

# **Búzafajták szárazságtűrésének élettani indikátorai**

**Doktori (Ph.D.) értekezés**

**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**

# Tartalomjegyzék#

<b>Rövidítések jegyzéke</b> .....	4
<b>1. Bevezetés</b> .....	6
<b>2. Irodalmi áttekintés</b> .....	8
2.1. A búza ( <i>Triticum aestivum</i> L.) fejlődése a csírázástól a magérésig .....	8
2.2. Fejlődési skála .....	13
2.3. A búzaszem feltöltődése.....	15
2.4. A szárazság.....	17
2.4.1. A szárazságstressz, egyes fiziológiai hatásai és a kompenzáló mechanizmusok ....	17
2.4.2. A szárazság hatása a fotoszintézisre.....	19
2.5. A zászlóslevél fotoszintetikus folyamatainak jelentősége a búza esetén .....	21
2.5.1. A zászlóslevél és a pelyvlevél fotoszintézise és jelentősége a szemfeltöltődésben .....	21
2.5.2. A zászlóslevél öregedése, termésérés és szenescencia .....	22
2.6. Az abszcizinsav (ABS) és a szárazság .....	22
2.7. Hormonok szerepe a levélszenescenciában.....	25
2.8. Szemfeltöltődés és a szárazság.....	26
2.8.1. Az ABS szerepe.....	27
2.9. A gyökér és a szárazság.....	28
2.9.1. A gyökér szerkezete.....	28
2.9.2. A szárazság hatása a gyökérnövekedésre .....	29
2.9.3. Hormonok a gyökérben a szárazságstressz során.....	30
<b>3. Célkitűzés</b> .....	32
<b>4. Anyagok és módszerek</b> .....	34
4.1. Növényi anyag.....	34
4.2. Növénynevelés .....	34
4.2.1. Fiatal növények .....	34
4.2.2. Kalászó növények.....	35
4.3. Vízháztartási paraméterek .....	35
4.3.1. Vízpoteenciál.....	35
4.3.2. Relatív víztartalom .....	36

4.3.3. Ozmotikus potenciál .....	36
4.4. Pigmenttartalom .....	36
4.5. Fotoszintézis .....	37
4.5.1. Fluoreszcencia indukció .....	37
4.5.2. CO <sub>2</sub> asszimiláció .....	38
4.5.3. Fluoreszcencia indukció és CO <sub>2</sub> asszimiláció fényválasz görbéinek felvétele .....	38
4.6. ABS kivonása és meghatározása .....	38
4.7. Zászlóslével <i>transz</i> -zeatin ribozid tartalmának kivonása és meghatározása .....	39
4.8. Reaktív oxigénformák és NO detektálása .....	40
4.9. Abszcizin aldehid-oxidáz meghatározása (EC 1.2.3.1).....	40
4.10. Tartalékfehérjék meghatározása .....	41
4.10.1. Mintaelőkészítés .....	41
4.10.2. RP-HPLC eljárás .....	41
4.11. Statisztikai kiértékelés .....	43
4.12. Az eredmények ábrázolása .....	44
<b>5. Eredmények .....</b>	<b>45</b>
5.1. Kalászoló búzák.....	45
5.1.1. Szárazság hatása a terméshozamra .....	45
5.1.3. Szárazság hatása a vízháztartási paraméterekre .....	47
5.1.4. Szárazság hatása a pigmenttartalomra.....	49
5.1.5. Szárazság hatása a fotoszintézisre .....	49
5.1.6. Szárazság hatása az abszcizinsavtartalomra .....	54
5.1.7. Zászlóslével <i>transz</i> -zeatin ribozid tartalma .....	56
5.1.2. Szárazság hatása a tartalékfehérje-tartalomra.....	56
5.2. Fiatal növények .....	57
5.2.1. Ozmotikus stressz hatása a vízháztartási paraméterekre .....	57
5.2.2. Az ozmotikus stressz hatása a fotoszintézisre .....	59
5.2.3. Ozmotikus stressz hatása a hajtás és a gyökér ABS tartalmára.....	64
5.2.4. Ozmotikus stressz hatása az abszcizin aldehid-oxidáz aktivitásra gyökérben .....	65
5.2.5. Növekedés ozmotikus stressz alatt .....	66
5.2.6. Apikális gyökérszegmens ABS, ROS és NO tartalma .....	68

<b>6. Eredmények értékelése</b> .....	70
6.1. Kalászos növények.....	70
6.2. Fiatal növények .....	75
<b>7. Összefoglalás és következtetések</b> .....	81
<b>Summary</b> .....	84
<b>Köszönetnyilvánítás</b> .....	89
<b>Publikációs lista</b> .....	90
<b>Felhasznált irodalom</b> .....	96

## Rövidítések jegyzéke

AAO: abszcizin aldehid oxidáz

ABS: abszcizinsav

AO: aldehid oxidáz

ATP: adenzin-trifoszfát

DPA: days post anthesis = anthézis után eltelt napok száma

DC-FDA: 2,7-diklór-fluoreszcein-diacetát

DC-F: 2',7'-diklór-fluoreszcein

$\Phi_{\text{PSII}}$ : effektív kvantumhasznosítás

FT: friss tömeg

Fv/Fm: maximális kvantumhasznosítás

g<sub>s</sub>: sztómakonduktancia

HMW-GS: high molecular weight glutenin subunit = nagy molekulatömegű glutenin alegység

IPP: izopentenil-difoszfát

Kl *a*: klorofill *a*

LEA: late embryogenesis abundant = késői embriogenezis során felhalmozódó

LMW-GS: low molecular weight glutenin subunit = kis molekulatömegű glutenin alegység

MES: 2-N-morfolin-etán-szulfonsav

NADPH: nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát

NCED: 9-*cisz*-epoxikarotinoid-dioxigenáz

NPQ: non photochemical quenching = nem fotokémiai kioltás

PAGE: poliakrilamid gélelektroforézis

PEG: polietilén-glikol

PFD: photon flux density = foton áramsűrűség

P<sub>N</sub>: nettó CO<sub>2</sub> asszimiláció sebessége

PS I: első fotokémiai rendszer

PS II: második fotokémiai rendszer

qP: photochemical quenching = fotokémiai kioltás

ROS: reaktív oxigén formák

Rubisco: ribulóz-1,5-bifoszfát-karboxiláz-oxigenáz

RWC: relative water content = relatív víztartalom

SDR: rövidláncú aldehyd-dehidrogenáz/reduktáz

SZT: száraz tömeg

TBS: Tris pufferelt sóoldat

t-ZR: *transz*-zeatin ribozid

## 1. Bevezetés

A búza mezőgazdaságilag kiemelkedően fontos növény, a világ egyik legelterjedtebb gabonanövénye, a világ sok más országához hasonlóan Magyarországon is a legfontosabb gabonaféle (1. táblázat).

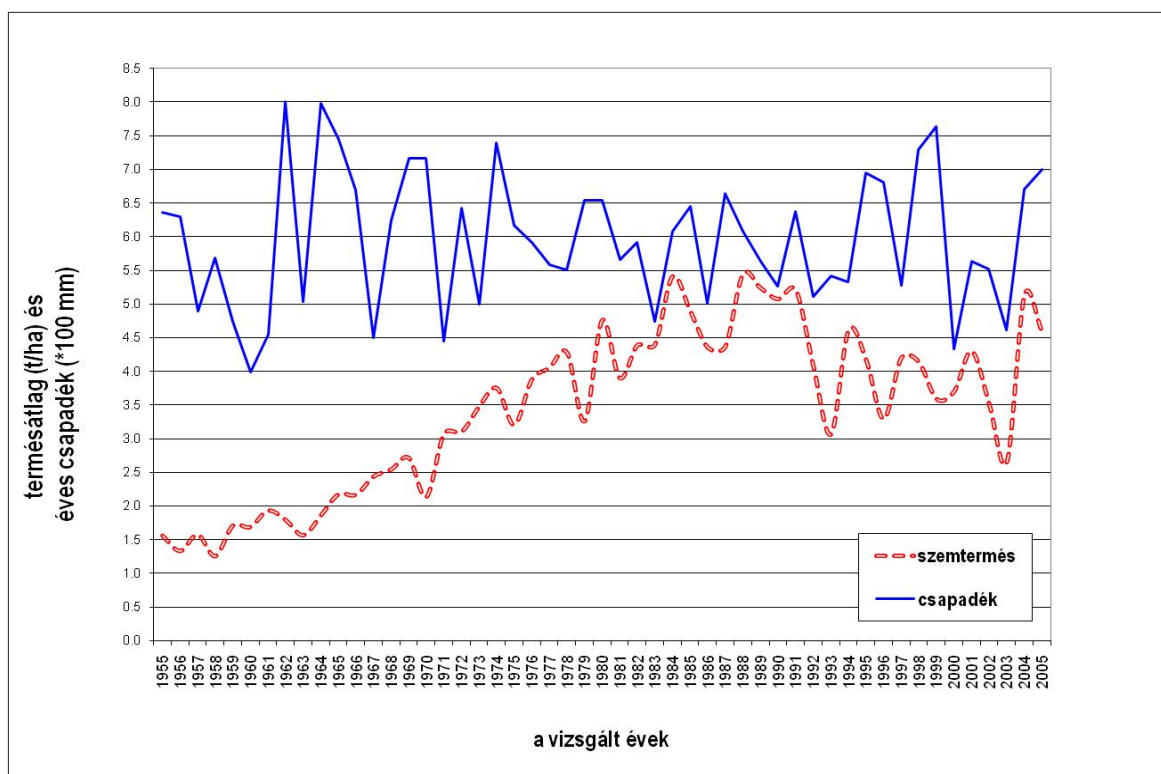
1. táblázat. A főbb búzatermesztő országok termelési mutatói.

(FAO adatok, 2004)

Ország	Vetésterület (ha)	Vetésterület a szántó %-ában	Termésátlag (t/ha)	Össztermés (tonna)
Világ	217.556.474.	15,49	2,86	624.093.306
India	27.300.000	16,88	2,64	72.060.000
Oroszország	22.200.000	17,98	1,90	42.200.000
Kína	21.730.100	15,23	4,20	91.330.265
USA	20.347.060	11,54	2,89	58.881.368
Ausztrália	12.200.000	25,25	1,84	22.500.000
Kazahsztán	10.500.000	48,75	0,91	9.600.000
Kanada	9.906.600	21,65	2,46	24.462.300
Törökország	9.400.000	36,24	2,23	21.000.000
Pakisztán	8.176.000	38,12	2,41	19.767.000
Ukrajna	5.435.000	16,70	3,71	20.211.700
Marokkó	5.317.000	63,32	1,04	5.539.840
<b>Magyarország</b>	<b>1.173.000</b>	<b>25,42</b>	<b>5,13</b>	<b>6.020.000</b>

Az éves termést azonban nagyban befolyásolják a környezeti körülmények, köztük a csapadékhiány is. Az 1. ábrán láthatjuk, hogy Magyarországon az aszályos években a termés is visszaesik.

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 energiatakarékosabb lenne, ha valamelyik fiziológiai paraméter változása és a szárazságtűrés, valamint a hozam között egyértelmű kapcsolatot tudnánk találni, és egy mindenki által elfogadott, egységes tesztrendszert tudnánk kidolgozni.



**1. ábra.** A búza országos termésátlaga (t/ha) és az éves átlagcsapadék adatok (x100 mm) (1953-2005).

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, vízkultúrák) összevetése is elengedhetetlen.

Jelen dolgozatban négy búzafajtát, a szárazságtoleráns Plainsman V. és Mv Emese valamint az érzékeny Cappelle Desprez és GK Élet *Triticum aestivum* genotípusokat hasonlítottunk össze. Két kísérletsorozatot végeztünk, az elsőt vízkultúrában nevelt fiatal növényeken, ahol PEG kezeléssel ozmotikus stresszt idéztük elő, illetve talajban nevelt kalászó növényeken, ahol vízmegvonással idéztünk elő szárazságstresszt. A kontroll és a stresszelt növények változásait, és a genotípus közti különbségeket vizsgáltuk, valamint összevetettük a kétféle kísérleti módszerben kapott eredményeket.



## 2. Irodalmi áttekintés

### 2.1. A búza (*Triticum aestivum* L.) fejlődése a csírázástól a magérésig

#### Csírázás

Az érett búzaszem tartalmazza a növényi embriót és az endospermiumban elegendő tápanyagot, ami a csíranövény kezdeti növekedéséhez szükséges. Az embrió hajtáscsúcsa három vagy négy levélkezdeményből áll, és a rügyecskét a koleoptil védi. A gyököcskét a gyökérhüvely, a koleorhiza védi, mielőtt áttörné a maghéjat. A csírázás folyamata a vízfelvétellel kezdődik. Az embrió hormonális jeleket küld, melyek a hidrolitikus enzimek szintézisét indukálják az aleuron rétegben, elsősorban gibberelinsav szintetizálódik, amely többek közt az  $\alpha$ -amiláz génexpresszióját szabályozza. Az enzimek bontják a sejtfalat és a tartaléktápanyagokat, keményítőt és fehérjét az endospermiumban. Először a gyökér kezdi meg a növekedést, majd a koleoptil is, amit, ha eléri a talaj felszínét, a levelek kifejlődése követ.

#### Korai növekedés és bokrosodás

A vegetatív fázis során a növény több oldalhajtást, vagyis tőhajtást is növeszt. Ezek az alapjánál, a koleoptilből kifejlődő főhajtás, az első levél szárának tövénél kezdenek el növekedni. Elsőként három levél jelenik meg, ezeket megjelenésük szerinti sorrendben nevezzük első, második és harmadik levélnek (2. ábra). Azok a hajtások, amelyek később fejlődnek ki, kevesebb levelet fognak hozni, mint a főhajtás. Az újabb hajtások, és a másodlagos tőhajtások, amik maguknak a tőhajtásoknak az alapjánál fejlődnek, elhalnak a gyors hajtásnövekedési fázisban, tavasszal. Ezek a későbbi tőhajtások tartaléktápanyagot biztosítanak a növény számára.



2. ábra: A búza csíranövény stádiumban, az első levelek megjelenésekor.

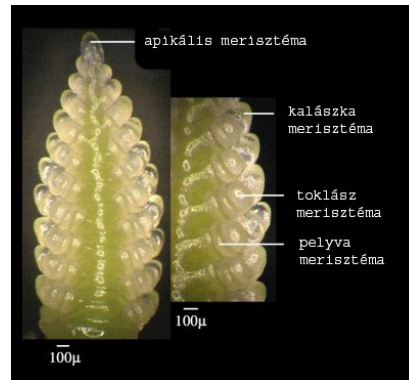
### A szár növekedése és a legfelső levélhüvely fejlődése (kalász hasban állapot)

Amint a terminális kalászká fejlődése megindul, a növény szára elkezd megnyúlni. A levelek a nóduszokban csatlakoznak a szárhoz. Az internódiumok megnyúlását a nóduszok felett elhelyezkedő interkaláris merisztéma biztosítja. A növekedés meghatározott sorrendben történik alulról felfelé, az internódiumok növekedésének mintázata egy teleszkóp nyitásához hasonlítható, mivel minden újabb internódium hosszabb lesz az előzőnél. Ahogy a szár növekszik, a zászlóslevél, azaz a legfelső levél hüvelye megnyúlik, majd megvastagszik. Ahogy a zászlóslevél hüvelye kinyílik, a fiatal fejlődő kalász kinyomódik az azt körülvevő levelek közül. Az utolsó internódium megnyúlása közben a kifejlett kalász kiemelkedik a zászlóslevél liguláján (levélhártya) keresztül, és hamarosan az anthézis és a megtermékenyítés is megtörténik.

### Csúcsi rész fejlődése

A növény csúcsi részén, az apikális merisztéma sejtjeinek osztódásával új sejtek keletkeznek. Kezdetben az embrióban két merisztématikus zóna található a hajtás és a gyökér csúcsi részénél. A hajtásmerisztémákból képződő sejtekből lesznek a levelek, együttesen ezeknek a sejteknek a csoportja alkotja a levélprimordiumokat. Miközben a levelek fejlődnek,

a csúcs vegetatív, majd a vegetatív merisztéma generatívva alakulása után később ugyanebből a merisztématikus zónából fognak azok a sejtek is keletkezni, melyek a virág részét fogják képezni (3. ábra).

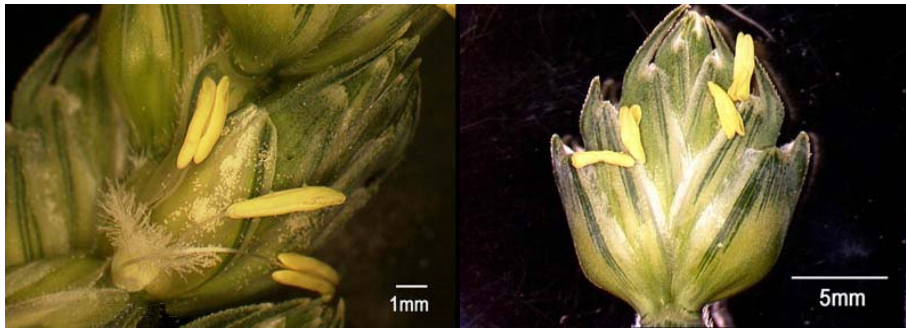


3. ábra: Az apikális rész a fejlődés kezdeti szakaszában.

### Anthézis (virágzás) és megtermékenyítés

Ameddig a kalászt az azt körülvevő levélhüvely védi, vagyis a kalász hasban állapotban, a virág részei folyamatosan érnek, fejlődnek. Minden kalászka 8-12 virágot tartalmaz, jóval többet, mint amennyit fenn tud tartani, legtöbbje ezeknek abortálódik az anthézis előtt, és négy-öt marad termékeny.

