

DOKTORI ERTEKEZÉS TÉZISEI

ALACSONY HOMÉRSÉKLET HATÁSAIT BEFOLYASOLÓ
TÉNYEZŐK VIZSGÁLATÁ BÜZABAN (TRITICUM
AESTVUM L.) ES KUKORICABAN (ZEA MAYS L.)

HORVÁTH ESZTER

Kisérletes Növénybiológia Doktori Program (Dr. Gyurján István)
Biológia Doktori Iskola (Dr. Erdéi Anna)

Témavezető: Dr. Janda Tibor
tudományos fórumunkatárs
biológiai tudományok kandidátusa

Magyar Tudományos Akadémia
Mezőgazdasági Kutatóintézet

Martonvásár
2004

5. Páldi, E., Szalai, G., Horváth, E., Janda, T. (2000) Recent advances in cold tolerance research in maize. In: Crop Development for Cool and Wet Climate of Europe (G. Parente and J. Frame eds.) EC, Brussels, Belgium pp. 79-84.
6. Janda, T., Ducruet, J-M., Szalai, G., Horváth, E., Páldi, E. (2000) Thermoluminescence investigation of low temperature stress in maize. In: Crop Development for Cool and Wet Climate of Europe (G. Parente and J. Frame eds.) EC, Brussels, Belgium pp. 85-89.
7. Pál, M. Szalai, G., Horváth, E., Janda, T., Páldi, E. (2002) Effect of salicylic acid during heavy metal stress. *Acta Biol. Szegediensis* 46(3-4): 119-120.
8. Páldi, E., Rácz, I., Szalai, G., Janda, T., Horváth, E., Pál, M., Lászity, D. (2003) Az S-metilmétonin hatása a membránstabilitásra termesztett növényfajokban alacsony hőmérsékleten. In: (szerk. Csorba Zs., Jolánkai P., Szöllősi G.) *III. Növénytermesztséi Tudományos Nap*. Budapest. 193-197.
9. Pál M., Szalai, G., Horváth E., Janda T., Páldi E. (2003) Szalicilsav hatása kadmiumstressz során kukorica növényekben. In: (szerk. Csorba Zs., Jolánkai P., Szöllősi G.) *III. Növénytermesztséi Tudományos Nap*. Budapest. 411-414.
10. Pintér, J., Horváth, E., Marton, L.Cs., Szundy, T., Hadi, G., Kékesi, M., Janda, T., Tóth, Z., Páldi, E. (2003) Az UV-B sugárzás hatása beltenyészett kukorica (*Zea mays* L.) vonalakra. In: (szerk. Bedő Z., Marton L.Cs., Árendás T.) *50 éves a magyar hibrid kukorica*. Martonvásár. 253-258.
11. Páldi, E., Szalai, G., Kocsy, G., Marton L. Cs., Pintér, J., Horváth, E., Janda, T. (2003) A kukorica (*Zea mays* L.) hidegtűrésének élettani és biokémiai alapjai. In: (szerk. Bedő Z., Marton L.Cs., Árendás T.) *50 éves a magyar hibrid kukorica*. Martonvásár. 247-252.
12. Szalai, G., Gyetvai, E., Lászity, D., Rácz, I., Pál, M., Horváth, E., Janda, T., Páldi, E. (2003) Kukorica vonalak toxikus fémekkel és alacsony hőmérséklettel szembeni adaptációs képességének tanulmányozása. In: (szerk. Nagy J.): *Kukoricakonzorcium: Kukorica hibridek adaptációs képességének és termésbiztonságának javítása*. DE ATC, Debrecen. pp. 24-30.

