

Doktori (Ph.D.) értekezés tézisei

BÚZAFAJTÁK SZÁRAZSÁGTŰRÉSÉNEK ÉLETTANI INDIKÁTORAI

Forgóné Guóth Adrienn

Témavezetők:

Prof. Dr. Erdei László
egyetemi tanár

Dr. Görgényi Miklósné Dr. Tari Irma
egyetemi docens

Biológia Doktori Iskola

Szegedi Tudományegyetem
Természettudományi és Informatika Kar
Növénybiológiai Tanszék

Szeged

2009

BEVEZETÉS

A búza mezőgazdaságilag kiemelkedően fontos növény, a világ egyik legelterjedtebb gabonanövénye, a világ sok más országához hasonlóan Magyarországon is a legfontosabb gabonaféle. Az éves termést azonban nagyban befolyásolják a környezeti körülmények, köztük a csapadékhiány is, éppen ezért a legfontosabb kritérium, ami alapján a szárazság rezisztens fajták szelekciója történik, a terméshozam. Azonban ennek meghatározása időigényes, mivel a fajták szűréséhez szükséges a növények érésig történő felnevelése. Éppen ezért a genotípusok átvizsgálása, szelekciója sokkal gyorsabb, idő és energia takarékosabb lenne, ha valamelyik fiziológiai paraméter változása és a szárazság tűrés, valamint a hozam között egyértelmű kapcsolatot tudnánk találni és egy mindenki által elfogadott, egységes tesztrendszert tudnánk kidolgozni.

Ennek eléréséhez az utóbbi időben számos kísérletet végeztek búzanövényeken, szabadföldi, és növényházi körülmények között. Növényházi körülmények között talajban, vízmegvonással idézhető elő szárazságstressz, ill. tápoldatban ozmotikumokkal (polietilén glikol, mannitol) ozmotikus stressz. Az egyértelmű összefüggések felállításához különböző, szárazság toleranciában eltérő genotípusok összehasonlítására van szükség, és a különböző növénynevelési módszerek (szabadföldi, növényházas, vízkultúrás) összevetése is elengedhetetlen.

CÉLKITŰZÉSEK

A búzanemesítés háttéréül szolgáló növényfiziológia olyan kérdéseit vizsgáltuk, melyeknek célja, hogy nemesítési folyamatot felgyorsítsa. Olyan fiziológiai paramétereket kerestünk, melyek korrelálnak a szárazságtűréssel. Ezek az összefüggések később alkalmasak lehetnek a nemesítők számára, hogy a szárazságtűréssel kapcsolatos előnyös tulajdonságokra fiatal korban szelektálják a genotípusokat.

Célunk volt, hogy a két különböző életszakaszban, a fiatal növény korban és a szemfeltöltődési szakaszban stressz hatására fellépő fiziológiai változásokat összevessük, és megállapítsuk, hogy a fiatal korban, ozmotikus stressz hatására tapasztalt változások korrelálnak-e a szemfeltöltődési periódusban, vízhiány hatására megfigyeltekkel. Kérdés volt továbbá, hogy a fiatal növényeken mért eredmények felhasználhatóak-e a búzanövény generatív fázisában megfigyelt viselkedésének jellemzésére, és a genotípus szárazságtűrő vagy érzékeny jellegének egyértelmű, korai megállapítására.

Munkánk másik feladata a szárazságtolerancia illetve érzékenység jellemzése volt, és annak megállapítása, hogy melyik fiziológiai paraméter jellemzi egyértelműen a mezőgazdasági értelemben vett toleranciát ill. érzékenységet, vagyis a későbbi terméshozamot. Van-e olyan paraméter, amiből ez megállapítható?