Az anthézis, a pollenszemek érése pár nappal azután történik, hogy a kalász kiemelkedik a levélhüvelyből, amikor a virágtengely a kalászt pár centiméterrel a zászlóslevél fölé emeli. A virágzás során számos tökéletesen összehangolt folyamat játszódik le pár perc alatt. A porzószálat tartó filamentum hat-nyoleszorosára nő, és a portokok csúcsán két pórus keletkezik, melyeken keresztül a pollenszemek kihullnak. A virágokban a lodikula megduzzad, amivel gyorsan félrekényszeríti a külső és a belső toklászt, ezzel lehetővé válik, hogy a porzószálak kiemelkedjenek és szabadon lengjenek a virágon kívül (4. ábra). A pollen a portokokból „tollas” bibére esik, majd a termőben, az embriózsákban kettős megtermékenyítés történik. Az egyik hímivarsejt egyesül a petesejttel, amelyből további osztódásokkal a diploid embrió alakul ki, a másik hímivarsejt egyesül az embriózsák diploid központi vegetatív magjával, melyből a triploid endospermium fejlődik ki.



4. ábra: Az anthézis.

## Búzaszem fejlődése, feltöltődése

### 1-4. nap

A megtermékenyítés utáni első négy napban a szem eredeti méretének körülbelül háromszorosára nő, az embriót és az embriózsákot körülvevő perikarpium és az embriózsák megduzzadnak. Ezt a sejtek térfogati növekedése okozza és nem a sejtek osztódása.

Az endospermium sejtjei folyamatosan osztódnak az embriózsákban, de ebben a stádiumban a sejtfaalak még nem alakulnak ki. A sejtmagok ebben a pár napban a „szabad sejtmag-osztódási” állapotban vannak, és ennek a szakasznak a hossza határozza meg részben az endospermium végső sejtszámát. A végső sejtszám szoros összefüggésben van az érett szem végső tömegével, ezért ez a mezőgazdasági termés szempontjából kiemelkedően fontos stádium.

Míndeközben a zigóta mindössze egyszer vagy kétszer osztódik, az embriózsák alján helyezkedik el, és a „sejtes endospermium” táplálja.

### 4-10. nap

Ezt a szakaszt tejesérésnek is nevezik, mert ilyenkor, ha a szemet kettévágjuk, úgy tűnik, mintha az csak fehér színű, tejszerű oldatot tartalmazna.

Ezekben a napokban az sejtmagok tovább osztódnak, a sejtfaalak képződése megindul, az endospermium belső szerkezete kialakul. Az endospermium sejtjeinek, az embriózsákon belüli pozíciójuk szerint más-más lesz a sorsa. A külső sejtrétegből alakul ki az aleuron réteg, míg a belső sejtekből a keményítő endospermium. A sejtek osztódása az anthézis utáni 16. napig folytatódik.

Az embrió további fejlődéséhez és a szem növekedéséhez szükséges tápanyagok a hasi barázdában futó szállítószövetekben szállítódnak. Az embrió is differenciálódni kezd, az 5. napra globuláris stádiumig jut el, a 10. napra megjelennek az embrionális szervezdemények. A celluláris endospermium, ami az embriózsák alapjánál lévő nucelláris szövetet jelenti, erre az időre kezd elhalni.

### **11-16. nap**

Ez a szemfeltöltődés kezdete.

A fejlődő mag még mindig puha, a belső maghéj (perikarpium) a sejtek klorofill tartalma miatt még zöld színű, ami áttűnik a külső, áttetsző maghéjon (epidermisz). Az endospermium sejtjei még tovább osztódnak, és a tartaléktápanyagokat tartalmazó sejt-kompartimentumok is kezdenek kialakulni. Az első nagy, A típusú keményítőszemcsék a 16. nap körül már láthatóak, ahogyan a lipid és fehérje testecskék is. Az embrió gyorsan fejlődik, hosszú, megnyúlt alakja van.

### **17-21. nap**

Ez a viaszérés időszaka.

A 21. napon a szemek eléri végleges frisstömegüket. A mag színe zöldből sárgává változik, a mag belseje még mindig nedves, de az endospermium állaga már csak félfolyékony. Az endospermiumban a sejtosztódás leáll, és ekkora az A típusú mellett a B típusú, kisebb keményítőszemcsék is megjelennek.

A sejt kiterjedése, növekedése és a vízfelvétel még a szárazanyag akkumuláció megszűnése előtt leáll, a keményítő és a fehérje kerül a víz helyére, és a mag elkezd kiszáradni (Berger, 1999).

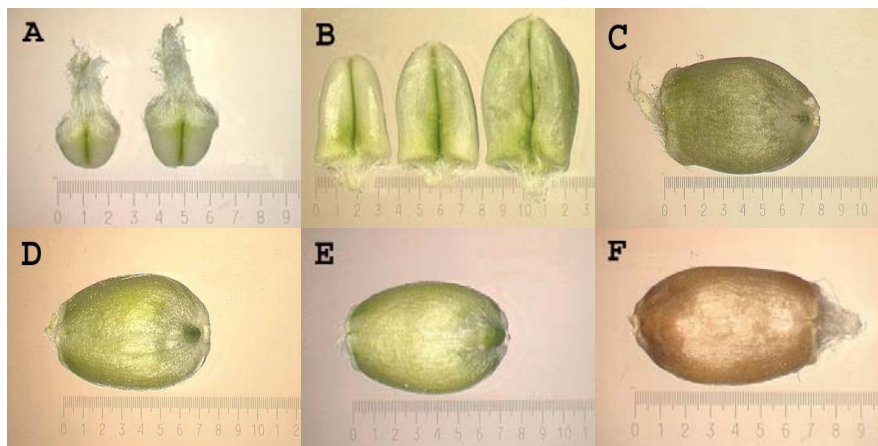
### **21-26. nap**

A szemek aranysárga színűvé válnak, az eddig maximális sebességgel folyó fehérje és szénhidrátakkumuláció már lelassul, és a végső felhalmozást követően a keményítőszemcsék endospermium sejtjeiben programozott sejthalál zajlik le (Young és Gallie, 1999). amivel a szemek felkészülnek a száraz állapotra.

Az aleuronréteg sejtjei a kiszáradás hatásait kivédő fehérjéket (late embryogenesis abundant = késői embriogenezis során felhalmozódó (LEA) proteinek, dehidrinek) és antioxidánsokat termelnek, melyek az ozmotikus stresszel szembeni védelemhez és a desszifikáció toleranciához szükségesek, hiszen a mag az érés végére kiszárad.

## 26. naptól

Ez a holtérés időszaka, a szemek színe világosbarna lesz, és kiszáradnak. Az embrió és az aleuronréteg nyugalmi állapotba lépnek (5. ábra).



5. ábra: A búzaszem fejlődése a megtermékenyítés után.

## 2.2. Fejlődési skála

A mezőgazdaságban és a gabonakutatók által is széles körben használt fejlődési skála a Zadok skála. Ez a decimális skála a gabonanövények főbb fejlődési szakaszait 10-10 fiziológiailag jellemzett, látható változásra osztja fel (2. táblázat).

A dolgozatban bemutatott két kísérletsorozatot a Zadok skála szerinti besorolás szerint a következő időszakokban végeztük:

- Fiatal növényeken végzett kísérletek: Z03-Z13 (szem duzzadásától a harmadik kifejlett levél megjelenéséig)

- Kalászoló növényeken végzett kísérletek: Z45-Z89 (a hüvely megvastagodásától, vagyis a kalász hasban állapottól a szemek élettani érettségéig)

**2. táblázat: Gabonafélék fejlődési stádiumai a Zadok skála szerinti felosztásban.**

Zadok skála	Fejlődési stádium	Zadok skála	Fejlődési stádium
0	Száraz szem	<b>A legfelső levélhüvely fejlődése</b>	
1	Duzzadás kezdete (vízfelvétel)	41	A zászlóslevél hüvelye megnyúlik
3	Duzzadás vége	43	A hüvely vastagodni kezd
5	Gyökér megjelenése	45	A hüvely megvastagodott
7	Sziklevél megjelenése	47	A zászlóslevél hüvelye nyílik
9	Leevélkezdemény a sziklevél csúcsán	49	Az első szálkák láthatóak
<b>Csiranövény fejlődése</b>		<b>A kalász fejlődése</b>	
10	Első levél megjelenése	50	Az első kalászkák láthatóak
11	Első levél kifejlődése	53	A kalász egynegyede kifejlődött
12	Második levél kifejlődése	55	A kalász fele kifejlődött
13	Harmadik levél kifejlődése	59	A kalász teljesen kifejlődött
14	Harmadik levél kifejlődése	<b>Anthézis (virágzás)</b>	
15	Ötödik levél kifejlődése	60	Az anthézis kezdete
19	Kilenc vagy több kifejllett levél	65	A füzérek fele elvirágozott
<b>Bokrosodás</b>		69	A virágzás vége
20	Csak főhajtás	<b>Tejesérés</b>	
21	Főhajtás és egy oldalhajtás	71	A szemek vizesérésben
22	Főhajtás és két oldalhajtás	73	Korai tejesérés
23	Főhajtás és három oldalhajtás	75	A tejesérés közepe
24	Főhajtás és négy oldalhajtás	77	Késői tejesérés
29	Főhajtás és kilenc vagy több oldalhajtás	<b>Viaszérés</b>	
<b>A szár növekedése</b>		83	Korai viaszérés
30	Szárbaingulás	85	Puha táplálósövet (lisztes-test)
31	Az első csomó (nódusz) megjelenése	87	Kemény táplálósövet
32	A második csomó megjelenése	89	Élettani érettség
33	A harmadik csomó megjelenése	<b>Érés</b>	
34	Az ötödik csomó megjelenése	91	A szem kemény (nehéz körömmel szétvágni)
35	A negyedik csomó megjelenése	92	A szem kemény, aratásra érett
36	A hatodik csomó megjelenése	93	A szemtermés csépelhető
37	A zászlóslevél éppcsak látható	94	Túlérés
39	A zászlóslevél gallérja éppcsak látható	95	Szemek nyugalmi állapotba kerülése

### 2.3. A búzaszem feltöltődése

Az egyes szemekben felhalmozódó keményítő és protein mennyisége függ egyrészt az endospermium sejtjeinek számától, ami a szemfeltöltődés korai fázisában már meghatározott, másrészt a sejtek végleges méretétől, amit a vízfelvétel, a sejtfal rugalmassága, valamint a szemfeltöltődés sebessége és időtartama határoz meg (Yang, 2003).

A fejlődés késői szakaszában megszűnik a cukrok és aminosavak szállítása a szembe a hasi barázdán keresztül, és végül kialakul a végleges száraztömeg. Körülbelül ebben az időben a keményítő endospermium sejtjeiben programozott sejthalál zajlik le (Young és Gallie, 1999).

Az érett búzaszem szárazanyagának 65-72%-át keményítő alkotja. A keményítő nagyrésze a keményítő endospermiumban található, nagyon kis mennyiség előfordul még a csírában is. A keményítő endospermiumban a keményítő szemcsék formájában raktározódik, ezeknek a mérete több féle lehet: nagy, A-típusú szemcsék és kicsi, B-típusú szemcsék. A keményítőt két féle molekula alkotja, az **amilóz** és az **amilopektin**. Mindkét molekula 1,4- $\beta$ -D-glükóz polimer, az amilóz elágazásmentesen,  $\alpha$ -1,4 glikozidos kötésekkel kapcsolódik, az amilopektinben  $\alpha$ -1,6 glikozidos kötések is vannak, aminek eredményeként elágazó szerkezetű.

A nagyobb, A-típusú keményítőszemcsék száma az anthézis utáni 4. és 12. nap között alakul ki. A kisebb, B-típusú keményítőszemcsék csak az anthézis utáni 10. naptól kezdenek megjelenni, de ezzel párhuzamosan, az érés további szakaszában az A-típusú szemcsék megnagyobbodása is folyik.

Általánosan elfogadott, hogy a búzalisztből készített tészta sütőipari tulajdonságát elsősorban a siker minősége, ezt pedig főleg az endospermium sikeralkotó tartalékfehérjei, a polimerikus gluteninek és a monomer formában előforduló gliadinok határozzák meg, melyek élettani szempontból is fontos szerepet töltenek be.

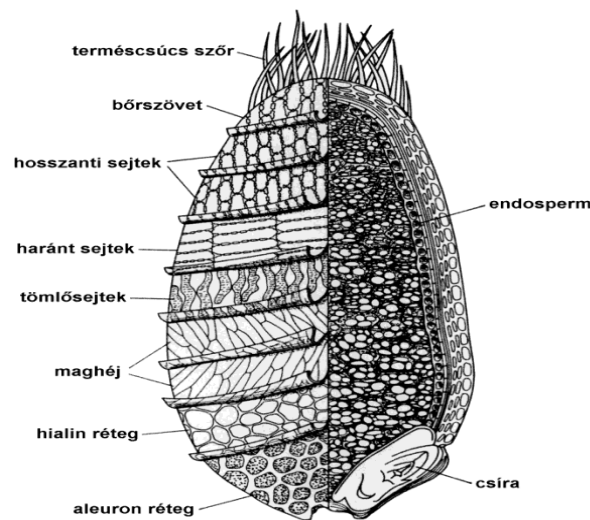
A **glutenineken** belül molekulatömegük alapján megkülönböztetjük a nagy molekulatömegű glutenin alegységeket (high molecular weight glutenin subunits, HMW-GS) melyek mérete 80-120 kDa, és a kis molekulatömegű glutenin alegységeket (low molecular weight glutenin subunits, LMW-GS) melyek mérete 30-50 kDa. A HMW-GS fehérjéknek kulcsszerepet tulajdonítanak a sütőipari tulajdonságok kialakításában, mert elsősorban ezek



határozzák meg a siker rugalmasságát (Tatham és mtsai., 1985), mivel részt vesznek a nagyobb glutenin polimerek kialakulásában.

A **gliadinok** heterogén egy-láncú, 70%-os alkoholban oldódó polipeptidek keverékei. Savas-poliakrilamid gélelektroforetikus (PAGE) elválasztás alapján megfigyelt mobilitásuk alapján négy csoportot különböztetünk meg (csökkenő mobilitás szerint):  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -, és  $\omega$ -glidinokat, molekulatömegük 30 és 75 kDa között mozog.

A **siker** általánosan elfogadott szerkezetére jellemző, hogy rugalmas vázát intermolekuláris diszulfid-kötéseket tartalmazó HMW alegységekből álló polimerek, a glutenin makropolimerek alkotják. Ehhez a vázhoz kapcsolódnak az LMW alegységek szintén diszulfid-kötésekkel, és a gliadinok nem kovalens kötésekkel (Shewry és mtsai, 2001). A sikérkomplex a fehérjéken kívül mindig tartalmaz lipideket, amelyek pontos szerepe még tisztázásra vár.



**6. ábra:** A búzaszem szerkezete.

A **gliadinok** heterogén egy-láncú, 70%-os alkoholban oldódó polipeptidek keverékei. Savas-poliakrilamid gélelektroforetikus (PAGE) elválasztás alapján megfigyelt mobilitásuk alapján négy csoportot különböztetünk meg (csökkenő mobilitás szerint):  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -, és  $\omega$ -glidinokat, molekulatömegük 30 és 75 kDa között mozog.

A **sikér** általánosan elfogadott szerkezetére jellemző, hogy rugalmas vázát intermolekuláris diszulfid-kötéseket tartalmazó HMW alegységekből álló polimerek, a glutenin makropolimerek alkotják. Ehhez a vázhoz kapcsolódnak az LMW alegységek szintén diszulfid-kötésekkel, és a gliadinok nem kovalens kötésekkel (Shewry és mtsai, 2001). A sikérkomplex a fehérjéken kívül mindig tartalmaz lipideket, amelyek pontos szerepe még tisztázásra vár.

## 2.4. A szárazság

### 2.4.1. A szárazságstressz, egyes fiziológiai hatásai és a kompenzáló mechanizmusok

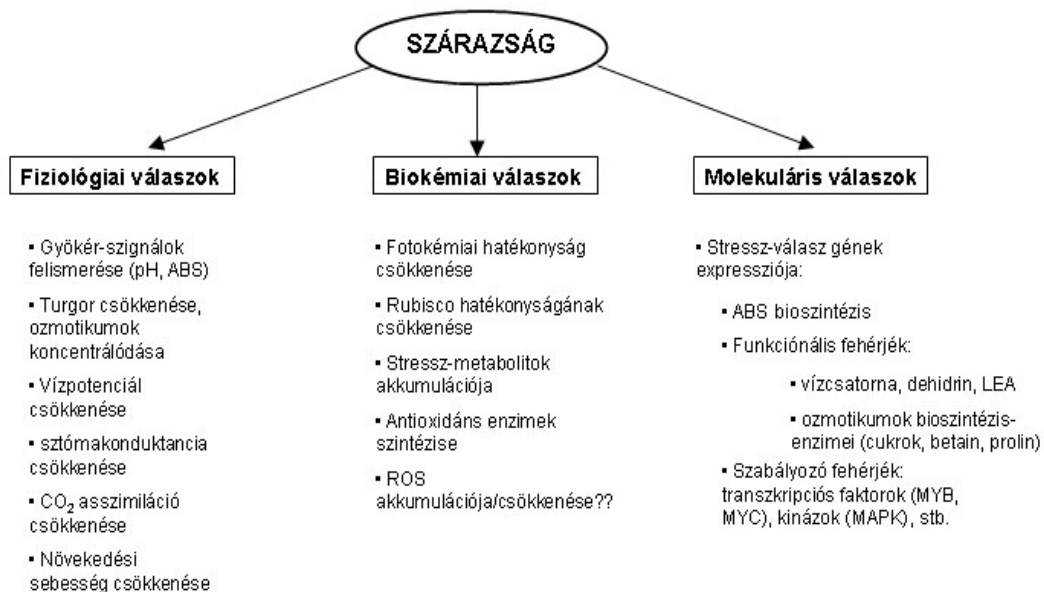
Szárazságstressz akkor éri a növényt, ha nem áll rendelkezésre elegendő, megfelelő termodinamikai állapotban lévő víz. A növényekben akkor lép fel vízhiány, amikor a szövet vagy a sejt víztartalma alacsonyabb, mint jó vízellátottság esetén, vagyis amikor a párologtatás sebessége meghaladja a vízfelvételt. A vízhiány számos stressz egyik eleme lehet, például szárazság, sóstressz vagy hidegstressz esetén is felléphet. A **sejtszintű vízhiány** hatására megváltozhat az oldott anyagok koncentrációja, a sejt térfogata és a membránok szerkezete, csökkenhet a vízpotenciál gradiens és a sejt turgora, romolhat a membránok integritása, a fehérjék pedig denaturálódhatnak.