Az alacsony homérekelt komplex módon befolysásojta a novénylek anyágcserejét és hatásában lenyeges folyamat a reakció oxigénförmák fokozott termelődését valja ki, és így stresszolteranciat indukál a novénylekben. A fagyütő novénylekben két fontos elletáti folyamat is végemegy az alacsony homérekelt hatásra. Az egyik a hidegedzős folyamata, amely a novénylek fagyütősest kialakító anyagcsereáltozásokat jelenti. Ennek során szabályozó és funkcionális genék indukálódnak, melyek közül több genn szárazságstessz során is indulnak. A másik fejlődéselőtti folyamat, amely alacsony homérekelt hatásra indulnak. A biotikus stresszhatások kapcsán mutatnak ki, hogy képes a novénylek ellentámadni a vizsgáltat, melyek a gyakorlati szempontból egyszerűen vagy jelentőséggel bír azon végyütletek növeheti. Rokon végyütlete, a 4-hidroxi-benzoéssav ellenben erre nem képes. A szalictílisav hatásmechanizmusa vizsgálva megalapították, hogy a katalázenzimhez kötődik, és ennek során gátolja annak aktivitását. Feltelezhető, hogy a katalázálás miatt megkövérkezett menyiségi hidrogénenperoxid, mert relativi körzetében a szalictílisav hatását, es indítja be az akklimataciót folymatát, mely a novénylek nagyobb stresszüresek eredményez. Valószínű azonban, hogy a szalictílisav számos ponton hatásai van az anyagcsere-re, és nincs egy kizárt hatóhelye. Ugyanabban egyszer több abiotikus stresszválaszban is bizonyítottak a szalictílisav szerepét. Erre példá a kükoricában kímultatott hidrogéntirest fokozó hatása.

Egyéb, a témahez közvetlenül nem kapcsolódó, referált tudományos
folyíratban megjelent publikációk

1. Páldi, E., Szalai, G., Janda, T., Horváth, E., Rácz, I., Lásztity, D. "Determination of frost tolerance in winter wheat and barley at the seedling stage." *Biologia Plantarum*, 44, (2001) 145-147.
2. Németh, M., Janda, T., Horváth, E., Páldi, E., Szalai, G. "Exogenous salicylic acid increases polyamine content but may decrease drought tolerance in maize." *Plant Science*, 162, (2002) 569-574.
3. Horváth, E., Szalai, G., Pál, M., Páldi, E., Janda, T. "A szalicilsav szerepe az abiotikus stressztolerancia kialakulásában." *Botanikai Közlemények*, 90, (2004) 103-112.

Konferenciakiadványok

1. Szalai, G., Tari, I., Janda, T., Horváth, E., Páldi, E. (2000) Salicylic acid may decrease chilling-induced ACC accumulation in maize. In: *Crop Development for Cool and Wet Climate of Europe* (G. Parente and J. Frame eds.) EC, Brussels, Belgium pp. 137-141.
2. Janda, T., Szalai, G., Horváth, E., Páldi, E. (2000) Changes in the far-red light induced AG thermoluminescence band after chilling stress in maize. 12th FESPP Congress, Budapest. *Plant Physiol. Biochem.* 38s: p105.
3. Gyetvai, E., Rácz, I., Lásztity, D., Szalai, G., Janda, T., Marton, L. Cs., Horváth, E., Páldi, E. (2002) Effect of S-methylmethionine as a protective compound on the metabolism of some of agricultural plants at low temperature. *Acta Biol. Szegediensis* 46(3-4): 95-96.
4. Páldi, E., Szalai, G., Horváth, E., Janda, T. (1999) Molecular biological test for determining the frost tolerance of wheat and barley genotypes. In: *Crop Development for Cool and Wet Climate of Europe* (Sanchez-Diaz, M., Irigoyen, J.J., Aguirreolea, J. and Pithan, K eds.) EC, Brussels, Belgium pp. 376-383.

- Munkának elso részben azt kivánnak vizsgálni, szerpet játszhat-e a szalicílsav a következő vizsgálatok elvégzését tiztük ki célul:
- Más fenolszármazékok hatásának vizsgálata a kukorica kataláz izoenzimek aktivitására, illetve a kukorica hidrogénperoxid szalicílsav.
- Eltérő hidrogénperoxidszámukat vonalak összehasonlítása abból a szempontból, hogy milyen mértékben gátolja katalázaktivitásukat a hidrogénperoxid is novelle.
- Ellenorizni kívántuk, hogy a szalicílsav mellett a hidrogénperoxid is novelle szalicílsav.
- Kukorica gyökerekben az alternatív legzés arányát, illetve, hogy hidrogénperoxid is novelle hogyan változik az alternatív legzés intenzitása egy hidrogénperoxidben, és egy hidrogénperoxidben.

