigyelni. A só stressz során az egyik jellemző változás az ion egyensúly módosulása.

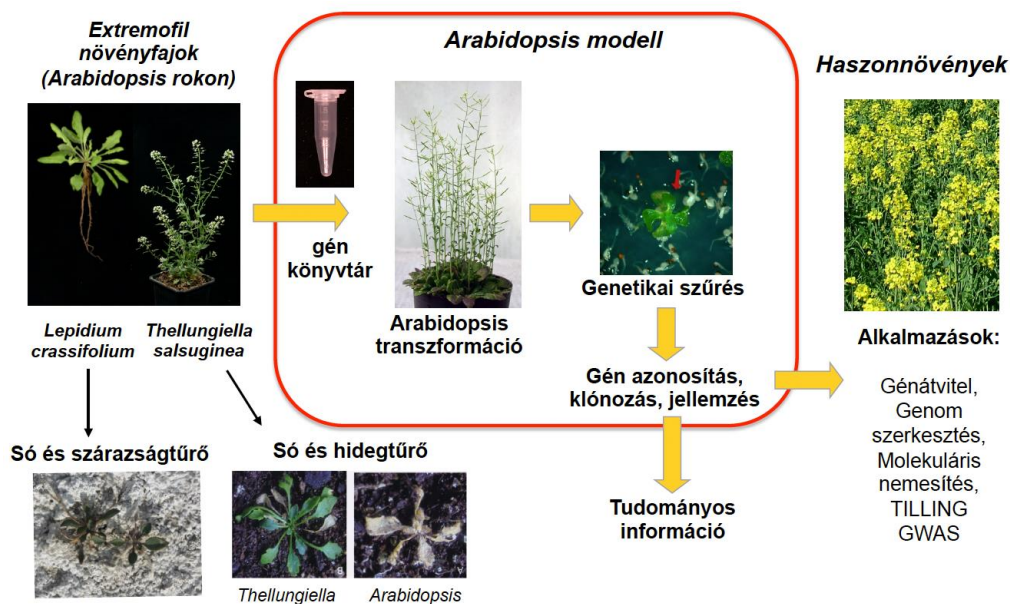
A membránon keresztüli ion felvételt és leadást meghatározó ion transzporterek aktivitása kulcsfontosságú a só tolerancia meghatározásában. A plazma membránon keresztül az ion felvételt és a K^+/Na^+ egyensúlyt a HKT transzporter irányítja (Davenport et al., 2007). Durum búzából származó HKT transzporterekkel sikerült a kenyérbúza só toleranciáját javítani, ami a levél sótartalmának csökkenésével volt elérhető (James et al., 2011). A NHX1 családba tartozó Na^+/H^+ antiporter a Na^+ ionokat a vakuólumba pumpálja, ezáltal csökkentik a citoplazma káros ion koncentrációját (Gaxiola et al., 1999) (Yokoi et al., 2002). A plazma membránban lokalizált SOS1 Na^+/H^+ antiporter viszont a Na^+ ionok elávolításáért felelős, ami kulcsfontosságú a citoplazma működéséhez magas sótartalmú közegben (Shi et al., 2000). A SOS1 fehérjét a SnRK3 típusú SOS2 kináz foszforilálja és aktiválja, amit viszont a SOS3 kalcium szenzor révén a Ca^{2+} ion tartalom szabályozása alatt áll (Zhu, 2003). A SOS1 rendszer kapcsolatban áll az ABA szabályozással is és az ion egyensúly fenntartásának meghatározó szabályozó mechanizmusa (Chinnusamy et al., 2004).