A szárazságnak számos fiziológiai hatása van, ezek közül néhány fontosabb változás:

- A vízhiány első és legérzékenyebb jele a **turgor csökkenése**, aminek következtében az ozmotikumok koncentrációja következik be.
- **Csökken a levélterület.** A sejtek csökkent víztartalma miatt a bennük lévő turgornyomás is csökken, ezáltal pedig a turgor-függő hajtásnövekedés (Neumann, 1995). A kisebb levélfelületen kevesebb víz párolódik el, ami a szárazság elleni védekezést segíti elő. A levelek száma is csökkenhet levélleválással, és ezzel csökken a párologtatási összfelület.
- **A gyökérnövekedés gyorsulhat.** A gyökér/hajtás arányt a vízfelvétel és a fotoszintézis között beálló egyensúly határozza meg. A hajtás addig nő, ameddig el nem éri azt a méretet, amin túl már a gyökér vízfelvétele limitálja a fejlődését, a gyökér pedig addig

nő, ameddig a hajtás fotoszintézise kielégíti az igényeit. Mivel vízhiány esetén a hajtásnövekedés lelassul, több asszimilátum szállíthat a gyökerekbe, ami a gyökér növekedésének kedvez, és akár még fokozódhat is (Sharp és Davies, 1989). Általában a gyökerek mérete is csökkenhet szárazság esetén (Shao és mtsai., 2008). A gyökerek megtartják növekedési képességüket alacsony vízpotenciál esetén is, hogy a nedvesebb, mélyebb rétegek felé növekedjenek (Sharp és mtsai., 2004).

- **A sztómák bezáródnak.** Ha a külső környezeti körülmények gyorsan változnak meg, és a levelek már elérték teljes méretüket, akkor a párologtatás mértékét sztómazárással lehet befolyásolni, melyben az abszcizinsavnak (ABS) kiemelkedő szerepe van (Schroeder, 2001). A talajszárazság hidraulikus válaszokat is kiválthat, mely megelőzheti az ABS-at a gyökér-hajtás kommunikációban (Christman és mtsai., 2007).
- A sztómazáródás következtében a szárazság csökkenti a fotoszintézis hatékonyságát (Ild. 2.4.2. fejezet).



**7. ábra:** A szárazság hatására fellépő fontosabb fiziológiai, biokémiai és molekuláris változások növényekben.

A növény túlélőképessége az egész növényre jellemző mechanizmusoktól függ, melyekkel megfelelően tud reagálni a sejtszintű vízhiányra. A szárazságtűrő stratégiák különbözőek lehetnek. A szárazság *toleráns* növények a dehidratáltság ellenére képesek az élettani funkcióik megtartására. Az *elkerülő* stratégia esetén a növények még a nedves évszakban befejezik az életciklusukat, a száraz periódus előtt. A vízpotenciál csökkenését *kivédő* növények képesek fenntartani a szövetek hidratáltságát, ezen belül vagy vízmegőrző stratégiát követnek, tehát spórolnak a vízzel, vagy a vizet továbbra is nagy mennyiségben fogyasztják, de gondoskodnak annak pótlásáról, például mélyebb gyökérzet segítségével.

A CAM növények adaptációs előnyben vannak, mivel azok nappal zárva tarthatják a sztómáikat, csökkentve ezzel a párolgási veszteséget, és lehetővé téve ezzel túlélésüket erősen vízhiányos, sokszor félsivatagi, sivatagi körülmények között is.

## 2.4.2. A szárazság hatása a fotoszintézisre

### 2.4.2.1. A szárazság hatása a CO<sub>2</sub> asszimilációra

A fotoszintézis folyamata ozmotikus stressz, vízhiány vagy talajszárazság esetén károsodhat. Azonban ez kevésbé érzékeny folyamat; a sztómazáródással a vízfelhasználás hatékonysága nőhet, mert az a párologtatást jobban gátolja, mint amennyire csökkenti a belső CO<sub>2</sub> koncentrációt. Erősebb stressz esetén már gátlódik a fotoszintézis, a sztómazáródás következtében az **intercelluláris járatok CO<sub>2</sub> koncentrációjának** az O<sub>2</sub>-hez viszonyított csökkenése a C<sub>3</sub>-as növényekben fotolégzés serkentéséhez vezet és a csökken a vízhasznosítás hatékonysága is.

### 2.4.2.2. A szárazság hatása a fluoreszcencia indukcióra

Ha a belső CO<sub>2</sub> koncentráció csökkenése mellett a fényintenzitás elég nagy, akkor a fotorespiráció sem tudja metabolizálni az elektrontranszportlánc energiadús termékeit, és fénygátlás következik be.

Mivel a fotoszintézis az egyik fő metabolikus folyamat, ami meghatározza a terméshozamot, a **klorofill fluoreszcencia** az egyik legelterjedtebb eszközzé vált, amivel a fotoszintetikus apparátus működését lehet nyomon követni vízhiány esetén (Flexas és mtsai.,

2002; Fracheboud és Leipne, 2003; Zlatev és Yordanov, 2004). A szárazság hatása a fotoszintézisre már hosszú ideje nem egyértelmű, és még mindig nem tisztázott, hogy a klorofill *a* (Kl *a*) fluoreszcencia paraméterek megfelelő indikátorai-e a szárazság toleranciának illetve érzékenységének. A kettes fotokémiai rendszer (PS II) érzékeny a környezeti hatásokra, de a szárazság hatásairól számos publikáció jelent meg egymásnak ellentmondó eredményekkel. A fluoreszcencia indukciós paraméterek szárazság hatására bekövetkező változásaival azonban legtöbbször csak a nagyon érzékeny genotípusok szűrhetők ki.

A vízhiányos körülménynek valószínűleg nincs jelentős hatása a PS II elsődleges fotokémiai folyamataira búzában és durum búzában (Subrahmanyam és mtsai., 2006; Hura és mtsai., 2007) és a szárazság sem a **maximális kvantumhatékonyságot** (változó vagy maximális fluoreszcencia, **Fv/Fm**), sem a gyors fluoreszcencia indukciós kinetiktát nem befolyásolta szignifikáns mértékben hat hetes búzanövényeken sötét adaptált leveleiben (Lu és Zhang, 1999).

Ezzel ellentétben a PS II elektrontranszportláncának **effektív kvantumhasznosítása (ΦPSII)** csökkent, a **nem fotokémiai kioltás** nőtt (**NPQ**), de a **fotokémia kioltás (qP)** nem változott vízhiányos növények fényadaptált leveleiben (Lu és Zhang, 1999; Subrahmanyam és mtsai., 2006; Czövek és mtsai., 2006; Hassan 2006).

Más vizsgálatok alapján az Fv/Fm érték csökkenhet vízhiányos körülményeknek kitett fiatal levelekben (Hassan, 2006) vagy búza zászlóslevelében is (Paknejad és mtsai., 2007).

A **minimális fluoreszcencia (Fo)** növekedése vagy az Fv/Fo és Fv/Fm értékek csökkenése a szárazság toleranciára történő szelektálásra alkalmas indikátoroknak bizonyultak árpa növényeknél (Li és mtsai., 2006). Pieters és Souki (2005) munkájában a vízhiány hatására csökkent a ΦPSII és nőtt a nem fotokémiai kioltás (qN) rizsben. Bár a klorofill fluoreszcenciát használható módszernek tartják a búzafajták tesztelésére vízhiányos körülmények között (Flagella és mtsai., 1995), annak kombinálása más módszerekkel biztosabb és pontosabb értékelést eredményezhet.

#### 2.4.2.3. A fényválasz görbe

Az intakt leveleken **növekvő fényintenzitáson** (photon flux density, PFD) mért CO<sub>2</sub> asszimiláció és fluoreszcencia indukciós paraméterek értékeiből fényválasz görbék

(fénygörbék) kaphatunk. A fénygörbéknek több nevezetes pontja illetve szakasza is van, melyek a levelek fotoszintetikus tulajdonságairól biztosítanak információkat.

Sötétben a levelek nem fixálnak  $\text{CO}_2$ -ot, ellenben kibocsátanak, a mitokondriális légzés miatt. Ezért a  $\text{CO}_2$  asszimiláció fénygörbék, vagyis a  $P_N(\text{PFD})$  görbék kezdeti szakaszán negatív  $\text{CO}_2$  asszimiláció értékeket mérhetünk. Azt a fényintenzitás értéket, ahol a  $\text{CO}_2$  asszimiláció 0 lesz, vagyis a görbe x tengelymetszetét *fénykompenzációs pontnak* nevezzük. Ezen a ponton a fixált és a kilélegzett  $\text{CO}_2$  mennyisége éppen megegyezik. A kompenzációs pont értéke függ a növény fajtájától és a környezeti körülményektől is. A kompenzációs pont elérése után a fotoszintetikus ráta lineárisan emelkedik a fényintenzitás függvényében. Ennek a lineáris szakasznak a meredeksége a fotoszintézis *maximális kvantumhasznosítását* mutatja, vagyis azon abszorbeált fotonok mennyiségét, ami 1 mol  $\text{CO}_2$  fixálását teszi lehetővé. Magasabb fényintenzitáson a görbe eléri a *telítési értéket*. Innentől kezdve a fényintenzitás már nem befolyásolja a fotoszintézis hatékonyságát, hanem egyéb faktorok, mint például az elektrontranszportlánc sebessége vagy a Rubisco (ribulóz-1,5-bifoszfát-karboxiláz-oxigenáz) aktivitása válnak limitáló tényezővé. A telítési érték után a fotoszintézis  $\text{CO}_2$  limitálttá válik, ami ezt jelenti, hogy a Calvin-ciklus enzimeit már nem tudnak lépést tartani az abszorbeált fényenergia által biztosított ATP (adenozin-trifoszfát) és NADPH (nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát) termelődésével.

Mind a kompenzációs pont, a maximális kvantumhasznosítás, a telítési  $\text{CO}_2$  asszimiláció és a  $\text{CO}_2$  limitált szakasz kezdete a növény állapotáról, a fotoszintetikus tulajdonságairól és annak megváltozásáról adnak felvilágosítást.

## 2.5. A zászlóslevél fotoszintetikus folyamatainak jelentősége a búza esetén

### 2.5.1. A zászlóslevél és a pelyvalevél fotoszintézise és jelentősége a szemfeltöltődésben

A búza összes vegetatív szerve közül a zászlóslevél és a pelyvalevelek maradnak a leghosszabb ideig metabolikusan aktívak, ezért a tápanyagok ezekből a szervekből tudnak a legtovább a kalász felé áramlani. A zászlóslevél és a pelyvalevelek nagy mértékben hozzájárulnak a szemek feltöltődéséhez. A zászlóslevél fotoszintézise tehát kiemelkedő fontosságú, hiszen az **biztosítja a C-vázis vegyületeket** a szemek számára, amikor az alsóbb

levelek metabolikus folyamatai már nem aktívak. A zászlóslevél magasabb fotoszintetikus aktivitása a Rubisco karboxilációs sebességét növeli meg, és így magasabb terméshozamhoz vezethet (Abbad és mtsai., 2004).

### 2.5.2. A zászlóslevél öregedése, termésérés és szenescencia

A monokarpikus (egyszer termő) növényekre jellemző folyamat, hogy a reproduktív fázis végén a teljes növény előregszik és meghal, ez az úgynevezett **monokarpikus szenescencia**. A folyamat során a növény növekedése, a fotoszintézis és más fiziológiai folyamatok és így az asszimilátumok szintézise is leáll (Noodén, 1988). Az anthézis után fellépő szárazság előidézhetheti a teljes növény szenescenciáját búzában és ezzel párhuzamosan felgyorsíthatja az anthézis előtt szintetizálódott és tárolt szénhidrogének **remobilizációját** a szár és a levelek felől a termések irányába (Yang és mtsai., 2001a, 2003). A levél-szenescencia első jelei a klorofilok bomlása és a fotoszintetikus aktivitás csökkenése (Yang és mtsai., 2001b) Általánosan elfogadott, hogy azok a búza genotípusok, amelyek tovább képesek fenntartani a zászlóslevelük fotoszintetikus folyamatait, jobb terméshozamot biztosítanak. Ezért a gabonakutatások különösen figyelmet fordítanak a zászlóslevél fotoszintetikus folyamatainak tanulmányozására, azonban a végső terméshozamhoz nagy mértékben hozzájáruló asszimilátum-áramlást a levelek felől más paraméterek, például az ABS is befolyásolhatják.

### 2.6. Az abszcizinsav (ABS) és a szárazság

Abszcizinsavat a növények minden szervében vagy élő szövetében találtak már, szinte minden sejtben szintetizálódik, ami kloroplasztot vagy amiloplasztot tartalmaz. **Stresszhormonnak** is nevezik, mert az aszály-, a só- és a hidegtűrésben is szerepet játszik. Vízhány estén a növény védekezési reakcióiban központi szerepe van.

Vízhányos körülmények között sokszorosára emelkedhet az ABS koncentráció a levelekben a kontroll körülményekhez képest. Az akkumulálódó ABS fontos szerepet játszik **sztómazáródás előidőzésében** és ezáltal a transpirációs vízvesztesség csökkentésében.

Ezen túlmenően a növekedésre is hatással van, vízhiány esetén a **gyökér/hajtás arányt növeli**. A megemelkedett ABS szint a gyökerek növekedésére pozitív hatással van; bár a kontroll körülményekhez képest a gyökerek hossza lecsökkenhet, a hajtáshoz viszonyított aránya növekedhet a magas endogén ABS tartalom következtében.

A szárazságstressz kezdetekor a xilémben szállítódó ABS egy része valószínűleg a *gyökérben szintetizálódik*, ami közvetlen kapcsolatban van a száradó talajjal. A transzport a levelekbe még azelőtt lejátszódhat, hogy az alacsony vízpotenciál mérhető változást okozna a hajtások vízháztartási paramétereiben, ezért az ABS molekulát szignálmolekulának tekinthetjük, ami segít a párologtatás csökkentésében a sztómazáródáson keresztül (Davies és Zhang, 1991). A xilémben szállítódó ABS más forrásból is származhat, a szárazság későbbi szakaszaiban az *öregebb levelekből*, melyek korábban elhervadnak, és a fiatalabb levelekből is, ha szárazság elhúzódik (Zhang és Davies, 1989). Azonban más, későbbi kísérletekben, ahol ABS-függő riporter géneket használtak az ABS lokális koncentrációjának meghatározására, azt találták, hogy a vízhiány indukálta ABS először a hajtás szállítónyaláb szöveteiben, a xilémparenchima sejtekben akkumulálódik, és csak később jelenik meg a gyökérben és a sztóma zárósejtekben (Koiwai és mtsai., 2004; Christmann és mtsai., 2005). A korai ABS felhalmozódásának hiánya a gyökérben jelezheti a gyors transzportot a hajtások felé, vagy egy szignálmolekula transzportját, ami akár egy ABS prekursor is lehet. Más eredmények a gyökérből a hajtás felé irányuló kommunikációt a hidraulikus szignálnak tulajdonítják, mert az ABS megjelenését megelőzheti a hidraulikus válasz (Christmann és mtsai., 2007). Vízhiány esetén a xilém pH-ja lúgosabbá válik, aminek szintén szerepe van a gyökér-hajtás jelátvitelben. Hatására valószínűleg az ABS metabolizmusa, hajtáson belüli elosztása és koncentrációja változik meg (Schachtman és Goodger, 2008).