Munkának második részben arra kerestünk választ, hogy a szalicílsav és analóg vegyülete, a p-hidroxibenzoésv, a búza fagy-, illetve szárzaságüréset. Ennek keretében tanulmányoztuk kívántuk a szalicílsav és a p-hidroxibenzoésvet a p-hidroxibenzoésv, a búza fagy-, illetve szárzaságüréset. Munkának második részben arra kerestünk választ, hogy a szalicílsav és enzimek aktivitásának változása es a stressztolerancia módsúlása közötti összefüggés vizsgálata tiztük ki.

- Ugyancsak célfájunk kozott szerepelte, hogy a szárzaság-, és hidrogénperoxid szisztemák a novellék fagy-, illetve szárzaságürére gyakorolt hatását vizsgáltuk, annak érdekben, hogy megállapítsuk, fellep-
- Akklimatizációink a novellék fagy-, illetve szárzaságürére gyakorolt hatását vizsgáltuk, amelyet erdekeben, hogy megállapítsuk, fellep-
- Keresztolérancia búzán a kettéle stresszorral szemben. Összefüggést keresztolérancia és antioxidáns enzimrendszer egyes komponenseinek változása es a stressztolerancia kialakulása között.

Célkitűzések

A tézisek alapjául szolgáló, referált tudományos folyóiratban

megjelent publikációk

1. Janda, T., Szalai, G., Antunovics, Zs., Horváth, E., Páldi, E. "Effect of benzoic acid and aspirin on chilling tolerance and photosynthesis in young maize plants." *Maydica*, 45, (2000) 29-33.
2. Horváth, E., Janda, T., Szalai, G., Páldi, E. "*In vitro* salicylic acid inhibition of catalase activity in maize: differences between the isozymes and a possible role in the induction of chilling tolerance." *Plant Science*, 163, (2002) 1129-1135.
3. Horváth, E., Szalai, G., Janda, T., Páldi, E., Rácz, I., Lásztity, D. Effect of vernalisation and 5-azacytidine on the methylation level of DNA in wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Martonvásár 15). *Plant Science*, 165, (2003) 689-692.

Konferenciakiadványok

1. Janda, T., Szalai, G., Antunovics, Zs., Horváth, E., Páldi, E. (1999) Effect of salicylic acid and related compounds on chilling tolerance in young maize plants. In: *Crop Development for Cool and Wet Climate of Europe* (Sanchez-Diaz, M., Irigoyen, J.J., Aguirreolea, J. and Pithan, K eds.) EC, Brussels, Belgium pp. 252-259.
2. Horváth, E., Janda, T., Szalai, G., Páldi, E. (2000) Factors influencing the effect of *in vitro* salicylic acid on catalase activity in maize genotypes with different cold tolerance. In: *Crop Development for Cool and Wet Climate of Europe* (G. Parente and J. Frame eds.) EC, Brussels, Belgium pp. 137-141.
3. Horváth, E., Janda, T., Szalai, G., Páldi, E. (2000) Characterization of the inhibition of catalase by salicylic acid and related compounds in different maize genotypes. *12th FESPP Congress*, Budapest. *Plant Physiol. Biochem.* 38s: 83.
4. Horváth, E., Szalai, G., Janda, T., Páldi, E., Rácz, I., Lásztity, D. (2002) Effect of vernalisation and azacytidine on the DNA methylation level in wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Mv 15). *Acta Biol. Szegediensis* 46: 35-36.
5. Horváth, E., Szalai, G., Pál, M., Páldi, E., Janda, T. (2002) Differences between the catalase isozymes of maize (*Zea mays* L.) in respect of inhibition by various phenolic compounds *Acta Biol. Szegediensis* 46: 33-34.

A veronalizációs vizsgálatokhoz az MV15 bázafajtát használunk (*Triflumum aestivum* L.).
cv. MV15). A csírakat 2°C-on veronalizálunk, illetve 50 µM 5-azacitidin oldattal

A kúlionbázó feholcsiralmazéknek a kethetes növényeket 0,5 mM koncentrációban

kezelünk 1 napig.