Kutatásaink során a következő kérdésekre keresteük a választ:

a) Összevethetők-e a fiatal növény stádiumban, PEG-6000 kezeléssel kiváltott, ozmotikus stressz okozta fiziológiai változások a zászlóslevélben, szárazságstressz által kiváltott változásokkal?

b) Van-e korreláció a zászlóslevél szemfeltöltődés alatti fotoszintetikus aktivitása és a szemfeltöltődés mértéke között?

c) Hogyan hat a szárazság a zászlóslevél és a szemtermés abszcizinsav tartalmára a szemfeltöltődés időszakában, és hogyan befolyásolja az ABS koncentráció változása a kalászonként megtermékenyített szemek számát és a szemtömeget, valamint a szemfeltöltődést?

d) Hogyan hat az ozmotikus stressz a hajtások és a gyökér ABS tartalmára, és milyen kapcsolatban áll ez a biomassa produkcióval, hajtás és gyökérnövekedéssel és a sztómakonduktanciával?

e) Hogyan hat az ozmotikus stressz a szárazságtoleráns és érzékeny búzafajták növekedésére, és a gyökérnövekedésben milyen szerepet játszanak az ABS növényi hormon, valamint a ROS és NO molekulák?

f) Hogyan változik az abszcizin aldehid-oxidáz aktivitása ozmotikus stressz hatására a gyökérben?

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

Növényi anyag:

Vizsgált fajtáink a szárazságtűrő *Triticum aestivum* L. cv. Mv Emese és Plainsman V. és a szárazságérzékeny *Triticum aestivum* L. cv. GK Élet és Cappelle Desprez voltak.

Alkalmazott kezelések:

Fiatal növényeken (csírázástól a csírázás utáni 21. napig) az ozmotikus stresszt a fokozatosan, polietilén glikollal (PEG) idéztük elő (7. napon 100 mOsm, 9. napon 200 mOsm-ra, 11. napon 400 mOsm). A kalászó növényeken végzett kísérletek során a talajszárazságot vízmegvonással idéztük elő (kontroll növényeket a talaj 100 %-os vízkapacitásának 60%-ra, a stresszelt növényeket a 25%-ra öntöttük vissza a talaj tömege alapján).

Vízháztartási paraméterek vizsgálata:

A vízpotenciált nyomáskamrával, az ozmotikus potenciált automata ozmométerrel, a relatív víztartalmat úsztatásos módszerrel mértük meg.

Pigmenttartalom vizsgálata:

A növényi anyagból készített extraktum pigmenttartalmát Lichtenthaler és Wellburn (1983) spektrofotometriás módszerével határoztuk meg.

Fotoszintetikus paraméterek vizsgálata:

A fluoreszcencia indukciós paramétereket, a CO₂ asszimilációt és sztómakonduktanciát hordozható fotoszintézis mérő rendszerrel mértük (LI-6400, LI-COR Inc., Lincoln, Nebraska-USA). A klorofill *a* (Kl *a*) fluoreszcencia indukciós paraméterek meghatározásához a quenching analízis módszerét alkalmaztuk (modulációs elven működő fluorométer).

Abszcizinsav és *transz*-zeatin ribozid hormonok vizsgálata:

Az abszcizinsav és *transz*-zeatin ribozid tartalmakat ELISA módszerrel határoztuk meg, az abszcizin-aldehid oxidáz aktivitások detektálása poliakrilamid gélelektroforézissel történt.

Reaktív oxigénformák és NO detektálása:

A ROS és NO molekulák vizsgálata fluoreszcens mikroszkóppal történt, az NO szint detektálásához 4,5-diaminofluorescein-diacetát (DAF-2DA, 10μM) festéket, ROS szint detektálásához 2',7'-diklór-fluorescein-diacetát (DC-FDA) festéket használtunk.

Tartalékfehérjék meghatározása:

A gliadin és glutenin tartalékfehérje frakciók elválasztása Perkin Elmer LC 200 típusú DAD-HPLC készülékkel végeztük. Mérési eredményként az egyes elválasztott fehérjékre kapott csúcs alatti területeket értelmeztük.

EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉS

A fiatal korban, ozmotikus stressz hatására és a szemfeltöltődési periódusban, szárazságstressz hatására bekövetkező változásokat összevetése. illetve a szárazságtolerancia vagy szenzitivitás jellemzése fiziológiai paraméterekkel a búzanemesítés egy aktuális és fontos feladata. Eredményeink alapján kapott főbb következtetéseink:

I. Kalászolás időszakában előidézett szárazságstressz és a fiatal korban előidézett ozmotikus stressz összevetése

- **A terméshozam paraméterek alapján** (szemszám, szemtömeg) egyértelmű, hogy a GK Élet és Cappelle Desprez **szárazságérzékeny**, az Mv Emese és a Plainsan **szárazságtoleráns** búzafajták. Ezek az adatok a laboratóriumi körülmények között is a szántföldi eredményekhez hasonlóan alakultak.
- **A vízháztartási paraméterek** a fiatal és a kalászó növények esetén is **azonos tendencia szerint változtak az egyes genotípusokban.**
A toleráns fajták levelek végső öregedési stádiumának bekövetkezéséig sem a talajszárazság, sem az ozmotikus stressz hatására nem mutatott jelentős vízpotenciál csökkenést. Ezek a fajták a közel izohidrikus genotípusok közé sorolhatók. A két érzékeny fajta vízhiány hatására is jelentős vízpotenciál csökkenéssel reagált, ezek a vízpotenciál-vesztő szárazságtűrési stratégiát mutatják.
- **A két kísérletben a fluoreszcencia indukciós és fotoszintetikus paraméterek nem összevethetőek**, az ozmotikus stressz alapján mért adatok nem voltak összhangban a szárazság stressz során, a zászlósleveleken mért adatokkal. Az ozmotikus stressz korai, szignifikáns változást eredményezett mindkét fajtában, a szárazság csak bizonyos fajtáknál, és csak az utolsó mérési napokon eredményezett szignifikáns változást. Kísérleteink során nem találtunk olyan **fluoreszcencia indukciós paramétert**, melynek változása megegyezne a fiatal növény stádiumban és a kalászolás időszakában fellépő stressz esetén. A CO₂ asszimiláció az ozmotikus stressz hatására szenzitív Az Élet fajtában gyakorlatilag leállt a stresszelt növényben, kalászó korban ugyanezt a toleráns Emesénél figyeltük meg.
- **A zászlóslevelek fotoszintetikus aktivitásának változása** a kalász hasban állapottól kezdődő szárazság hatására **nincs szoros kapcsolatban a fajták szárazságtűrésével.**

Eredményeink azt jelzik, hogy a fluoreszcencia indukciós paraméterek nem adnak egyértelmű felvilágosítást a genotípusok szárazság toleranciájáról.

- A két kísérletben a toleráns fajták leveleiben (zászlóslevél és első levél) **magasabb ABS szinteket** figyeltünk meg, ebből a szempontból a talajszárazság és az ozmotikus stressz hasonló fiziológia változást idézett elő. Azonban a **zászlóslevélben** az ABS szint az **idő függvényében jelentős változásokat mutatott**, így nem jellemzték egyértelműen a toleranciát.

II. Összefüggések a szemfeltöltődés mértéke és a fotoszintetikus paraméterek illetve növényi hormonszintek között

- A szárazságstressz (és az ozmotikus stressz) **nem okozott a toleráns vagy a szenzitív fajtákra jellemző specifikus változást a fényadaptált levelek PSII fotokémiai folyamataiban és a CO₂ asszimilációban**. A fluoreszcencia indukciós paraméterek is jellegzetes változást mutatnak ugyan talajszárazság hatására, ez azonban nem a szárazságtűrési stratégiát, hanem a genotípust jellemzi.
- **A szemtermésben a vízmegvonás ABS szint emelkedést** eredményezett, aminek korai maximuma és az anthézis utáni csökkenése egyértelműen **jellemezte a szárazságtűrő fajtákat**. A vízmegvonás hatására a toleráns fajtáknál egy korai maximum értéket tapasztaltunk, ami hamar lecsökkent, a szenzitív fajtáknál pedig későbbi és hosszabb ideig tartó maximum értéket figyeltünk meg a szárazság hatására. A szemfeltöltődés kései szakaszában, a szárazság hatására megfigyelt magas ABS tartalom a gátló hatással lehetett az asszimilátumok transzportjára és a szemfeltöltődésre, kisebb szemtömegeket eredményezve a szenzitív fajtáknál. A toleráns fajtáknál tapasztalt korai ABS szint emelkedés valószínűleg kedvez a tartaléktápanyagok felhalmozódásában szereplő enzimek expressziójának szabályozásában.
- Eredményeink alapján a **reprodukciós szervek érzékenysége**, vagyis a kaláson belüli kevesebb megtermékenyítés (alacsonyabb szemszám), és a szemtermés folyamatosan magas ABS tartalma felelős lehet a csökkent terméshozamért, még a szemtermésekben a korai, magas ABS csúcs és a zászlóslevelek szenescenciája jobb hozamértékeket eredményezhet.