Az **ABS bioszintézise** a kloroplasztiszbán, vagy más plasztiszokban történik. A szintézis kiinduló eleme az izopentenil-difoszfát (IPP), melyből, a karotinoid szintézis utat követve  $\beta$ -karotin, majd zeaxantin képződik. A zeaxantin kétlépéses epoxidációjából származó violaxantin hasítását az **NCED** (9-*cisz*-epoxikarotinoid-dioxigenáz) katalizálja, melynek következtében xantoxin keletkezik. A citoszólban a xantoxin ABS-vá oxidálódik, melynek több lehetősége is van. Növényekben a leggyakoribb, hogy a xantoxinból abszcizinsav-aldehid (ABAld) keletkezik, ezt a lépést egy rövidláncú aldehyd-dehidrogenáz/reduktáz (SDR) katalizálja. Az ABAld oxidációját ABS-vá egy nem túlságosan szubsztrátspecifikus **abszcizin**



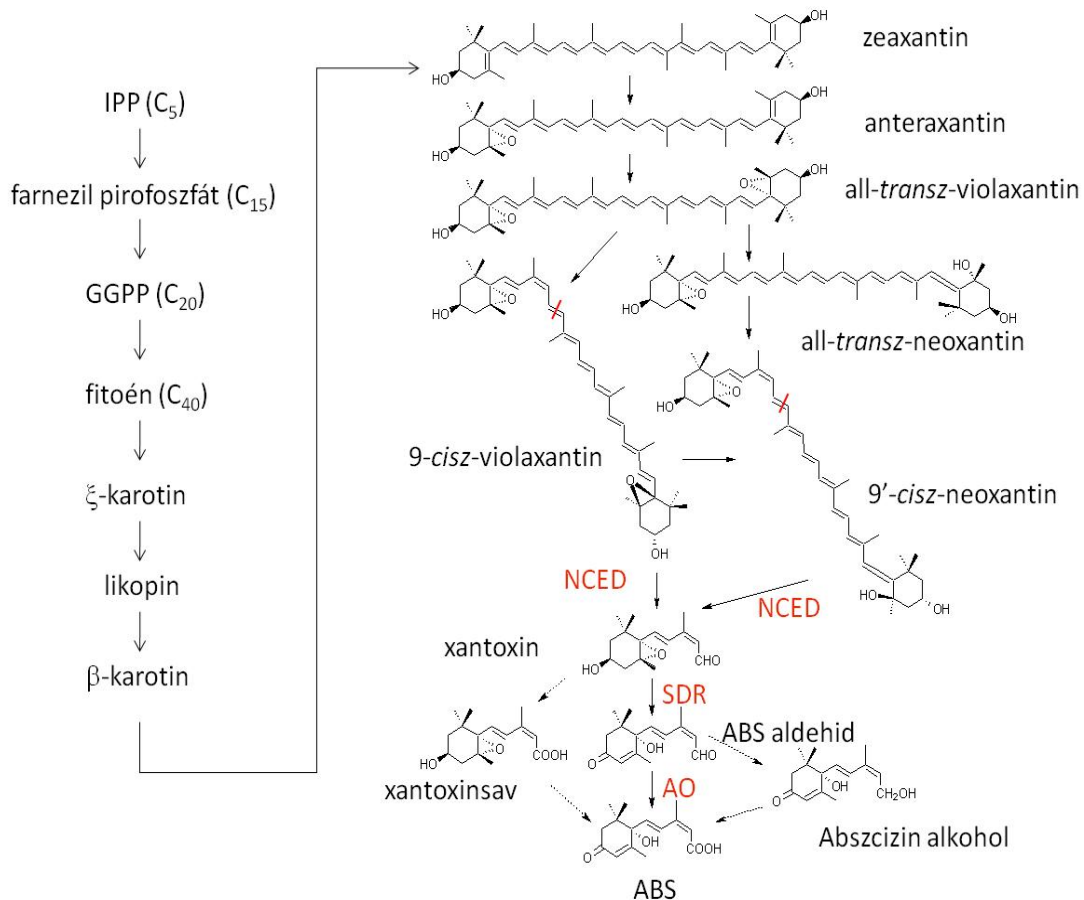
**aldehidoxidáz (AAO)** végzi, amely molibdén kofaktort tartalmaz. A xantoxinból keletkezhet ABS xantoxinsavon, illetve abszcizinalkoholon keresztül is (8. ábra).

A vízhiány esetén megnövekedett ABS szintért elsősorban felelős enzimeket és géneket számos kísérletben vizsgálták. Babbal, paradicsommal és más növényekkel végzett kísérletek egyértelműen kimutatták, hogy az NCED enzim génjének expressziója korrelál a megnövekedett ABS tartalommal a dehidratált levelekben és gyökerekben (Seo és Koshiba, 2002). A szárazság esetén tapasztalt megnövekedett ABS bioszintézisben szabályozó szerepe lehet az aldehid-oxidáznak is. Az AO enzimesalád (EC 1.2.3.1) tagjaként *Arabidopsis*-ban és árpyában négy aldehid-oxidáz gént azonosítottak (AAO1-4), ezek közül *ao3* mutánsok hervadó mutánsok, tehát az AAO3 a növények levelében valószínűleg kiemelkedő szerepet játszik a dehidratáció toleranciában (Seo és mtsai., 2000). Ozmotikus stressz is indukálhatja az AAO3 enzim expresszióját (Xiong és mtsai., 2002)

Az ABS számos gén expresszióját szabályozza szárazságstressz esetén (Rock, 2000). Ezek az ABS indukálta gének elősegítik a szárazságtolerancia kialakulását és az adaptációt a megváltozott környezeti körülményekhez. Ezek között olyan gének találhatóak, melyek kódolhatnak:

- *saperon* védőfehérjéket,
- kompatibilis *ozmotikumok* szintéziséhez szükséges enzimeket. A kompatibilis ozmotikumok (pl. prolin, cukoralkoholok) lehetővé teszik a sejtek vízpotenciáljának csökkenését anélkül, hogy a sejtek turgora és térfogata csökkenne, és a fehérjék konformációja károsodna,
- *membrán transzport fehérjéket*, például ion vagy vízcsatorna fehérjéket,
- ROS (reactive oxygen species, reaktív oxigén formák) molekulákat *semlegesítő enzimeket* vagy szabályozó fehérjéket, például kinázokat kódolnak.

Számos szárazságstressz indukálta gén ABS hatására is indukálódik, azonban más mechanizmusok is szabályozzák ezeket a géneket. ABS függő és ABS független utak is szabályozzák a vízhiányos körülmények hatására bekövetkező változásokat (Ma és mtsai., 2006).



8. ábra: ABS bioszintézise.

## 2.7. Hormonok szerepe a levélszenescenciában

Az **ABS** szerepe a levélszenescenciában már régóta ismert. Exogén ABS kezelés leveleken előidézi az öregedés folyamatát, de már azt is számos kísérletben kimutatták, hogy a különböző stresszorok hatására öregedő levelekben megnövekszik ennek a hormonnak a szintje (Noodén és mtsai., 1997, Yang és mtsai., 2002).

A zászlólevél szenescenciájában az ABS-on kívül a **citokininek** is szerepet játszhatnak. Ezeknek a leveleknek a szenescenciáját a gyökérből származó citokininek szabályozzák, késleltetik. A monokarpikus szenescenciát a gabonafélékben a termésérés folyamata indítja el. Ha a szemeket eltávolítjuk, az öregedést késleltetjük, azonban ebben a folyamatban szerepet játszik a gyökérből származó citokininek a levelek irányába történő transzportjának szabályozása is. A szenescencia késleltetésében elsősorban a zeatin ribozid és

a dihidrozeatin ribozid játszanak szerepet. Ezek a gyökér felől a levelek irányába a xilémen keresztül, a transzspirációs árammal szállítódnak (Noodén és mtsai., 1990). A zeatin ribozid transzportálódó formája a *transz*-zeatin ribozid.

## 2.8. Szemfeltöltődés és a szárazság

A környezeti tényezők az anthézis előtti időszakban befolyásolják a csírázást, a fotoszintézist, ezen keresztül a virág részeinek fejlődését, a generatív szervek tápanyagellátását és ezen keresztül a szemszámot is, az anthézis után pedig hatással vannak a kifejlődő termés méretére és összetételére.

A szemfejlődés korai szakaszában az intenzív sejtosztódás idején ható *szárazságstressz csökkenti az endospermiumban a sejszámot*, ezért a raktározható tápanyag mennyisége is csökken, ezért a szemfeltöltődés foka és üteme is változhat. A szárazság befolyásolja a szemfeltöltődést, korábbra hozhatja az érést, és a szemek mérete lecsökkenhet (Saini és Westgate., 2000).

Számos helyen publikáltak eredményeket arra vonatkozóan, hogy a szárazság *lecsökkentette a szemek méretét*, mivel az érés ideje lerövidült (Altenbach és mtsai., 2003; Kobata és mtsai., 1992). Bizonyos körülmények között azonban a szárazság előmozdíthatja a tápanyagok remobilizációját a levélből és a szárból és megnövelheti a feltöltődés fokát (Yang és mtsai., 2000).

A szárazság hatásáról a tartalékfehérjék felhalmozódására, és végső összetételére viszonylag kevés kísérletet végeztek, sokkal több publikációt lehet találni a hőmérséklet, a nitrogén ellátás és a trágyázás hatásáról. A magas hőmérséklet és nitrogén műtrágya alkalmazása kedvez a gliadinok szintézisének (Blumenthal és mtsai., 1993, Daniel és Triboï, 2000), és hasonlóan a magas hőmérséklet vagy a magas nitrogén tartalom a gliadin/glutenin arányt megnövelheti (Gupta és mtsai., 1992; Jia és mtsai., 1996). Más kísérletekben az anthézis utáni időszakban alkalmazott szárazság nem befolyásolta az akkumuláció mértékét, azonban annak idejét jelentősen lecsökkentette (Panozzo és mtsai., 2001; Triboï és mtsai., 2003). A vízhiány kisebb szemeket, csökkent keményítőtartalmat eredményez búzában (Ahmadi és Baker, 2001).

Az érés időtartama lerövidül a magas hőmérsékletnek kitett növényekben, vagyis a szemfeltöltődés hamarabb befejeződik. Ha a magas hőmérséklet mellé szárazság is társul, ez

az idő tovább rövidül, a maximális víz és száraztömeg tartalmat hamarabb elérik a magok, a keményítő akkumulációja is hamarabb befejeződik, azonban a fehérjeakkumuláció befejeződése nem történik meg hamarabb (Altenbach és mtsai., 2003).

### 2.8.1. Az ABS szerepe

Normál vízellátottság esetén a szemek ABS tartalma nagyon alacsony az embriogenezis idején, majd megemelkedik, és körülbelül a szemfeltöltődési periódus felénél éri el a maximum értékét. Ezután fokozatosan lecsökken, ahogy a mag éretté válik.

A szem érésének utolsó szakaszában dehidratálódik és **nyugalmi állapotba** kerül. Ennek a nyugalmi állapotnak a beállításában, és az idő előtt csírázás megakadályozásában játszik szerepet az ABS. Az ABS másik fontos szerepe a fejlődő szemben a desszikkáció tolerancia kialakulásának elősegítése. Ahogy a mag elkezd kiszáradni, speciális **LEA** (late-embryogenesis-abundant) **fehérjék** termelődnek, melyek a szemben lévő fehérjék védelmét szolgálják. Az ABS-nak hatása van a **tartalékfehérjék és lipidek**, valamint a LEA fehérjék **szintézisére** is.

Búza esetén az embriogenezis az anthézis utáni 10. napig befejeződik, és ezután kezdődik a szemek feltöltődése, amely időszakban az ABS bármelyik nap elérheti a maximum értékét a szem szöveteiben (Taiz és Zeiger, 2006).

Ebben a szakaszban nagyon intenzív a tartaléktápanyagok felhalmozása, melyek a csíranövény korai fejlődéséhez nélkülözhetetlenek. A külső környezeti körülmények is befolyásolhatják a tartalékfehérjék akkumulációját, és ez összefüggésben van az ABS tartalommal, illetve annak megváltozott szintjével. Az ozmotikus és szárazság stressz hatására megnövekedett ABS tartalom negatívan befolyásolhatja a magvak keményítőtartalmát, de kedvezhet a tartalékfehérje akkumulációnak (Wilen és mtsai., 1990; Xu és Bewely, 1995; Xie és mtsai., 2003).

## 2.9. A gyökér és a szárazság

### 2.9.1. A gyökér szerkezete

A szárazföldi hajtásos növények jellegzetes víz- és ásványi tápanyag felvevő szerve a gyökér. Morfológiája, elágazási módja és fejlettsége egyaránt függ a fajtól és az ökológiai körülményektől. A száraz talaj a növényeket általában arra készíti, hogy nagy gyökérrendszert fejlesszenek ki, és így javítsák a vízfelvétel lehetőségét.

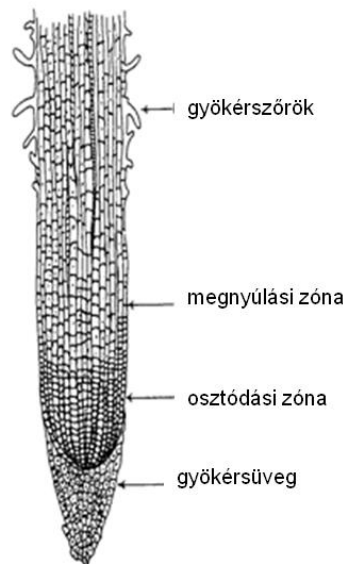
A gyökér szerkezeti részeit a **gyökércsúcs, osztódási zóna, megnyúlási zóna, felszívási zóna, szállító zóna és elágazási zóna** alkotják. A gyökércsúcsot egy különleges parenchimatikus sapka borítja, a gyökérsüveg, vagy kaliptra, mely sikamlóssá teszi a gyökércsúcsot, így könnyebben tud előrehaladni a talajrétegekben, valamint védelmet nyújt a csúcs számára.

A búza gyökércsúcsában az iniciáliscsoportokból fejlődik ki a gyökérsüveg, a bórszövetet, az elsődleges kéregszövege, és a központi henger szövegei. Az osztódási zóna gyors ütemben alakítja ki a gyökeret, ezután a legintenzívebb a megnyúlásos növekedés, innen kapta a megnyúlási zóna az elnevezést, majd megjelennek a következő zónában a gyökérszőrök, amik folyamatosan újraképződnek. A szállító zóna már kifejlett edénnyalábokat tartalmaz, ami mögött már megjelennek a gyökérágak (9. ábra).

Többféle gyökérrendszer alakulhat ki, melyből számunkra az egyszikűekre jellemző gyökérrendszer fontos. Egyszikűek gyökérképződését heterogén radikációnak nevezzük, mely során a primer gyökéren kívül a mezokotilból, vagy a hajtástengely alsó szártagjaiból még hajtáseredetű gyökerek is képződnek és több egyenrangú, egyforma fejlettségű mellégyökér alakul ki, így homorrhizás mellégyökér-rendszerről beszélünk.

A gyökér epidermisz alatti legkülső része az elsődleges kéreg, mely egy parenchimatikus szövet. Legelső sejtsora az endodermisz, amely víz által nem átjárható másodlagos sejtfalvastagodással rendelkezik. Fejlettsége különböző lehet, lényeges az anyagtranszportban és annak szelektivitásában. A központi henger a gyökér endodermiszen belüli szövettája, amelyet a sztéle alapszövet tölt ki. Egyszikűeknél ezt poliarch sztélelnek nevezzük, és ebben helyezkednek el a szállítónyalábok.

A gyökér osztódó csúcsa mögött lévő megnyúlási zóna megnyúlásos növekedése a legnagyobb. Ezt követően megindul a differenciálódás; a bőrszövet, elsődleges kéreg és szállítóhenger szövetei is kialakulnak.



9. ábra: A gyökér szerkezete.

### 2.9.2. A szárazság hatása a gyökérnövekedésre

Vízhiány esetén sok növényfajban a hajtásnövekedés nagyobb mértékben gátolódik, mint a gyökérnövekedés, és a gyökér biomassza sok esetben megnő a jó vízellátottságú körülményekhez képest. Kinematikai vizsgálatok azt mutatják, hogy az alacsony vízpotenciál hatására a **hosszirányú növekedés** sebessége egyértelműen **lelassul** a gyökércsúcs különböző régióiban. Spollen és mtsai. (2008) munkájuk során kukorica csúcsi gyökérszegmensének növekedését vizsgálták szárazságstressz során. Kísérleteiben az apikális 3 mm-ben a hosszirányú növekedés sebessége megegyezett a kontroll növényeknél tapasztaltakkal, még a következő 4 mm-es régióban (2. régió) ez lelassult, és az ezt követő 5 mm-es régióban (3. régió) teljesen leállt. A kontroll növényekben a növekedés a 2. régióban maximális volt, a 3. régióban lelassult. Általában a gyökér apikális 10-15 mm-es régiója magába foglalja a merisztématikus, megnyúlási és érési zónát, ezért ez a régió felelős a leginkább a gyökérnövekedésért.

Azonban a megnyúlási zóna hossza változhat fajonként, és különböző lehet a növény korától vagy a stresszkörülményektől függően. 5 napos búzanövényeknél a gyökércsúcs és a megnyúlási zóna 20 mm-re terjedt ki (Levanony és mtsai., 1989), ezért búza és rizs esetén a legtöbb vizsgálatot ebben a régióban végzik (Pritchard és mtsai., 1998; Chen és mtsai., 2006).

### 2.9.3. Hormonok a gyökérben a szárazságstressz során

Az ABS szerepét az apikális gyökércsúcs morfológiai és fiziológiai változásaiban számos kísérletben vizsgálták. Tápanyaghiányos körülmények között az ABS-nak szerepe van a **gyökér irányított növekedésében** a kedvezőbb talajrészek felé (Vysotskaya és mtsai., 2008). Vízhányos körülmények közt nevelt kukoricánál az ABS tartalom gátlása fluridonnal, karotinoid bioszintézis inhibitorral a gyökérnövekedés gátlását eredményezte (Saab és mtsai., 1990). Alacsony vízpotenciál mellett a kukorica csíranövények növekedési zónáiban az ABS tartalom többszörösére nőtt és ez pozitív korrelációt mutatott a gyökérnövekedéssel (Sharp és LeNoble, 2002).

Abiotikus stressz esetén reaktív oxigén formák termelődnek növényben. Az  $O_2$  vízzé történő redukciója során **ROS** molekulák keletkezhetnek, név szerint szuperoxid gyökkanion ( $O_2^{\cdot-}$ ), hidrogén-peroxid ( $H_2O_2$ ) és hidroxil gyök ( $OH^{\cdot}$ ), de ezek a molekulák könnyen át is tudnak alakulni egymásba (Vranova és mtsai., 2002).

Számos biotikus és abiotikus stressz esetén a szövetek  $H_2O_2$  és a **NO** tartalma megnőhet, és ezek a molekulák jelátviteli molekulákként működhetnek, például a sztóma zárósejtjeiben az ABS szignalizációs útvonalában (Zhang és mtsai., 2007; Neill és mtsai., 2002). A  $H_2O_2$  és a NO egyaránt eldiffundálhat távolabbra a molekula szintézisének helyétől és transzmembrán diffúzióra is képesek (Lancaster 1996; Vranova és mtsai., 2002).

A  $H_2O_2$  jelenlétét a sejtfalakban már kimutatták (Noctor és Foyer, 1998), azonban annak hatása a gyökérnövekedésre még nem egyértelmű. Szerepe lehet a sejtfalat alkotó elemek közti kereszt-kötések oxidatív folyamatok során történő kialakulásában, ami a gyökérnövekedés gátlásához vezet (Bradley és mtsai., 1992; Schopfer 1996; Cosgrove, 1999), azonban a megnyúlási zónában a poliszacharid molekulák bontásán keresztül a  $H_2O_2$  elősegítheti a sejtek térfogati növekedését és ezáltal a gyökérnövekedést (Cordoba-Pedregosa, 2003; Liszkai és mtsai., 2003). Ezért lehetséges, hogy egy bizonyos mennyiségű  $H_2O_2$

szükséges a sejtfalak megnyúlásának biztosításához, azonban a magasabb koncentráció már gátló hatású lehet.