A kúlionbázó feholcsiralmazéknek a kethetes növényeket 0,5 mM koncentrációban
PEG-tartalmú tapoldattal idézzük el.

Fagyaszta fagyasziszerekben törteni -11°C-on 1 napig. A szárzságstresszt 15%
Hidrogénezésnek (5°C) 2 napig vettük alá a növényeket. A búza növények
oszi bázát, illetve a kevésbé fagyálló chinesi Spinig tavaszi bázafajtát használunk.
A búza fagyállóságával kapcsolatos kísérletekhez a jö fagyállósággal bíró Chyenne ne
izoláltuk a csírászt kovetően 1 órával (Katt), illetve 9 napjal (Katt).

A kúlionbázó kükörica kataláz izoenzimeket a küköricaszemek scutellumából
állandó megvillágítás mellélt.

Hidrogénezésben névelünk. A hidrogénezés vizsgálatához a növényeket 5°C-ra helyeztük
vonalakat használunk. A növényeket a maratonvásáti Mézezőgazdasági Kutatóintézet
hidrogéntől CMT, ZZ, KW 1074, és a hidrogérezékeny Molt 6 Penjalinan belenyészett
A küköricával (Zea mays L.) kapcsolatos vizsgálatokban a Norma hibridet, illetve a

Növényi anyag, növénynevelés

Anyag és módszer

induktív jelenet.

Azazitidin demethylációs ágenssel törénelő kezelés a hidrogéhálatot a virágzás
illetve 5-azacitidin kezelés hatásra. Arra is választ kerestünk, hogy a 5-
(MV 15) a DNS 5-metylitzotin tartalmának változását a veronalizáció folymán,
• Tárulmányozni kívántunk egy rövid veronalizációs igényű oszi bázafajtában
vizsgálatra volt célunk:

A dologzott harmadik részben a veronalizáció során bekövetkező változások

- A p-hidroxi-benzoésvának először mutattuk ki abiotikus stressztoleranciát fokozó hatását: a Cheyenne fajta szárazságötörsét, a Chinese Spring fajta fagyötörsét növelte. Szerepe lehet a szárazságötörs indukciójában a megnövekedett katalázaktivitásnak.
- A Cheyenne fajta fagyötörsére nőtt szárazságstressz hatására, és ezt a p-hidroxi-benzoésvának előkezelés még tovább fokozta. A Chinese Spring fajtában nem volt egyértelmű a szárazságstressz hatása a fagyötörsre. A fotoszintetikus rendszer károsodását csökkentette ugyan a fagystressz során, de a növények membránkárosodása jelentős mértékű volt.
- Vernalizációval kapcsolatos vizsgálataink azt mutatták, hogy az 5-azacitidin-kezelés, bár a vernalizációhoz hasonlóan csökkentette a DNS metiláltságát, nem bizonyult elegendőnek a virágzás indukciójához az Mv 15 búzafajtában. A vernalizáció folyamatában tehát kulcsfontosságú szerepe van a metiláltság csökkenésének, de valószínűleg nem egyedül ez közvetíti a hideghatást.

Irodalomjegyzék

- Demeulemeester, M.A.C., Van Stallen, N.M., De Profit, M.P. (1999): Degree of DNA methylation in chicory (*Cichorium intybus* L.): influence of plant age and vernalization. Plant Sci. 142: 101-108.
- Janda, T., Szalai, G., Tari, I., Páldi, E. (1999): Hydroponic treatment with salicylic acid decreases the effect of chilling injury in maize (*Zea mays* L.) plants. Planta 208: 175-180.
- Moller, J.M., Berczi, A., van der Plas, H.W., Lambers, H. (1988): Measurement of the activity and capacity of the alternative pathway in intact plant tissues: Identification of problems and possible solutions. Physiol. Plant. 72: 642-649.
- Sánchez-Casas, P., Klessig, D.F. (1994): A salicylic acid-binding activity and a salicylic acid-inhibitable catalase activity are present in a variety of plant species. Plant Physiol. 106: 1675-1679.
- Woodbury, W., Spencer, A.K., Stahmann, M.A. (1971): An improved procedure using ferricyanide for detecting catalase isozymes. Anal. Biochem. 44: 301-305.