III.Összefüggések az ozmotikus stressz alatti gyökérnövekedés, biomassza produkció és a gyökérben mért ABS, NO, ROS szintek illetve AAO aktivitások között

- Ozmotikus stressz hatására gyökerekben a GK Élet fajtánál emelkedett meg korábban és jelentősen az **ABS tartalom**, ami **fontos szerepet játszik a gyökérnövekedés szabályozásában** és a gyökér akklimatizációs folyamatainak kialakításában.
- Az ABS tartalom **növekedése korrelációt mutatott az aldehidoxidáz 2-3 izoenzimek** aktivitásának ozmotikus stressz alatti fokozódásával. Ezeknek az izoenzimeknek elsődleges szerepük lehet az ozmotikus stressz hatására megemelkedő ABS bioszintézisben.
- **A megnyúlási zóna ABS szintjének megmaradása elsődleges volt** az ozmotikus stressz alatti sikeres **gyökérmegnyúláshoz**, míg a reaktív oxigénformák akkumulációja erőteljesen, a NO kevésbé csökkentette a megnyúlásos növekedést.

Eredményeink alapján megállapíthatjuk, hogy a búzanövények szárazságtűréséről nem ad egyértelmű információt a fiatal korban alkalmazott, ozmotikus stressz előidézésén alapuló rendszer. A búza szárazságtűrése növényfiziológia szempontból összetett folyamat, a szárazságtűrés jellemzéséhez több paraméter együttes figyelembevételére van szükség, beleértve a megtermékenyítési és szemfeltöltődési folyamatokat is.

PUBLIKÁCIÓS LISTA

(*az értekezéshez közvetlenül kapcsolódó közlemények)

***Guóth A.**, Tari I., Gallé Á., Csiszár J., Pécsváradi A., Cseuz L., Erdei L. (2008): Comparison of the drought stress responses of tolerant and sensitive wheat cultivars during grain filling: Changes in flag leaf photosynthetic activity, ABA levels and grain yield. *Journal of Plant Growth Regulation* 28 (2): 167-176.

IF: 2,109

***Guóth A.**, Benyó D., Csiszár J., Gallé Á., Horváth F., Cseuz L., Erdei L. and Tari I. (2009) Relationship between osmotic stress-induced abscisic acid accumulation, biomass production and plant growth in drought tolerant and sensitive wheat genotypes. *Acta Physiologiae Plantarum* – accepted

IF: 0,807

Gallé Á., Csiszár J., Secenji M., **Guóth A.**, Cseuz L., Tari I., Györgyey J., Erdei L. (2009) Drought response strategies during grain filling in wheat. Glutathione transferase activity and expression pattern in flag leaves. *Journal of Plant Physiology* DOI:10.1016/j.jplph.2009.05016.

IF: 2,456

Abonyi T., Király I., Tömösközi S., Baticz O., **Guóth A.**, Gergely Sz., Sholtz É., Lásztity D., Lásztity R. (2007): Synthesis of gluten-forming polipeptides. 1. Biosynthesis of glidins and glutenin subunits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55: 3655-3660.

IF: 2,32

***Guóth A.**, Tari I., Gallé Á., Csiszár J., Horváth F., Pécsváradi A., Cseuz L., Erdei L. (2009) Chlorophyll *a* fluorescence induction parameters of flag leaves characterize genotypes and not the drought tolerance of wheat during grain filling under water deficit. *Acta Biologica Szegediensis* 53(1): 1-7.