A NO molekulának különböző folyamatokban lehet szerepe. NO termelő anyagok előidézhetik a gyökércsúcs növekedését, azonban nagyobb koncentrációban már gátló hatású lehet (Gouvêva és mtsai., 1997). A NO-nak szerepe van a gyökérnövekedésben különböző stressz körülmények között, például nehéz fémeket tartalmazó környezetben, só-és szárazságstressz, vagy patogének jelenléte esetén (Bartha és mtsai., 2005; Xu és mtsai., 2006; Kolbert és mtsai., 2008).

A NO sokoldalú biológiai molekula, mind a növényekben, mind az állatokban. A növényekben a NO nemcsak egy szignál a növényi immunrendszerben (Delledonne és mtsai., 1998; Durner és mtsai., 1998), hanem komoly szerepe van a növény fejlődésében, és az abiotikus stresszel szembeni adaptációban. Például az NO szükséges a hipokotil elongációhoz (Beligni és Lamattina, 2000), a gyökérnövekedéshez (Gouvea és mtsai., 1997), levél expanzióhoz, és a vízstressz indukálta válaszokban is fontos szerepe van (Magalhaes és mtsai., 2000). Több kutatás ki is mutatta, hogy esszenciális eleme a mellékgyökér képződésnek (Pagnussat és mtsai., 2002), ill. az ABS szignáltranszdukciónak.



### 3. Célkitűzés

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 megfigyelttel. 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 kerestük 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 kalásonként 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 aldehyd-oxidáz aktivitása ozmotikus stressz hatására a gyökérben?

## 4. Anyagok és módszerek

### 4.1. Növényi anyag

Vizsgált fajtáink a *Triticum aestivum* L. cv. Mv Emese, a GK Élet, a Plainsman V. és a Cappelle Desprez voltak. A szárazságtűrő fajták az Mv Emese, az MTA Mezőgazdasági Kutatóintézetében, Martonvásáron nemesített fajta, és a Plainsman V, USA-ból származó fajta. Szárazságra érzékeny fajták a GK Élet, a Gabonakutató Non-Profit Kft. által, Szegeden nemesített fajta, és a Franciaországból származó a Cappelle Desprez voltak.

A kalászoló növényekkel végzett kísérleteinkben mind a 4 fajta szerepelt, fiatal korban a két magyar fajttal (Mv Emese és GK Élet) végeztünk kísérleteket.

### 4.2. Növénynevelés

#### 4.2.1. Fiatal növények

A fiatal növényeket vízkultúrában, Hoagland teljes tápoldatban (5 mM Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 5 mM KNO<sub>3</sub>, 1 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 2 mM MgSO<sub>4</sub>, 1 μM Fe-EDTA, 0,0475 μM H<sub>2</sub>BO<sub>3</sub>, 14,48 μM MnCl<sub>2</sub>, 0,8148 μM ZnCl<sub>2</sub>, 0,3731 μM CuCl<sub>2</sub>, 0,001213 μM Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>), 300 μmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> fényintenzitáson, 12/12 óra fény/sötét megvilágítási periódussal, 25/20 °C nappali/éjszakai hőmérsékleten, 55-60% relatív páratartalom mellett neveltük.

Az ozmotikus stresszt a kísérlet során fokozatosan idéztük elő, a növényállomány fele a csírázástól számított 7. napon 100 mOsm (0,1 g/cm<sup>3</sup>) polietilén glikol (PEG) kezelést kapott, a koncentrációt a 9. napon 200 mOsm-ra (0,143 g/cm<sup>3</sup>), a 11. napon 400 mOsm-ra (0,19 g/cm<sup>3</sup>) növeltük. A növényeket a csírázás utáni 21. napig neveltük, mintavételi illetve mérési napjaink a 7., 9., 11., 13., 15. és 21. napok voltak.

#### 4.2.2. Kalászoló növények

A kalászoló növények neveléséhez használt talaj Terra típusú virágföld és marosi homok 50-50%-os elegye volt. A fekete polietilén cserepek 100%-os nedvességtartalom esetén 2000 g talajkeverék befogadására alkalmasak, aminek a tömege légszáraz állapotban 1400 g. A kontroll és stresszelt növények öntözésének szétválasztása a kalász hasban állapot kezdetekor történt. A kontroll növényeket a talaj 100 %-os vízkapacitásának 60%-ra, a stresszelt növényeket a 25%-ra öntöztük vissza a talaj tömege alapján 2-3 naponta.  $300 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  fényintenzitáson, 12/12 óra fény/sötét megvilágítási periódussal, 25/20 °C nappali/éjszakai hőmérsékleten, 55-60% relatív páratartalom mellett neveltük a növényeket. 6 tervezett mintavételi ill. mérési napunk volt, az első az öntözés szétválasztása után 3-4 nappal, még a kalász hasban állapotban, majd az anthézis idején, és anthézis utáni (DPA) 4., 9., 12., napokon, illetve az utolsó mérési nap fajtától függően a 18./21./24. napon voltak. Az Mv Emese és a GK Élet esetén az utolsó mérési nap nem a tervezett 24., hanem 18. Ill. 21. napok voltak, mert a szárazságnak kitett növények a kontrollnál hamarabb öregedtek, és a fotoszintetikus paraméterek mérésének lehetőségei határozták meg az utolsó mérési napot ezeknél a növényeknél. az Mv Emesénél a 18., a GK Életnél a 21. napon a stresszelt növények levelei már sárgásak voltak, ezeket a napokat ítéltük az utolsó olyan napoknak, amikor még biztosan el tudjuk végezni a tervezett méréseket.

#### 4.3. Vízháztartási paraméterek

##### 4.3.1. Vízpoteenciál

Egy 50 bar nyomásnak is ellenálló nyomáskamrába (PMS Instrument Co., Corvallis, USA) úgy helyeztük a vizsgálati növényt, hogy a levélnyel vagy a szár vágott vége kiálljon az edény szájára rögzített zárószervezetből. Ezután inert,  $\text{N}_2$  gázt engedtünk a kamrába, és a gáz nyomását addig növeltük, míg a xilémnedv meg nem jelent a növény kamrából kiálló vágott felületén, ekkor a gáznyomás ellensúlyozza a levél vízpoteenciálját. Az ekkor leolvasott nyomásérték a növényi szár szöveteinek átlag vízpoteenciál értéke.

A vízpotenciál értékeket fiatal növények első és második levelén és a kalászó bűzák második, vagyis a zászlóslevél alatti levelén mértük.

#### 4.3.2. Relatív víztartalom

A relatív víztartalmat úsztatásos módszerrel határoztuk meg. A frissen levágott levél tömegét lemértük (friss tömeg), egy napig vízben úsztattuk, majd újra lemértük (úsztatott tömeg), ezután egy napig szárítószekrénybe tettük (60°C) és a száraz tömegét is megmértük (száraz tömeg). A következő képlet alapján számoltunk:

relatív víztartalom % =  $[(\text{friss tömeg} - \text{száraz tömeg}) / (\text{teljesen telített szövetek tömege} - \text{száraz tömeg})] \times 100$

#### 4.3.3. Ozmotikus potenciál

A növényi anyagot 0,5 grammonként eldörzsöltük, majd 15 perc centrifugálás után a felülúszó ozmotikus potenciáljának mérésére került sor az oldat fagyáspontcsökkenését mérő ozmométer segítségével (Digital Automatic Osmometer, Mikro GMS). A fiatal növények első, legidősebb leveléből és gyökeréből történt a meghatározás.

#### 4.4. Pigmenttartalom

A pigmenttartalmat a zászlóslevélből határoztuk meg. A levelet hideg, 100%-os acetonnal eldörzsöltük (1,5 ml/ 250 mg növényi anyag), centrifugálás (15 perc, 4°C, 5000 g) után a felülúszót félretettük. A csapadékot újra extraháltuk 80%-os acetonnal, 24 óráig (1,5 ml/250 mg növényi anyag). Centrifugálás után (15 perc, 4°C, 5000 g) a két felülúszót összeöntöttük. Az extraktum pigmenttartalmát Lichtenthaler és Wellburn (1983) spektrofotometriás módszerével meghatároztuk: 470, 646,8 és 663,2 nm hullámhosszakon mért abszorbancia értékek alapján a következő képletek segítségével:

$$\text{Kl } a = 12,25A_{663,2} - 2,79A_{646,8}$$

$$\text{Kl } b = 21,50A_{646,8} - 5,10A_{663,2}$$

$$\text{Kl } a+b = 7,15A_{663,2} + 18,71A_{646,8}$$

$$\text{Karotinoidok} = 1000A_{470} - 1,82\text{kl } a - 85,02\text{kl } b / 198$$

#### 4.5. Fotoszintézis

A fluoreszcencia indukciós paramétereket, a CO<sub>2</sub> asszimilációt és ezek fényválasz görbéit hordozható fotoszintézis mérő rendszerrel mértük (LI-6400, LI-COR Inc., Lincoln, Nebraska-USA). A mérőkamrában a mérés során végig standard körülmények között tartottuk a leveleket, 25°C-os, 65±5 % nedvességtartalmú levegőben. A beáramló külső levegőt a rendszer CO<sub>2</sub> mentesítette, és tiszta CO<sub>2</sub>-ot kevert hozzá, amivel 360 ppm CO<sub>2</sub> koncentrációt biztosított a mérőkamrában. A beáramló levegő áramlási sebessége 500 μmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> volt.

A méréseket fiatal növényeknél az első levélen, kalászoló növényeknél a zászlóslevélen végeztük.

##### 4.5.1. Fluoreszcencia indukció

A klorofill *a* (Kl *a*) fluoreszcencia indukciós paraméterek meghatározásához a quenching analízis módszerét alkalmaztuk (modulációs elven működő fluorométer). 20 perc sötétadaptálás után a kezdeti (alap) fluoreszcencia (F<sub>0</sub>) meghatározása történt modulált mérőfény segítségével, ami elég alacsony volt ahhoz, hogy ne indukáljon fotokémiai reakciót. A maximális fluoreszcencia (F<sub>m</sub>) szintén a sötét adaptáció után, 0,2 s ideig tartó 8000 μmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> telítési pulzsfény segítségével lett meghatározva. A levelek ezután 500 μmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> intenzitású megvilágítást kaptak. Ezt a fotoszintézist lehetővé tevő fényt aktinikus fénynek nevezzük. A fényadaptáció után a steady state fluoreszcencia (F<sub>s</sub>) és egy második telítési pulzsfénnyel (8000 μmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>) a maximális fluoreszcencia (F<sub>m</sub>') is meghatározásra került. Az aktív fény kikapcsolása után a fényadaptált állapot minimális fluoreszcenciájának meghatározását (F<sub>0</sub>') távoli infravörös megvilágítás tette lehetővé (5 μmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>, 3 s). Ez a hullámhossz a PSI aktiválásával a PSII reakciócentrumok oxidációját, nyitott állapotát váltja ki.

Ezen mért paraméterek alapján a következő paraméterek is kiszámítása kerültek: a PSII fotokémiai folyamatainak maximális kvantumhasznosítása ( $F_v/F_m$ ), fotokémiai kioltás  $q_P = (F_m' - F_s)/(F_m' - F_0')$  (Bilger és Schreiber, 1986), nem fotokémiai kioltás  $NPQ = (F_m/F_m' - 1)$  (Bilger és Björkman 1990), és a PSII elektrontranszport-láncának fényadaptált levélen mért effektív kvantumhasznosítása  $\Phi_{PSII} = (F_m' - F_s)/F_m'$  (Genty és mtsai, 1989).

#### 4.5.2. CO<sub>2</sub> asszimiláció

A levelek CO<sub>2</sub> asszimilációját és sztómakonduktanciáját ( $g_s$ ) a fluoreszcencia indukciós paraméterekkel együtt, a 20 perc megvilágítás után határoztuk meg, ugyanazon a ponton, egy időben, a készülékben található infravörös gázanalizátor segítségével.

#### 4.5.3. Fluoreszcencia indukció és CO<sub>2</sub> asszimiláció fényválasz görbéinek felvétele

A leveleket 10 percig sötét-adaptáltuk, majd a beeső fényintenzitást 0 és 1500  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  között változtattam. 7 perc megvilágítás minden fényintenzitáson elegendő volt a CO<sub>2</sub> asszimiláció egyensúlyi értékének eléréséhez. A 7 perces intervallumok végén a telítési fényimpulzusokkal történt a kioltási paraméterek meghatározása.

A fiatal növények esetén a csírázás utáni 16., kalászó növények esetén az anthézis utáni 16. napon végeztem ezeket a méréseket.

#### 4.6. ABS kivonása és meghatározása

A mintákból az ABS kinyerése, kvantifikálása és a visszanyerhetőség ellenőrzése Yang és mtsai (2003) leírása alapján történt.

500 mg levél- vagy 30-500 mg szemtermést 2,5 ml lúgos extraháló pufferben eldörzsöltük (80% (v/v) metanol, mely 1 mg/500 ml butilált hidroxitoluolt tartalmazott, antioxidánsként). A mintát lecentrifugáltuk (25000 rpm, 30 perc), a felülúszót eltettük, a csapadékra újabb 2,5 ml pufferben újra extraháltuk (24 óra, +4°C). Centrifugálás után (25000 rpm, 30 perc) a két felülúszót egyesítettük, és a mintákat vákuumbepárló segítségével

bepároltuk. A bepárolt mintákat a pontos tömegük arányában hígítottuk TBS pufferben (Tris pufferelt sóoldat) (25 mM Tris, 100 mM NaCl, 1 mM MgCl<sub>2</sub> hexahidrát, and 3 mM Na azid, pH 7.5) (100 mg mintához 1500 µl TBS).

A mérés kalibrálásához tiszta +ABS-ból (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) készített koncentrációsorozatot használtunk.

A minták ABS tartalmának kvantitatív meghatározását kompetitív ELISA módszerrel végeztük, Photodetek ABS kit (Idetek, forgalmazó Sigma Ltd.) segítségével, a mellékelt leírásnak megfelelően. A megfelelő szubsztrát hozzáadása után az abszorbancia értékeket 405 nm hullámhosszon, autoreader készülékkel (Dynatech MR 4000) határoztuk meg.

A relatív kötődést Weiler és mtsai (1981) által leírt módon számoltuk.

A kinyerhetőség ellenőrzéséhez 200 pmol +ABS-at (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) adtam 1 g növényi mintához a kivonás előtt. Az ABS kivonásához és kvantifikálásához használt ELISA módszer több, mint 70%-os kinyerhetőséget biztosított.

Abszcizinsav tartalmat fiatal növények első és második leveléből, teljes gyökeréből valamint a gyökerek alsó 1,5 cm-es szegmenséből; kalászó bűzák zászlósleveléből valamint szemterméseiből határoztunk meg.

#### **4.7. Zászlóslevél *transz*-zeatin ribozid tartalmának kivonása és meghatározása**

1000 mg növényi anyagot 7,5 ml 1 mM butilált hidroxitoluol (BHT) tartalmú, 80%-os metanolban (v/v) eldörzsöltünk. 4°C-on 4 óráig inkubáltuk, majd lecentrifugáltam a mintákat (3000 rpm, 10 perc). A csapadékra újabb 7,5 ml 1 mM BHT tartalmú 80%-os metanolt mértünk és 12 óráig 4°C-on állni hagytuk. Centrifugálás után (3000 rpm, 10 perc) a felülúszókat egyesítettük. A felülúszókat Discovery C18-as oszlopokon (Supelco, USA) engedték át, melyeket előzőleg 10 ml 100%-os és 5 ml 80%-os metanollal elő-mostunk. Az oszlopkról a hormon frakciót 7,5 ml 100%-os metanollal és 7,5 ml dietiléterrel eluáltuk/oldottuk le. A mintákat ezután bepároltuk, és pontos tömegük arányában hígítottuk (1000 mg friss tömeghez 2,5 ml TBS puffer) TBS pufferben (800 ml dH<sub>2</sub>O, 3,03 g Tris, 5,84 g NaCl, 0,2 g MgCl hexahidrát, 0,2 g Na azid, pH=7,5).

A minták t-ZR tartalmának kvantitatív meghatározását kompetitív ELISA módszerrel végeztük, Photodetek t-ZR (Agdia) kit segítségével, a mellékelt leírásnak megfelelően.



#### 4.8. Reaktív oxigénformák és NO detektálása

ROS és NO szinteket a csúcsi 1,5 cm hosszú gyökérszegmensek sejtmelegnyúlási régiójában határoztuk meg.

ROS detektálásához 1,5 cm-es gyökérszegmenseket MES/KCl (2-N-morfolin-etán-szulfonsav) pufferben frissen oldott 10  $\mu\text{M}$  2',7'-diklór-fluoreszcein-diacéttal (DC-FDA) (Allan és Fluhr, 1997) festettük. 37 C<sup>o</sup>-on, 20 percen keresztül, sötétben. 20 perc után a gyökereket háromszor 5 percig MES pufferben mostuk ( $10^{-3}$  M, pH 6.15), majd tárgylemezre helyeztük. Az így előkészített mintáinkat Zeiss Axiovert 200M típusú fluoreszcens mikroszkóp alatt vizsgáltuk. Az excitáció hullámhossza ( $\lambda=495$  nm), a fluoreszcencia 515 nm (Räthel és mtsai., 2003) volt. Az expozíciós idő mindig azonos volt, 300 ms, a felvételek készítésénél 5-szörös objektívet használtunk. A mintákról fotót készítettünk nagy felbontású digitális kamerával (AxioCam HR). Az oxidáció hatására keletkező DC-F (2',7'-diklór-fluoreszcein) zöld fluoreszcenciája alapján megmértük a pixelintenzitást, ami arányos a ROS tartalommal. A mérésekhez nagy teljesítményű számítógépet, ill. Axiovision 4.5/Rel. 4.6 nevű programot használtunk. A fényképeket a kísérlet után a program segítségével a megfelelő módon kiértékeljük, 30  $\mu\text{m}$  átmérőjű körben mért pixelintenzitásokat mértünk.