A prolin metabolizmus a stressz ellenállóképesség egy másik meghatározó szereplője. A prolin egy különleges aminosav, ami elsősorban szárazság és só stressz során halmozódik fel a növényi szövetekben (Szabados and Savoure, 2010). Az ozmotikus stresszt kiváltó szárazság vagy só mellett prolin felhalmozódást írtak le nehézfémek (Schat, 1997), bizonyos vegyi anyagok, oxidatív stressz (Ben Rejeb et al., 2014), foszfor éhezés (Aleksza et al., 2017), UV fény (Saradhi et al., 1995) és egyes mikroorganizmusok (Fabro et al., 2004) hatására. Korábban a prolint mint ozmoprotektáns vegyületet emlegették, de mára kiderült hogy több funkciója lehet. Szerepe van egyes reaktív molekulák (ROS) semlegesítésében, a redox egyensúly fenntartásában, bizonyos enzimek stabilizálásában, de az energia háztartás szabályozásában is (Kavi Kishor and Sreenivasulu, 2014; Bhaskara et al., 2015; Signorelli, 2016). A prolin a citoplazmában vagy kloroplasztban szintetizálódik, elsősorban glutaminsavból (Székely et al., 2008; Szabados and Savoure, 2010). A bioszintézis egy redukzív folyamat, ami stressz körülmények között segíthet a kloroplasztisz elektron transzportját stabilizálni (De Ronde et al., 2004). A mitokondriumban végbemenő prolin degradáció két oxidációs lépésből áll, ami elektronokat, így energiát szolgáltat a mitokondriális elektron transzport részére. Az utóbbi években jelent meg néhány publikáció a prolin metabolizmust szabályozó génekről. A stressz során a prolin bioszintézist ABA függő és független jelátviteli mechanizmusok is szabályozzák. A bioszintézist ellenőrző pirrolin-5-karboxilát szintáz 1 (P5CS1) gén aktiválásáért nagy valószínűséggel ABF típusú transzkripciós faktorok felelősek, de azt MYB és ANAC faktorok is befolyásolják. A fény szabályozást a HY5 transzkripciós faktor ellenőrzi, míg a foszfát éhezéskor aktiválódó P5CS1 transzkripciójáért az 1. intronban lévő P1BS szekvencia elemet felismerő MYB típusú PHR1 és PHL1 faktorok felelősek (Aleksza et al., 2017). A prolin degradáció meghatározó lépését a prolin dehidrogenáz (ProDH) katabolizálja, ami ozmotikus stressz alatt gátlás alatt áll. Stressz után megemelkedik a ProDH1 aktivitása, amit bZIP típusú transzkripciós faktorok szabályoznak (Satoh et al., 2004). A prolin oxidációnak fontos szerepe van a hiperszenzitív reakció (HR) során kialakuló programozott sejthalál létrejöttében, mert a mitokondrium felpörgetett prolin oxidációja mitokondriális ROS-t generál, ami a PCD egyik legfontosabb szignálja. A PCD-t és a prolin oxidációt az avirulens

mikroorganizmusok támadásakor aktiválódó ProDH és a P5CDH enzimek szabályozzák (Cecchini et al., 2011).

Konklúzió

Az extrém környezetben való túlélés, növekedés magasfokú alkalmazkodóképességet kíván a növényektől. Az alkalmazkodást lehetővé tevő fejlődési, élettani, metabolikus változásokat több szintű koordinált szabályozási rendszer ellenőrzi (5. Ábra). A modell növények valamint a rendszerszintű analízist lehetővé tevő módszerek alkalmazása lehetővé tette, hogy a számos gén által ellenőrzött folyamatok bizonyos elemeiről ma már pontos ismereteink vannak, de a szabályozás összességét még nem ismerjük. A modellnövények mellett ma elsősorban a haszonnövények ellenállóképességét szabályozó gének, gén variációk, epigenetikai szabályozó mechanizmusok kutatása, valamint az extrém viszonyokhoz jól alkalmazkodott halofita és xerofita fajok, változatok kutatása a leggyorsabban fejlődő terület. Az új genetikai, genomikai módszerek alkalmazásával többféle módon is lehetségessé vált a haszonnövények ellenállóképességének javítása. Sikerült olyan genetikailag módosított vagy genom szerkesztett fajtákat is előállítani, amelyek jobban tűrik a szárazságot, jobban nőnek, magasabb termést hoznak a szikes vagy alacsony tápértékű talajokon (6. Ábra). Az ígéretes eredmények a több síkon folyó kutatásoknak köszönhetőek, amelyekben a genetikai, molekuláris és rendszerszintű technológiáké volt a fő szerep.



6. ábra. Az extrémofil (halofita, xerofita) növényfajok alkalmazása az adaptációt, toleranciát meghatározó gének, gén formák azonosítására. A halofitákból származó génkönyvtárat Arabidopsis modellbe vittük, ahol genetikai szűréssel azonosítottuk a fokozott toleranciáért felelős géneket. A gének jellemzése segített megérteni a stressz tolerancia genetikai alapjait, és hozzájárul a haszonnövények ellenállóképességének növeléséhez (Rigo et al., 2016).