Klorofill-a fluorescencia indukció mérése

A növények klorofill fluorescencia indukciós paramétereit a leghatékább témában

kifejezték levélben mérők PAM-2000 fluorométerrel (Janda és mtsai, 1999).

Klorofill-a fluorescencia indukció mérése

Az enzimaktivitásokat a levélben mérők PAM-2000 fluorométerrel (Janda és mtsai, 1999).

Enzimaktivitás mérése

Az enzimaktivitásokat a levélben mérők PAM-2000 fluorométerrel (Janda és mtsai, 1999).

Kataláz izoenzimek elválasztása

A kataláz izoforomák elválasztásához izotoléktromos fókuuszálászt használtunk. Az

Kataláz izoenzimek elválasztása

A kataláz enzim szalicilisavval történő gátlását oxigénenelkőd segítségevel

spektrofotometriás meghatározása Janda és mtsai (1999) szerint történt.

Az enzimaktivitás, és a különöző antioksidáns enzimek aktivitásának

izoenzimkéket aktivitásuk alapján mutattuk ki a gálbén (Woodbury és mtsai, 1971).

A DNS kivonását DNAzol™ Kit-tel végeztük. A metil-citozin és citozin mennyiségeit

Demeulemester és mtsai (1999) HPLC módszerével határozta meg.

Az alternatív leágzás mérése

Oxygénelkőd segítségevel mérőtik a küköríctagyökerek leágzását szálle-

hidroxamassav (SHAM), illetve KCN jelenlétében (Mollee és mtsai, 1988).

Az eredmények 15 ismétles átlagai a klorofill fluorescencia indukciós mérések

enzimaktivitási adatok. A szignifikancia vizsgálatához Student-féle kétmintás t-proba-t

esetében, 10 ismétles átlagai az ionkárámási értékek, illetve 3-5 mérés átlagai az

használtunk.

Eredmények és következtetések

- Eredményeink igazolták, hogy a kukorica kataláz izoenzimei különböző módon és mértékben gátlódnak szalicilsav hatására: más mechanizmus állhat a kétféle gátlás hátterében. A kataláz1 izoenzimet nem-kompetitív módon, a kataláz2-t pedig kompetitíven és kisebb mértékben gátolta a szalicilsav. Ez a megfigyelés arra utal, hogy a szalicilsav hatása szövetspecifikus lehet a kataláz izoenzimek előfordulása szerint.
- A benzoatesav, az acetil-szalicilsav és az o-hidroxi-fahéjsav, a szalicilsavhoz hasonlóan, jelentős mértékben gátolta a kataláz1 aktivitását, a kataláz2-t viszont csak gyengén. A p-hidroxi-benzoatesav azonban mindenkorú izoenzimet csak kis mértékben és kompetitíven gátolta. Azok a vizsgált vegyületek, melyek a kataláz1 aktivitását nagy mértékben gátolták, képesek voltak a kukorica hidegtűrését fokozni. A kataláz1 enzimnek szerepe lehet a hidegtűrés indukciójában.
- A kataláz gyenge kompetitív gátlására minden vizsgált vegyület képes volt, ez megfelelhet a peroxidatív úton történő gátlásnak.
- Hidegtűró kukorica genotípusok katalázaktivitásában a szalicilsav minden esetben jelentős gátlást okozott.
- Az alternatív légzés intenzitása kukorica gyökérben mind szalicilsav-kezelés, mind hidrogénperoxid-kezelés hatására megnőtt, így nem zárható ki annak lehetősége, hogy a szalicilsav hatását a megemelkedett hidrogénperoxid-szint közvetíti. Alacsony hőmérsékleten a hidegtűró genotípusban megnőtt az alternatív légzés aránya, míg a hidegérzékenyben nem történt változás, így nagyobb mennyiségen termelődnek reaktív oxigénformák a mitokondriumban, mely hozzájárulhat a növények fokozott károsodásához.
- A szalicilsav nem növelte a búza stressztoleranciáját: rontotta a Cheyenne őrszi búza fagyjtűrését és a Chinese Spring tavaszi búza szárazságtűrését is, annak ellenére, hogy fokozta a guajakol-peroxidáz, és az aszkorbát-peroxidáz enzimek aktivitását.