NO szint detektálásához 4,5-diaminofluoreszcein-diacétát (DAF-2DA, 10 $\mu\text{M}$ ) festéket használtunk. A ROS detektálásánál említett beállításoktól csak az expozíciós időben tért el ez a módszer, ami ebben az esetben 1,21 s volt.

#### 4.9. Abszcizin aldehid-oxidáz meghatározása (EC 1.2.3.1)

Aldehid oxidáz (AO) aktivitás detektálása poliakrilamid gélelektroforézissel történt. A méréshez 2 ml extraháló elegyben (összetétele: 3 mM EDTA, 10 mM GSH-redukált glutation, 310 mM FAD, 1 mM DTT-ditiotreitol, 5 mM L-cisztein, 250 mM Tris puffer pH 7,5, fenilmetil szulfonilfluorid, 0,1 mM antipain) eldörzsölt növényi részek centrifugálásával (Eppendorf centrifugában 10 percig) kinyertük a sejtnedvet. Majd Bradford szerint történő (1976) fehérjemérés után a gyökérből 50 mg fehérjét és tizedmennyiségű brómfenolkék festéket tartalmazó szacharózos mintafelvívő puffer (50% szacharóz, 0.1% brómfenolkék)

került felvitelre zsebenként a poliakrilamid (5 és 7.5% szeparáló és stacking) géltre. Szubsztrátul indol-3-aldehid szolgált (Sagi és mtsai., 1998).

A gélek kvantitatív kiértékelése Kodak EDAS 290 szoftver segítségével történt.

## **4.10. Tartalékfehérjék meghatározása**

### **4.10.1. Mintaelőkészítés**

A gliadinok kinyeréséhez mintaelőkészítési módszerként kis módosításokkal az elsőként Bietz és mtsai (1984) által publikált eljárást alkalmaztuk. 50 mg dörzsmozsárban homogenizált búzaőrleményhez 1 ml 70%-os etanol oldatot adtunk, ami 200 µl/l mennyiségű propiofenon retenciós standardot tartalmazott. A mintákat 30 percig rázattuk (2000 rpm, IKA Vibrax, Németország), végül 0,45 µm-es PVDF szűrőn (Millipore, USA) szűrtük. A szűrletet közvetlenül injektáltuk a készülékbe.

A gluteninek kinyerését Larroque és mtsai (2000) szerint végeztük, kisebb módosításokkal.

Gliadin kinyerése után az extrakciós maradékkal tovább dolgoztunk. A maradékot kétszer 1 ml 70%-os etanollal mostuk, a mosások során a mintákat fél-fél óráig rázattuk, majd centrifugáltuk (17000g, 5 perc) azokat. A felülúszót elöntöttük és a maradékhoz 1 ml puffert (50 % propanol, 2 M karbamid, 0,2 M Tris, pH=6,6, frissen 1 v/v% DTT) adtunk hozzá. A reakcióelegyet vortexszel összekevertük, majd 1 óráig 60 °C-os vízfürdőben tartottuk, miközben legalább kétszer újra átkevertük. Ezután 10 ml 4-vinilpridint adtunk hozzá és további 15 percig 60 °C-on tartottuk. A mintákat centrifugáltuk (17000 g, 5 perc), a felülúszót 0,45 mm-es PVDF szűrőn szűrtük. A szűrlet a redukált és alkilált polimer frakciót tartalmazta, amit közvetlenül injektáltunk a kromatográfba.

### **4.10.2. RP-HPLC eljárás**

A gliadinok és a gluteninek elválasztására a Marchylo és mtsai (1989) által kidolgozott módszer módosított, optimalizált változatát alkalmaztuk. Az analitikai elválasztásokat Perkin

Elmer LC 200 típusú DAD-HPLC készülékkel végeztük. Mérési eredményként az egyes elválasztott fehérjékre kapott csúcs alatti területeket értelmeztük. Mind a gliadin, mind pedig a glutenin elválasztások esetén készítettünk vak, csak a kinyerés során alkalmazott vegyszereket tartalmazó mintákat és a vak minták kromatogramjával korrigáltam a vizsgálati minták kromatogramjait (a vak minta kromatogramját kivontam a vizsgálati minta kromatogramjából).

A Perkin-Elmer készüléken alkalmazott optimált paraméter-beállításokat a 3 és 4. táblázatok tartalmazzák.

**3. táblázat:** AZ RP-HPLC paraméter beállításai gliadinok vizsgálatához.

Berendezés	Perkin-Elmer Series 200 típusú kromatográfias rendszer (quaterner pumpa, diódasoros detektor, automata mintavevő, oszloptermosztát, TotalChrom Workstation kromatográfias szoftver)
Analitikai oszlop	Vydac C18 (típusa: 218TP104)
Analitikai oszlop hossza	25 cm
Analitikai oszlop átmérője	4,6 mm
Termosztálás	65°C
Pórusátmérő	10 µm
Áramlási sebesség	0,75 ml/perc
Injektált mintamennyiség	20 µl
Detektálás	UV, 214 nm (ref.: 280 nm)
Retenciós standard	propiofenon, 200 µl/l
Elúció	gradiens elúció (25-50% B A-ban)
Eluensek	A: 0,3 v/v% TFA vízben B: 0,3 v/v% TFA AN-ben
Gradiens	step 0: 0,5min; 25,0% B; curve 0 step 1: 7min; 31,0% B; curve 1 step 2: 9min; 34,0% B; curve 1 step 3: 5min; 36,0% B; curve 0 step 4: 15min; 40,0% B; curve 1 step 5: 5min; 42,0% B; curve 1 step 6: 18min; 50,0% B; curve 1 step 7: 10min; 25,0% B; curve 0
Analízisidő	65 perc

**4. táblázat:** AZ RP-HPLC paraméter beállításai gluteninek vizsgálatához.

Berendezés	Perkin-Elmer Series 200 típusú kromatográfiás rendszer (quaterner pumpa, diódasoros detektor, automata mintavevő, oszloptermosztát, TotalChrom Workstation kromatográfiás szoftver)
Analitikai oszlop	Vydac C18 (típusa: 218TP104)
Analitikai oszlop hossza	25 cm
Analitikai oszlop átmérője	4,6 mm
Termosztálás	50°C
Pórusátmérő	10 µm
Áramlási sebesség	0,75 ml/perc
Injektált mintamennyiség	20 µl
Detektálás	UV, 210 nm (ref.: 280 nm)
Retenciós standard	-
Elúció	gradiens elúció (24-60% B A-ban)
Eluensek	A: 0,1 v/v% TFA vízben B: 0,1 v/v% TFA AN-ben
Gradiens	step 0: 0,5min; 24,0% B; curve 0 step 1: 17min; 30,0% B; curve 1 step 2: 20min; 35,0% B; curve 1 step 3: 23min; 60,0% B; curve 1 step 4: 5min; 24,0% B; curve 0
Analízisidő	60 perc

#### 4.11. Statisztikai kiértékelés

A vizsgálati eredmények matematikai-statisztikai feldolgozását és kiértékelését a SigmaStat 3.1 (Systat Software Inc, USA) szoftverrel végeztük. Minden mérésnél a kontroll és kezelt növények adatait kétmintás t-próbával hasonlítottuk össze. A dolgozatban a szignifikáns eltéréseket a különböző szignifikancia szinteken jelöltük (\*:  $\alpha=0,05$ ; \*\*:  $\alpha=0,01$ ; \*\*\*:  $\alpha=0,001$ ).

(A HPLC-vel mért független párhuzamos vizsgálatok mérési eredményeinek statisztikai elemzését páros t-próba végzésével vetettük össze.)

A dolgozatban ábrázolt adatok 3-5 független minta átlag értékei,  $\pm$  SD (standard deviancia). Amennyiben a SD értékek kisebbek, mint az adatot jelző jelölés, nincsenek feltüntetve.

#### **4.12. Az eredmények ábrázolása**

A kalászó növényeken kapott eredményeim bemutatásakor az időskálán a kalász hasban állapotot a -4 DPA (days after anthesis = anthézis utáni napok száma) jelzi, az anthézis idejét pedig a 0 DPA jelöli.

## 5. Eredmények

### 5.1. Kalászoló búzák

Kísérleteink első részében a szárazság hatásainak vizsgálatát a kalászolás időszakában végeztük. A kalászhásban állapottól a szemek éréséig, az idő függvényében illetve a szemek érett állapotában vizsgáltunk bizonyos fiziológia paramétereket, és kerestük azt, hogy ezek közül melyik jellemzi a szárazságtűrő vagy érzékeny fajtákat. Vizsgáltuk a vízháztartási és fotoszintetikus paraméterek, a zászlóslevél pigmenttartalmának, a zászlóslevél ABS és transz-zeatin ribozid tartalmának valamint a szemtermés ABS tartalmának változását. Az szemfeltöltődési periódus végén meghatároztuk az érett szemek különböző tartalékfehérje frakció tartalmát, és a terméshozam paramétereket.

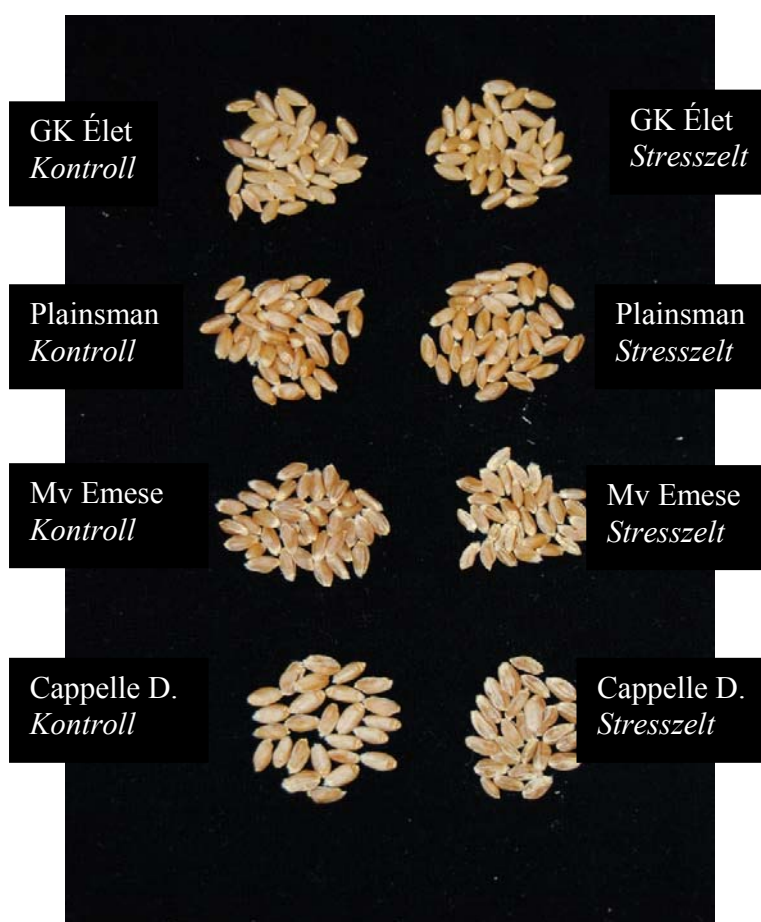
#### 5.1.1. Szárazság hatása a terméshozamra

A kalásonkénti szemszám, a kalásonkénti szemtömeg és az ezerszem-tömeg szignifikánsan lecsökkent a két érzékeny fajta, a GK Élet és a Cappelle D., valamint az egyik toleráns fajta, az Mv Emese esetén is. Azonban az Mv Emesénél tapasztalt csökkenés jelentősen kisebb a két érzékeny genotípusénál. A GK Élet és a Cappelle D. hozamparaméterei jelentősen nagyobb mértékben csökkentek, mint az Mv Emese esetén. A Plainsman hozama nem csökkent szignifikánsan a szárazság hatására. Tehát a két vizsgált érzékeny genotípus mezőgazdasági szempontból jóval érzékenyebb a szárazságra a toleráns fajtáknál, még azt figyelembe véve is, hogy a vízmegvonás hatására az Mv Emese termésének mennyisége is szignifikáns mértékben csökkent a kontroll növényeihez képest. A GK Életnél és a Cappelle D.-nél mindhárom paraméter közel a felére csökkent (5. táblázat).

A kalásonkénti szemszám csökkenése mellett az érzékeny fajtáknál rosszul feltöltődött, a kontrollokhoz képest vékony szemeket figyeltünk meg, míg a toleráns fajták termése láthatólag jobban feltöltődött volt (10. ábra).

**5. táblázat:** Kalászonkénti összes szemtömeg, kalászonkénti szemszám és ezerszem-tömeg változása szárazság hatására, ill. a kontroll növényekben az Mv Emese, a GK Élet, a Plainsman és a Cappelle Desprez búzafajtákban.

Fajta	Kezelés	Kalászonkénti szemszám	Kalászonkénti szemtömeg (g)	Ezerszem-tömeg (g)
Mv Emese	Kontroll	27.05 ± 7.4	1.32 ± 0.54	52.57 ± 4.8
	Szárazság	19.63 ± 4.4** (-27,40%)	0.80 ± 0.1*** (-39.53%)	41.74 ± 12.2** (-21.22%)
Plainsman V.	Kontroll	17.72 ± 8.1	0.64 ± 0.4	40.83 ± 3.0
	Szárazság	15.80 ± 4.2 (-10.77%)	0.58 ± 0.2 (-9.41%)	39.58 ± 1.6 (-3.05%)
GK Élet	Kontroll	31.6 ± 4.9	1.59 ± 0.3	50.32 ± 6.9
	Szárazság	17.76 ± 6.5*** (-43.78%)	0.38 ± 0.2*** (-75.71%)	18.76 ± 1.9*** (-62.71%)
Cappelle D.	Kontroll	27.71 ± 8.2	1.8 ± 0.7	65.73 ± 16.7
	Szárazság	15.85 ± 4.5*** (-42.78%)	0.63 ± 0.4** (-64.57%)	34.83 ± 13.5** (-47.00%)



**10. ábra:** Kontroll és szárazságstressznek kitett növények érett szemtermései.

### 5.1.3. Szárazság hatása a vízháztartási paraméterekre

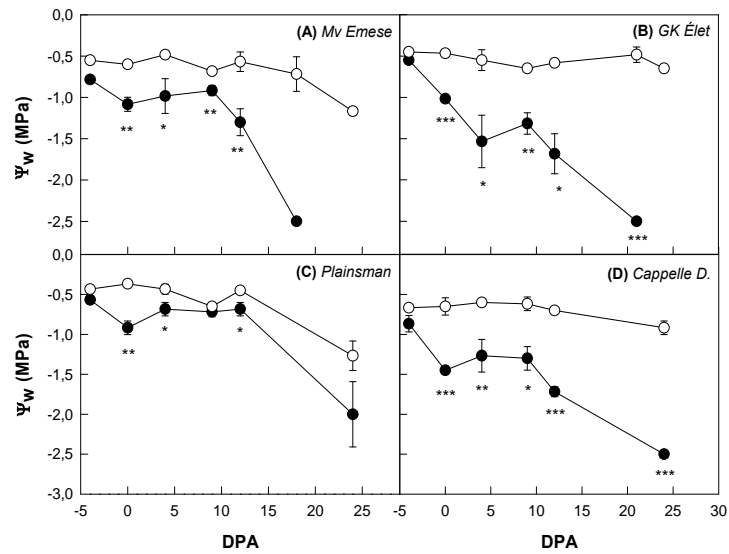
A vízpotenciál értékek vízmegvonás hatására mind a négy vizsgált fajtában szignifikánsan csökkentek, de az érzékeny fajtákban (GK Élet és Cappelle D.), a csökkenés nagyobb mértékű volt, és hamarabb jelentkezett (*11. ábra*).

Az Mv Emese, a szárazságtoleráns búzafajta már a kalász hasban állapotkor lecsökkentette a vízpotenciálját a levelében vízmegvonás hatására, ez a szárazságstressz körülbelül 4-5. napja. A többi napnál jóval nagyobb különbséget tapasztaltunk a 18. napon, de itt már a növény öregedése is közrejátszik, hiszen a stressznek kitett növényeknél a 18. napon már a szenescencia egyértelmű jeleit tapasztaltuk, a levelek fonnyadtak, sárgák voltak. Az érzékeny GK Élet és a Cappelle D. már az anthézis idején csökkentették le a vízpotenciál értékét a szárazság hatására, és ezt ezek a fajták is végig szignifikánsan alacsonyabban tartották kontrollhoz képest. A GK Életnél a 21. napon a legnagyobb a különbség, ebben az esetben is a növény öregedése mutatkozik meg. A Plainsman esetén is tapasztaltuk a szignifikáns különbségeket a különböző mértékben öntözött növények között, már a kalász hasban állapottól, az utolsó napon pedig a kontroll növény vízpotenciálja is lecsökkent a korábbi napokhoz képest.