Referenciák

- Agarwal PK, Agarwal P, Reddy MK, Sopory SK** (2006) Role of DREB transcription factors in abiotic and biotic stress tolerance in plants. *Plant Cell Rep* **25**: 1263-1274
- Aleksza D, Horvath GV, Sandor G, Szabados L** (2017) Proline Accumulation Is Regulated by Transcription Factors Associated with Phosphate Starvation. *Plant Physiol* **175**: 555-567
- Arabidopsis** (2000) Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature* **408**: 796–815
- Ben Rejeb K, Abdelly C, Savoure A** (2014) How reactive oxygen species and proline face stress together. *Plant Physiol Biochem* **80**: 278-284
- Bhaskara GB, Yang TH, Verslues PE** (2015) Dynamic proline metabolism: importance and regulation in water limited environments. *Front Plant Sci* **6**: 484
- Cecchini NM, Monteoliva MI, Alvarez ME** (2011) Proline dehydrogenase contributes to pathogen defense in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* **155**: 1947-1959
- Chinnusamy V, Schumaker K, Zhu JK** (2004) Molecular genetic perspectives on cross-talk and specificity in abiotic stress signalling in plants. *J Exp Bot* **55**: 225-236
- Colcombet J, Hirt H** (2008) *Arabidopsis* MAPKs: a complex signalling network involved in multiple biological processes. *Biochem J* **413**: 217-226
- Davenport RJ, Munoz-Mayor A, Jha D, Essah PA, Rus A, Tester M** (2007) The Na⁺ transporter AtHKT1;1 controls retrieval of Na⁺ from the xylem in *Arabidopsis*. *Plant Cell Environ* **30**: 497-507
- De Ronde JA, Cress WA, Kruger GH, Strasser RJ, Van Staden J** (2004) Photosynthetic response of transgenic soybean plants, containing an *Arabidopsis* P5CR gene, during heat and drought stress. *J Plant Physiol* **161**: 1211-1224
- Fabro G, Kovacs I, Pavet V, Szabados L, Alvarez ME** (2004) Proline accumulation and AtP5CS2 gene activation are induced by plant-pathogen incompatible interactions in *Arabidopsis*. *Mol Plant Microbe Interact* **17**: 343-350
- Finkelstein R** (2013) Abscisic Acid Synthesis and Response. *Arabidopsis Book* **11**: e0166
- Fujii H, Verslues PE, Zhu JK** (2011) *Arabidopsis* decuple mutant reveals the importance of SnRK2 kinases in osmotic stress responses in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* **108**: 1717-1722
- Gaxiola RA, Rao R, Sherman A, Grisafi P, Alper SL, Fink GR** (1999) The *Arabidopsis thaliana* proton transporters, AtNhx1 and Avp1, can function in cation detoxification in yeast. *Proc Natl Acad Sci U S A* **96**: 1480-1485
- Hasegawa PM, Bressan RA, Zhu JK, Bohnert HJ** (2000) Plant Cellular and Molecular Responses to High Salinity. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* **51**: 463-499
- James RA, Blake C, Byrt CS, Munns R** (2011) Major genes for Na⁺ exclusion, Nax1 and Nax2 (wheat HKT1;4 and HKT1;5), decrease Na⁺ accumulation in bread wheat leaves under saline and waterlogged conditions. *J Exp Bot* **62**: 2939-2947
- Kavi Kishor PB, Sreenivasulu N** (2014) Is proline accumulation per se correlated with stress tolerance or is proline homeostasis a more critical issue? *Plant Cell Environ* **37**: 300-311
- Kulik A, Wawer I, Krzywinska E, Bucholc M, Dobrowolska G** (2011) SnRK2 protein kinases--key regulators of plant response to abiotic stresses. *OMICS* **15**: 859-872
- Kushwaha HR, Singla-Pareek SL, Pareek A** (2014) Putative osmosensor--OsHK3b--a histidine kinase protein from rice shows high structural conservation with its ortholog AtHK1 from *Arabidopsis*. *J Biomol Struct Dyn* **32**: 1318-1332
- Licausi F, Kosmacz M, Weits DA, Giuntoli B, Giorgi FM, Voesenek LA, Perata P, van Dongen JT** (2011) Oxygen sensing in plants is mediated by an N-end rule pathway for protein destabilization. *Nature* **479**: 419-422
- Miller G, Mittler R** (2006) Could heat shock transcription factors function as hydrogen peroxide sensors in plants? *Ann Bot* **98**: 279-288