***Guóth A.**, Tari I., Gallé Á., Csiszár J., Cseuz L., Erdei L. (2008) Changes in photosynthetic performance and ABA levels under osmotic stress in drought tolerant and sensitive wheat genotypes. *Acta Biologica Szegediensis* 52: 91-92

Gallé Á., Csiszár J., Secenji M., Tari I., **Guóth A.**, Györgyey J., Erdei L. (2008) Monitoring the levels of phi and tau group GST genes in wheat cultivars under osmotic stress. *Acta Biologica Szegediensis* 52: 95-96

Király I., Baticz O., Larroque O.R., Juhász A., Tömösközi S., Békés F., **Guóth A.**, Abonyi T., Bedő Z. (2004) Relationship between functional properties of wheat dough and the relative proportion of the polymeric fraction

In: Lafiandra D, Masci S, D'Ovidio R (eds.) *The gluten proteins*. RSC, Oxford, 323-326 (2004) (könyvfejezet)

Király I., Tömösközi S., Baticz O., Abonyi T., **Guóth A.**, Gergely Sz., Lásztity R. (2007) Study of the in vivo formation of gluten. 1. Synthesis of gliadins during kernel development. *Növénytermelés* 56 (3): 131-138.

Abonyi T., **Guóth A.**, Király I., Tömösközi S., Baticz O., Gergely Sz., Lásztity R. (2007) Study of the in vivo formation of gluten. 2. Synthesis and polymerisation of gluten subunits. *Növénytermelés* 56 (3): 139-145.

Egyéb kiadványban megjelent konferencia absztraktok:

Baticz O., Király I., Abonyi T., **Guóth A.**, Gergely Sz., Tömösközi S., Lásztity R. (2004) Study of the in vivo and in vitro polymerisation of polypeptides of gluten complex: Changes in gliadin components during ripening of wheat. In: Cauvain SP, Salmon SS, Young LS (eds.): 2th ICC Cereal and Bread Congress 'Using cereal science and technology for the benefit of the consumers', Harrogate 2004.

Guóth A., Tari I., Gallé Á., Csiszár J., Cseuz L., Erdei L. (2007) Comparison of changes in photosynthesis, chlorophyll fluorescence parameters and abscisic acid levels in wheat cultivars under drought stress during grain filling and in seedlings under osmotic stress. 2nd World Conference of Stress, 23-26. August 2007, Budapest, Hungary, Book of Abstracts, pp. 214.

Gallé Á., Csiszár J., Secenji M., Tari I., **Guóth A.**, Dudits D., Györgyey J., Erdei L. (2007): Studies on glutathion-S transferase activities and gene expression levels in *Triticum aestivum* cultivars during polyethilen glycol-induced osmotic stress.

2nd World Conference of Stress, 23-26. August 2007, Budapest, Hungary, Book of Abstracts, pp. 151.

Gémes K., Szepesi Á., **Guóth A.**, Tari I. (2007): Role of photosynthetic performance in salt stress acclimation of tomato after salicylic acid pre-treatment.

2nd World Conference of Stress, 23-26. August 2007, Budapest, Hungary, Book of Abstracts, pp. 213.

Guóth A., Tari I., Gallé Á., Csiszár J., Pécsváradi A, Cseuz L., Erdei L. (2008) Drought response strategies under grain filling in wheat. Changes in photosynthesis, ABA levels and grain yield. XVI. Congress of FESPB Federation of European Societies of Plant Biology, 17-22. August, 2008, Tampere, Finland, Abstract book, pp.134

Díjak:

Frank-Helianthus Alapítvány 2007. évi pályázata – III. Díj

A PhD értekezés alapjául szolgáló munkát a “Búzakalász” (NKFP 4/064/2004), “Teller Ede” (2006ALAP3-01435/2006) és az „A Tisza-Maros régióban termesztett búzafajták ipari hasznosítása, különös tekintettel a búzakeményítőre” (INTERREG HURO0602/006) kutatási pályázatok támogatták.