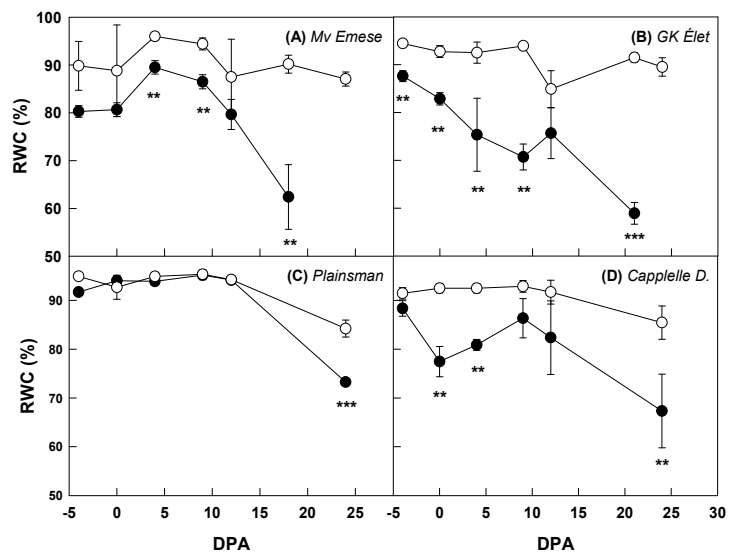
Azonban az érzékeny a GK Élet és a Cappelle D. fajtákban a 4. és 12. napok között mért vízpotenciál értékek alacsonyabbak voltak, mint a toleráns Mv Emese és a Plainsman fajtáknál, vagyis a két fajtában hamarabb tapasztaltunk vízpotenciálcsökkenést a szárazság hatására. Az érzékeny fajták stresszelt növényeiben mért értékek -1,5 MPa körüli értékre csökkentek és akörül is maradtak, míg a toleránsabb Mv Emesénél a legalacsonyabb érték -1,3MPa körül volt, és azt is csak a 12. napon érte el (*11. ábra*).

A relatív víztartalmat szintén a második levelekből határoztuk meg. Ez a paraméter is hasonlóan alakult, mind a négy genotípus esetén lecsökkent a vízmegvonás hatására. Az Mv Emesénél a 4. naptól tapasztaltunk szignifikáns különbséget, a Plainsman esetén pedig csak a legutolsó napon. A GK Életnél a kísérlet során végig alacsonyabb volt a stressznek kitett növény leveleinek relatív víztartalma, a Cappelle D. esetén pedig a kalász hasban állapotkor csökkent le szignifikánsan. A stresszelt növényekben az RWC értékek az érzékeny fajtákban korábban csökkentek le és jóval alacsonyabbak voltak, mint a toleráns fajtákban (*12. ábra*).





**11. ábra:** Vízpotenciál változása szárazságstressz hatására (●), ill. a kontroll (○) növényekben az idő függvényében az Mv Emese (A), a GK Élet (B), a Plainsman (C) és a Cappelle Desprez (D) búzafajták második levelében a szemfeltöltődés során.



**12. ábra:** Relatív víztartalom változása szárazságstressz hatására (●) ill. a kontroll (○) növényekben az idő függvényében az Mv Emese (A), a GK Élet (B), a Plainsman (C) és a Cappelle Desprez (D) búzafajták második levelében a szemfeltöltődés során.

#### 5.1.4. Szárazság hatása a pigmenttartalomra

A zászlóslevelek klorofill a+b tartalma nem csökkent jelentősen a szárazság hatására a 12. napig, szignifikáns különbségeket csak a későbbi, 18. 21. és 24. mérési napokon találtunk. Azonban a Cappelle D. és a Plainsman kontroll leveleiben is csökkent a klorofilltartalom a legutolsó mérési napon, ami azt mutatja, hogy az öregedési folyamatok a vízzel jól ellátott növényekben is elkezdődtek erre az időpontra. A karotinoidtartalom hasonlóan alakult (13. és 14. ábra).

#### 5.1.5. Szárazság hatása a fotoszintézisre

##### 5.1.5.1. Fluoreszcencia indukció és CO<sub>2</sub> asszimiláció változása a szemfeltöltődés alatt

A fluoreszcencia indukciós paraméterek és a CO<sub>2</sub> asszimiláció mérése a zászlóslevélen történt. A kísérlet eredeti terve szerint az utolsó mérési nap az anthézis utáni 24. nap (DPA 24) lett volna. Azonban a vízmegvonás hatására két fajtánál korábbi öregedést tapasztaltunk a kontroll növényekhez képest. Az utolsó mérési nap az Mv Emesénél a 18. napra, a GK Életnél a 21. napra módosult, ezeken a napokon még éppen mérhetőnek ítéltük meg a levelek fotoszintetikus aktivitását.

Az Fv/Fm értékek a kontroll növények esetén az irodalomnak megfelelően végig 0,77 - 0,8 között alakultak. A stressznek kitett növények sem tértek el ettől a 12. napig. Az utolsó mérési napokon, az anthézis utáni 18., 21. illetve 24. napokon azonban mindegyik genotípusnál szignifikánsan lecsökkent a PS II maximális kvantumhasznosítása. A Plainsman esetén a kontroll növényekben a 24. napon szintén szignifikáns csökkenést tapasztaltam az Fv/Fm értékekben.

A  $\Phi_{PSII}$ , qP és NPQ paraméterek az Mv Emese, a GK Élet és a Plainsman esetén sem csökkentek le a vízmegvonás hatására a szemfeltöltődési periódusban, csak az utolsó napokon. A Cappelle D. esetén tapasztaltunk szignifikáns különbségeket korábbi napokon is, azonban a változások tendenciája nem volt egyértelmű. Az NPQ értékek, vagyis a hődisszipáció mértéke a GK Életnél és a Cappelle D.-nél utolsó (21/24) napokon szignifikánsan megemelkedett; Mv Emesénél végig a kontrollhoz közeli értékeket mértünk. A Plainsman esetén az összes paraméter (Fv/Fm,  $\Phi_{PSII}$ , NPQ, qP) jelentős változást mutatott a 24. napon a kontroll

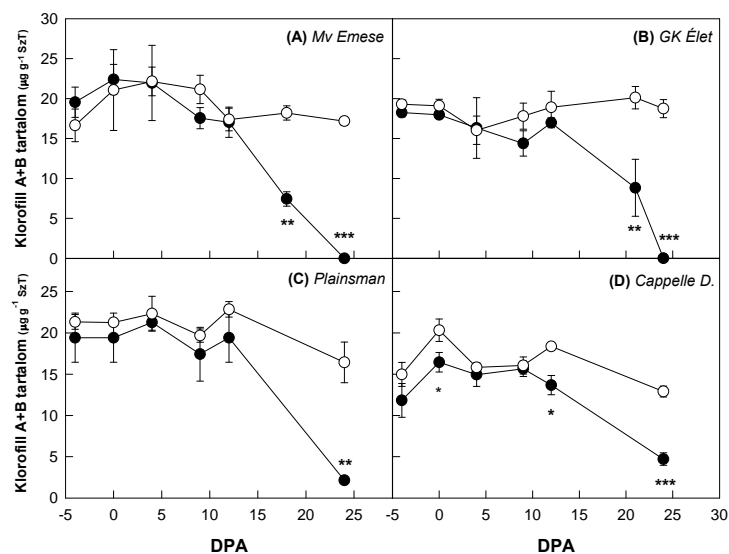
növényekben is. Az utolsó napon mért eltérések ez esetben is a növény öregedésére, elhalására utalnak. (15. ábra).

A fotoszintézis hatékonysága a vízmegvonás hatására nem csökkent le egyik fajtánál sem a 12. napig, szignifikáns különbséget ennél a paraméternél is csak az utolsó mérési napokon tapasztaltunk. Az Mv Emese a 18. napon gyakorlatilag már egyáltalán nem, a másik három fajta az utolsó napon pedig alig fixált CO<sub>2</sub>-ot. A Plainsman kontroll növényeiben a CO<sub>2</sub> asszimiláció is lecsökkent a 24. napon. Ezek az eredmény összhangban állnak a klorofillok és karotinoidok bomlásával (12. és 13. ábra) és az effektív kvantumhasznosítás ( $\Phi_{PSII}$ ) csökkenésével (15. ábra).

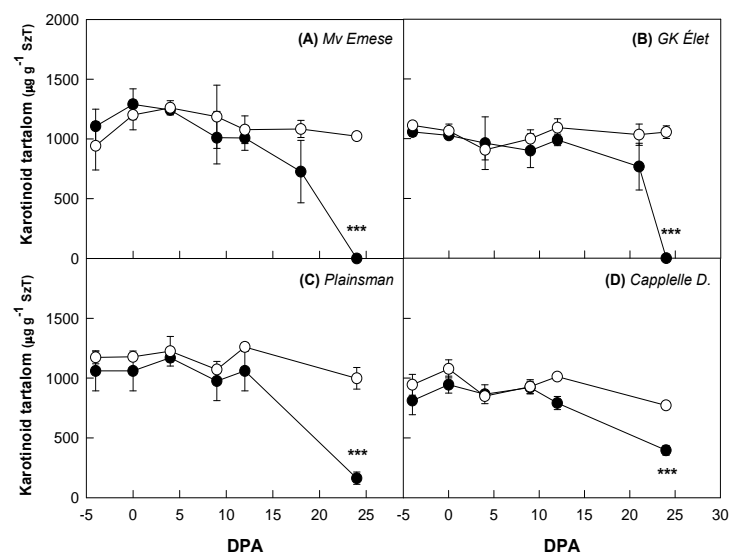
#### 5.1.5.2. Fluoreszcencia indukció és CO<sub>2</sub> asszimiláció változásának fényintenzitás függése

A  $\Phi_{PSII}$ , qP, NPQ és P<sub>N</sub> értékek változását különböző fényintenzitáson a 16. ábra mutatja be. A fényválasz görbéket az anthézis utáni 16. napokon mértük. A fotoszintetikus ráta a telítési szakaszban (ez a vizsgált fajták esetén 400-1200  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), az Mv Emese esetén volt a legnagyobb, a többi fajta kisebb asszimilációt mutatott, de mind a négy genotípusnál 1500  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  fényintenzitáson fotoinhibíciót tapasztaltunk. A vízmegvonás három fajtánál limitálta a CO<sub>2</sub> asszimilációt, ezek közül is a GK Életnél drasztikus hatást láthatunk, és érdekes módon, az érzékeny Cappelle D. kontroll és stresszelt zászlóslevelein mért P<sub>N</sub>/PFD görbéi közt nem volt szignifikáns különbség.

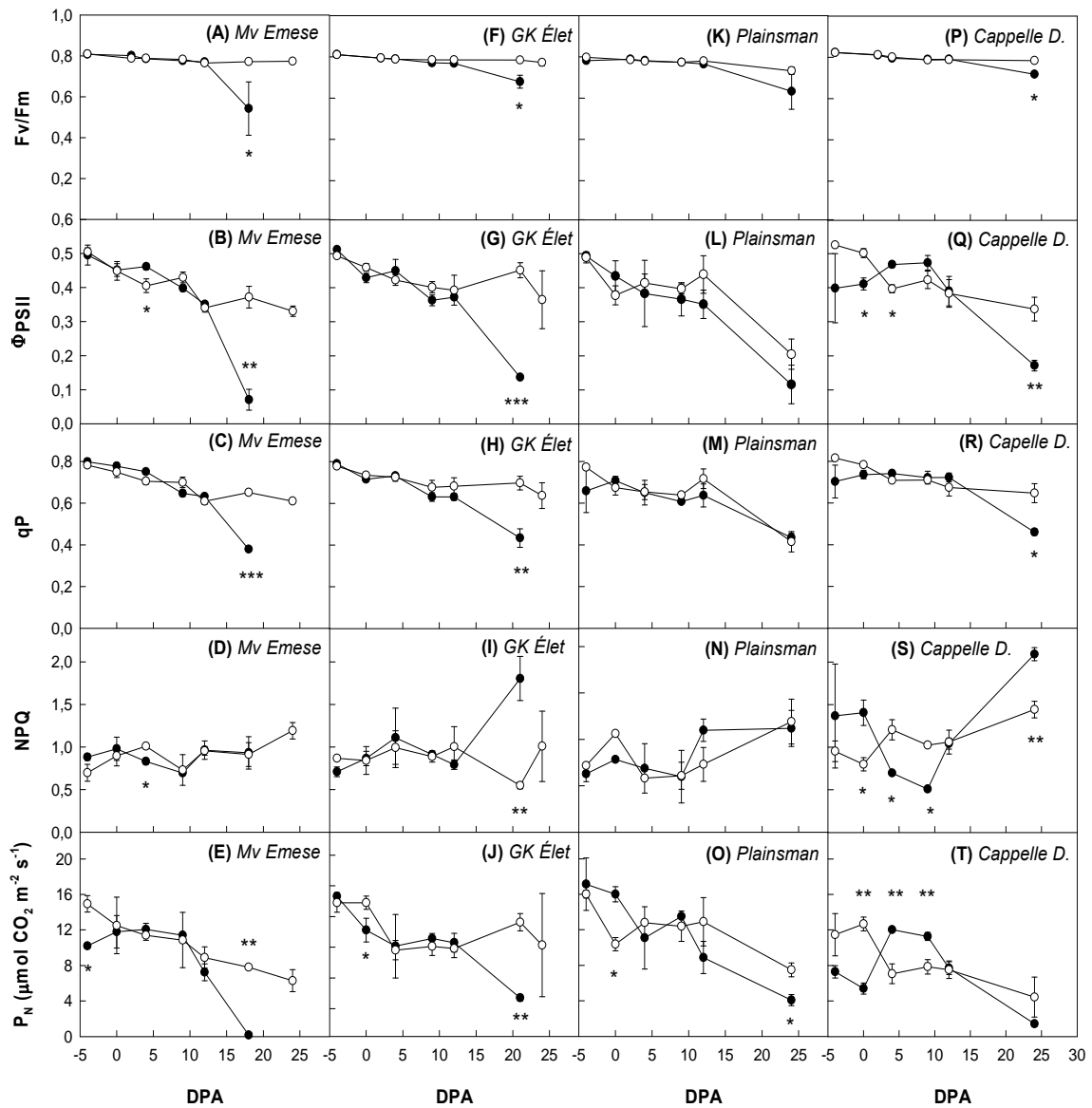
A toleráns Mv Emesénél az Fv/Fm,  $\Phi_{PSII}$ , qP és P<sub>N</sub> értékek minden fényintenzitáson, és magasabb fényintenzitásokon, 700  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  PFD (photon flux density = foton áramsűrűség) értéktől az NPQ értékek is szignifikánsan különböztek a kontroll és a stresszelt növényekben. A másik toleráns fajtánál, a Plainsmannál csak 1200 és 1500  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  fényintenzitáson tapasztaltunk szignifikáns különbséget, csökkentek a qP és P<sub>N</sub> értékek és nőttek az NPQ értékek a kontroll növényekhez képest, viszont a  $\Phi_{PSII}$  értékekben nem figyeltünk meg szignifikáns változást a szárazság hatására. A toleráns fajtákkal ellentétben, az egyik érzékeny fajta, a Cappelle D. esetében egyik PFD értéknél sem volt különbség egyik mért paraméterben sem. A szintén érzékeny GK Életnél szignifikáns, de kisebb mértékű különbségeket tapasztaltunk az Fv/Fm,  $\Phi_{PSII}$ , qP, és P<sub>N</sub> értékekben 700  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  fényintenzitástól (16. ábra).



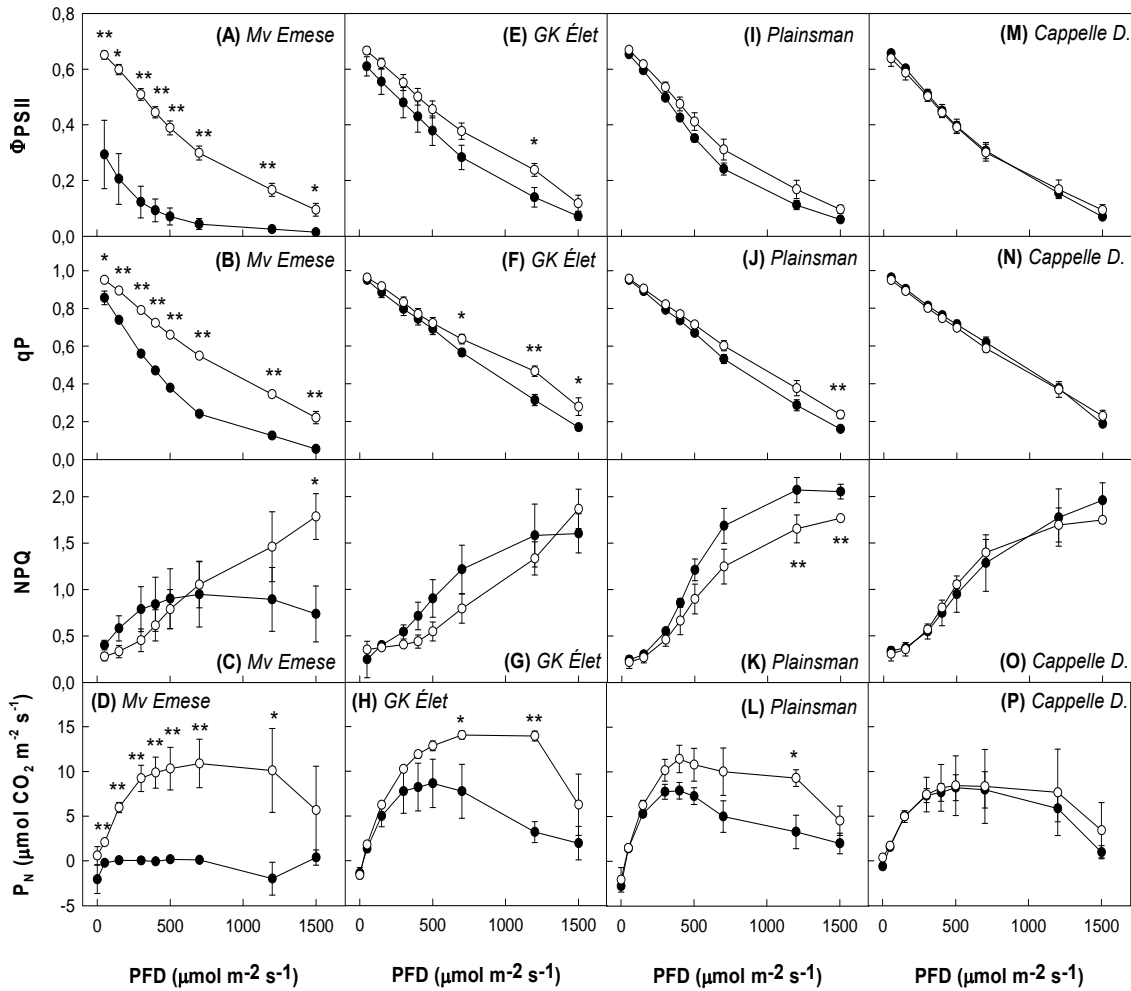
13. ábra: Klorofill a+b tartalom változása szárazságstressz hatására (●), ill. a kontroll (o) növényekben az idő függvényében az Mv Emese (A), a GK Élet (B), a Plainsman (C) és a Cappelle Desprez (D) búzafajták zászlóslevelében a szemfeltöltődés során.