- Munns R** (2002) Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell Environ* **25**: 239-250
- Papdi C, Perez-Salamo I, Joseph MP, Giuntoli B, Bogre L, Koncz C, Szabados L** (2015) The low oxygen, oxidative and osmotic stress responses synergistically act through the ethylene response factor VII genes RAP2.12, RAP2.2 and RAP2.3. *Plant J* **82**: 772-784
- Perata P, Voeselek LA** (2007) Submergence tolerance in rice requires Sub1A, an ethylene-response-factor-like gene. *Trends Plant Sci* **12**: 43-46
- Perez-Salamo I, Papdi C, Rigo G, Zsigmond L, Vilela B, Lumbreras V, Nagy I, Horvath B, Domoki M, Darula Z, Medzihradzky K, Bogre L, Koncz C, Szabados L** (2014) The heat shock factor A4A confers salt tolerance and is regulated by oxidative stress and the mitogen-activated protein kinases MPK3 and MPK6. *Plant Physiol* **165**: 319-334
- Rédei GP** (1975) Arabidopsis as a genetic tool. *Annu Rev Genet* **9**: 111-127
- Rigo G, Valkai I, Farago D, Kiss E, Van Houdt S, Van de Steene N, Hannah MA, Szabados L** (2016) Gene mining in halophytes: functional identification of stress tolerance genes in *Lepidium crassifolium*. *Plant Cell Environ* **39**: 2074-2084
- Saradhi PP, Alia, Arora S, Prasad KV** (1995) Proline accumulates in plants exposed to UV radiation and protects them against UV induced peroxidation. *Biochem Biophys Res Commun* **209**: 1-5
- Satoh R, Fujita Y, Nakashima K, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K** (2004) A novel subgroup of bZIP proteins functions as transcriptional activators in hypoosmolarity-responsive expression of the ProDH gene in Arabidopsis. *Plant Cell Physiol* **45**: 309-317
- Scharf KD, Berberich T, Ebersberger I, Nover L** (2012) The plant heat stress transcription factor (Hsf) family: structure, function and evolution. *Biochim Biophys Acta* **1819**: 104-119
- Schat H, Sharma, S.S., and Vooijs, R.** (1997) Heavy metal-induced accumulation of free proline in a metal-tolerant and a nontolerant ecotype of *Silene vulgaris*. *Physiol. Plant.* **101**: 477-482
- Sheard LB, Zheng N** (2009) Plant biology: Signal advance for abscisic acid. *Nature* **462**: 575-576
- Shi H, Ishitani M, Kim C, Zhu JK** (2000) The Arabidopsis thaliana salt tolerance gene SOS1 encodes a putative Na⁺/H⁺ antiporter. *Proc Natl Acad Sci U S A* **97**: 6896-6901
- Signorelli S** (2016) The Fermentation Analogy: A Point of View for Understanding the Intriguing Role of Proline Accumulation in Stressed Plants. *Front Plant Sci* **7**: 1339
- Sinha AK, Jaggi M, Raghuram B, Tuteja N** (2011) Mitogen-activated protein kinase signaling in plants under abiotic stress. *Plant Signal Behav* **6**: 196-203
- Szabados L, Savoure A** (2010) Proline: a multifunctional amino acid. *Trends Plant Sci* **15**: 89-97
- Székely G, Ábrahám E, Cséplő A, Rigó G, Zsigmond L, Csiszár J, Ayaydin F, Strizhov N, Jasik J, Schmelzer E, Koncz C, Szabados L** (2008) Duplicated P5CS genes of Arabidopsis play distinct roles in stress regulation and developmental control of proline biosynthesis. *Plant J* **53**: 11-28
- Urao T, Yakubov B, Satoh R, Yamaguchi-Shinozaki K, Seki M, Hirayama T, Shinozaki K** (1999) A transmembrane hybrid-type histidine kinase in Arabidopsis functions as an osmosensor. *Plant Cell* **11**: 1743-1754
- Yokoi S, Quintero FJ, Cubero B, Ruiz MT, Bressan RA, Hasegawa PM, Pardo JM** (2002) Differential expression and function of Arabidopsis thaliana NHX Na⁺/H⁺ antiporters in the salt stress response. *Plant J* **30**: 529-539
- Yoshida T, Mogami J, Yamaguchi-Shinozaki K** (2015) Omics Approaches Toward Defining the Comprehensive Abscisic Acid Signaling Network in Plants. *Plant Cell Physiol* **56**:

1043-1052

Yu F, Wu Y, Xie Q (2015) Precise protein post-translational modifications modulate ABI5 activity. *Trends Plant Sci* **20**: 569-575

Zhu JK (2003) Regulation of ion homeostasis under salt stress. *Curr Opin Plant Biol* **6**: 441-445