14. ábra: Karotinoid tartalom változása szárazságstressz hatására (●), ill. a kontroll (o) növényekben az idő függvényében az Mv Emese (A), a GK Élet (B), a Plainsman (C) és a Cappelle Desprez (D) búzafajták zászlóslevelében a szemfeltöltődés során.



**15. ábra:** A maximális kvantumhasznosítás ( $F_v/F_m$ ), az effektív kvantumhasznosítás ( $\Phi_{PSII}$ ), a fotokémiai kioltás ( $qP$ ), a nem fotokémiai kioltás ( $NPQ$ ) és a  $\text{CO}_2$  asszimiláció ( $P_N$ ) változása szárazságstressz hatására (●), ill. a kontroll (○) növények zászlóslevelében az idő függvényében az Mv Emese (A-E), a GK Élet (F-J), a Plainsman (K-O) és a Cappelle Desprez (P-T) búzafajtákban a szembeltöltődés során.



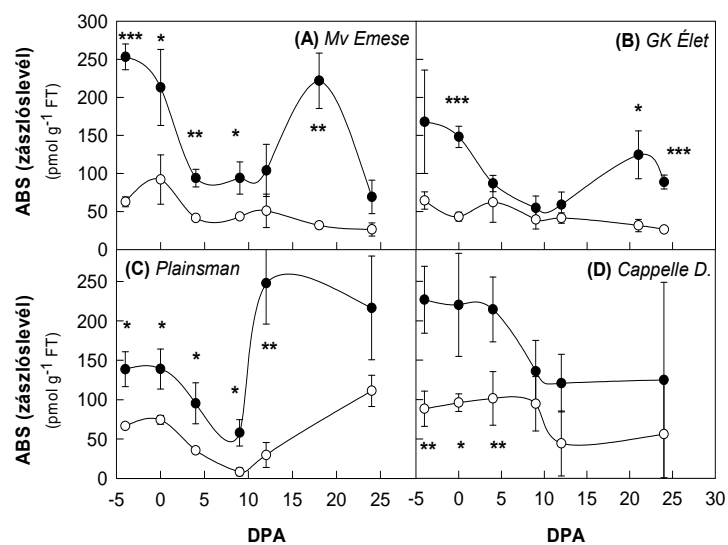
**16. ábra:** Az effektív kvantumhasznosítás ( $\Phi_{PSII}$ ), a fotokémiai kioltás ( $qP$ ), a nem fotokémiai kioltás ( $NPQ$ ) és a  $CO_2$  asszimiláció ( $P_N$ ) válaszgörbéi növekvő fényintenzitásra ( $PFD$ =photon flux density), szárazságstressz hatására ( $\bullet$ ), ill. a kontroll ( $\circ$ ) növények zászlóslevelében az idő függvényében az Mv Emese (A-D), a GK Élet (E-H), a Plainsman (I-L) és a Cappelle Desprez (M-P) búzafajtákban a szemfeltöltődés során.

### 5.1.6. Szárazság hatása az abszcizinsavtartalomra

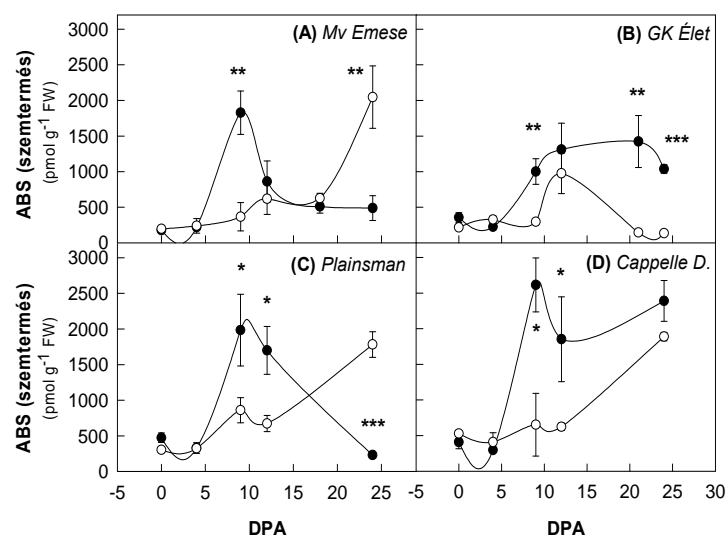
A szemfeltöltődési periódusban meghatároztuk a zászlóslevelek és a szemtermés ABS tartalmát is. A szemtermések esetén az első mintavétel az anthéziskor, vagyis közvetlenül a megtermékenyítés után volt.

A zászlóslevelekben az endogén ABS szint már a kalász hasban állapotban történt méréskor szignifikánsan magasabb volt a szárazságstressznek kitett növényekben a kontroll növényekhez képest. Emlékeztetőül, a vízmegvonást a kalász hasban állapot elején kezdtük, vagyis az első mérési nap a stressz a 3-4. napja volt. Az anthézis idején még mindig magasak voltak a mért értékek, azonban a következő napokban csökkenni kezdtek. Az anthézis utáni 4-12 napokon mind a négy fajtában lecsökkent az ABS tartalom a stresszelt növényekben, és bár az Mv Emesénél és a Plainsmannál a különbség így is szignifikáns a kontrollhoz képest, a kísérlet elején mértekhez képest jelentős a csökkenés. Az Mv Emese, a Plainsman és a GK Élet esetén a szemfeltöltődési periódus végén, a 12-18/21/24 napokon ismét emelkedést tapasztaltunk, míg a Cappelle D. esetén a kontrollhoz közeli értékeket mértünk. Három fajtában (Mv Emese, Plainsman, GK Élet) hasonló tendenciákat figyeltünk meg, de a két toleráns fajtában (Mv Emese és Plainsman) az ABS szintek a kísérlet során végig magasabbak voltak a kontrollhoz és az érzékeny a GK Élethez képest is (17. ábra).

A szemtermések ABS tartalma a 9. napon mind a négy fajtában szignifikánsan megemelkedett a szárazság hatására. A legmagasabb értékeket a két szárazság toleráns fajtában, az Mv Emesében és a Plainsmanban ezen a napon mértük, majd e két genotípusban a hormonszint lecsökkent, és a szemfeltöltődési periódus további részében alacsony értéken is maradt. A két érzékeny fajta, a GK Élet és a Cappelle D. esetén a 9. és 24. napok között az ABS szint a stresszelt növényekben végig magasabb volt, mint amit a kezdeti napokban mértünk, és ezek az értékek a kontrollhoz képest is szignifikánsan magasabbak voltak. Mind a négy genotípus esetén a kontroll növényekben a szemfeltöltődési periódus második felében tapasztaltunk ABS akkumulációt. A GK Élet esetén a 9. napon látszik az ABS csúcs, a következő mérési napra ez le is csökken. A másik három fajta esetén a kísérletünk végén, a 24. napra emelkedik meg a hormonszint (18. ábra).



**17. ábra:** ABS tartalom változása szárazságstressz hatására (●), ill. a kontroll (○) növényekben az idő függvényében az Mv Emese (A), a GK Élet (B), a Plainsman (C) és a Cappelle Desprez (D) búzafajták zászlóslevelében a szemfeltöltődés során.

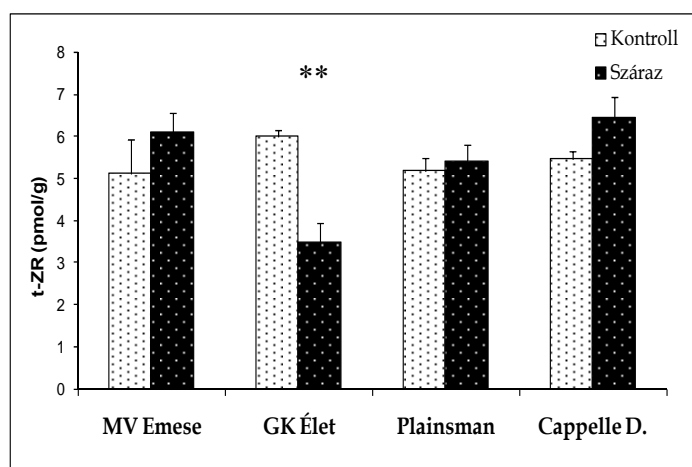


**18. ábra:** ABS tartalom változása szárazságstressz hatására (●), ill. a kontroll (○) növényekben az idő függvényében az Mv Emese (A), a GK Élet (B), a Plainsman (C) és a Cappelle Desprez (D) búzafajták szemtermésében a szemfeltöltődés során.



### 5.1.7. Zászlóslevél *transz*-zeatin ribozid tartalma

Az anthézis utáni 16. napon határoztuk meg a zászlóslevelek *transz*-zeatin ribozid tartalmát, ami a citokinin transzportálódó formája. Ennek a hormonnak a szintje három fajta, az Mv Emese, a Plainsman és a Cappelle D. esetén nem különbözött szignifikánsan a kontroll és stresszelt növények levelében. Egyedül a GK Életnél csökkent le szignifikáns mértékben (19. ábra).



19. ábra: Az Mv Emese, a GK Élet, a Plainsman és a Cappelle Desprez (D) búzafajták zászlóslevelének *transz*-zeatinribozid tartalma szárazságstressz alatt, ill. a kontroll növényekben az anthézis utáni 16. napon.

### 5.1.2. Szárazság hatása a tartalékfehérje-tartalomra

Az érett szemek gliadin, nagy molekulatömegű glutenin (HMW-GS) és kis molekulatömegű glutenin (LMW-GS) tartalma nem változott jelentősen a szárazság hatására. Szignifikáns változást egyedül a Plainsman és az Mv Emese esetén tapasztaltunk, ezeknél a fajtánál a relatív LMW-GS tartalom megemelkedett a vízmegvonás hatására, azonban a gliadin/glutenin arány mégis nőtt az Mv Emese szemtermésében (6. táblázat).

**6. táblázat:** Relatív tartalékfehérje-tartalom és gliadin/glutenin arány az Mv Emese, a GK Élet, a Plainsman és a Cappelle Desprez búzafajták érett szemterméseiben.

Fajta	Kezelés	Gliadin <sup>a</sup>	HMW-GS <sup>a</sup>	LMW-GS <sup>a</sup>	gliadin/glutenin
Mv Emese	Kontroll	46,36 ± 5,1	11,52 ± 1,6	17,05 ± 0,6	1,61 ± 0,1
	Szárazság	52,21 ± 1,1	13,78 ± 0,4	13,78 ± 0,4**	2,10 ± 0,2*
Plainsman V.	Kontroll	29,65 ± 8,0	13,49 ± 0,6	17,82 ± 1,6	0,95 ± 0,2
	Szárazság	38,50 ± 4,9	16,34 ± 2,3	23,55 ± 1,8*	0,96 ± 0,0
GK Élet	Kontroll	38,66 ± 4,7	20,28 ± 3,6	16,80 ± 0,7	1,05 ± 0,2
	Szárazság	41,26 ± 4,6	19,01 ± 1,27	19,01 ± 1,2	1,11 ± 0,1
Cappelle D.	Kontroll	45,30 ± 2,4	7,93 ± 0,8	12,59 ± 1,4	2,22 ± 0,2
	Szárazság	37,04 ± 8,9	12,59 ± 1,4	12,21 ± 1,0	1,75 ± 0,3

<sup>a</sup> 10<sub>6</sub> abszorbanancia egység (AU) 500 mg lisztre vonatkoztatva

## 5.2. Fiatal növények

Munkánk második részében fiatal kori kísérleteket végeztünk. Ehhez a két magyar búzafajtát, az Mv Emesét és a GK Életet választottuk ki, mert fontosnak tartottuk, hogy eredményeinket a magyar búzanemesítők is minél nagyobb mértékben hasznosítani tudják.

A fiatal növények esetén a csírázástól a csírázás utáni 21. napig vizsgáltuk a fiziológiai paraméterek változásait. Vizsgáltuk a vízháztartási paraméterek, a fotoszintetikus paraméterek változását az időben, az első, második, harmadik levelek és a gyökér ABS tartalmának változást, az apikális gyökérszegmens ABS, NO és ROS változását valamint a gyökérhossz és a biomassa produkció alakulását az ozmotikus stressz során. A fiatal növények ozmotikus stresszre adott válaszait azért vizsgáltuk, hogy választ kapjunk arra a kérdésre, mennyiben hasonlítanak a fiatal növény ozmotikus stresszre és a zászlós levél vízhiányra adott válaszai, és lehet-e a fiatal növények válaszreakciói alapján a genotípusok szárazságtűrését monitorozni.

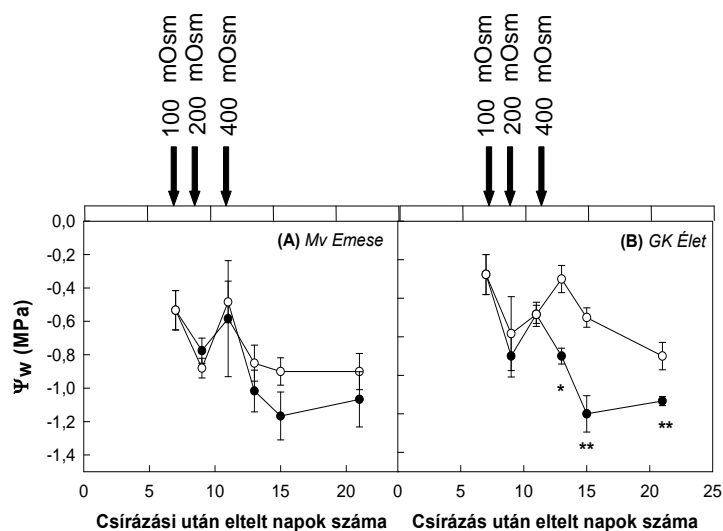
### 5.2.1. Ozmotikus stressz hatása a vízháztartási paraméterekre

A vízpotenciál értékeket a növények első leveleiből határoztuk meg. Az Mv Emesében ez az érték a hasonlóan alakult a kezelt és a kontroll növényekben, a csírázás utáni 13. naptól csak enyhe csökkenést tapasztaltunk a stressz hatására, de ezek a különbségek nem voltak

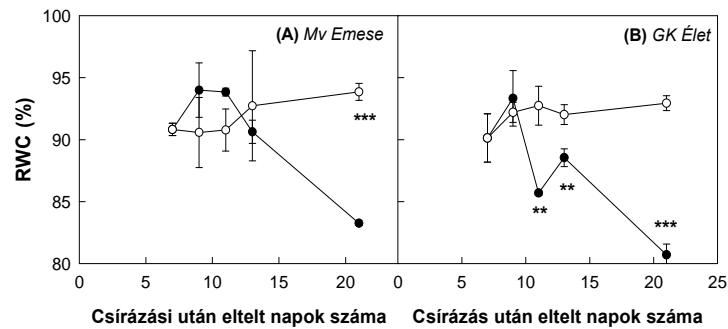
szignifikánsak. Ezzel szemben a GK Életnél a PEG kezelés hatására már a 13. naptól szignifikáns különbséget észleltünk. A 9. és 11. napokon, vagyis 100 mOsm-os és a 200 mOsm-os PEG kezelés hatására, amit a 7. ill. 9. napokon kapott a stresszelt növény, még nem csökkent le szignifikánsan a vízpotenciál. Az első különbség az értékek között a 13. napon látszik, tehát a 11. napi, utolsó, 400 mOsm-ra emelt PEG kezelés hatására csökkent le az első (legöregebb) levél vízpotenciálja. Innentől kezdve a kísérlet végéig alacsonyabban maradt, a növénynek nem sikerült adaptálódnia a körülményekhez. A vízpotenciálcsökkenés gyorsabb és erőteljesebb volt a GK Életben a kontrollhoz képest, mint az Mv Emesében (20. ábra).

A relatív víztartalom az Mv Emese hajtásában nem mutatott szignifikáns különbséget a kontroll és a stresszelt növények között, csak a legutolsó, 21. napon. A GK Életnél már a 11. napon lecsökkent az RWC a PEG kezelt növényekben, vagyis ez a vízháztartási paraméter már a 200 mOsm-os PEG koncentráció hatására reagált, és a továbbiakban végig alacsonyabb értékeket is ért el, mint a kontroll növényben (21. ábra).

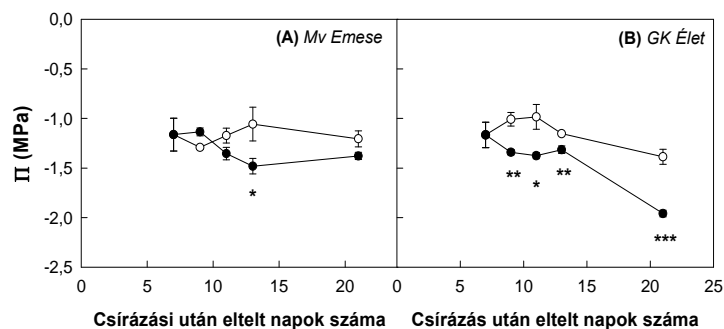
Az ozmotikus potenciál értékeknél az Mv Emesénél látszott csökkenés a stresszelt növények hajtásában a 13. napon, de a 21. napon az értékek újra közelítették egymást. A GK Élet hajtásának ozmotikus potenciáljára már a 7. nap, első, 100 mOsm-os kezelés hatással volt, ez a paraméter végig szignifikánsan alacsonyabb volt a kezelt növényekben (22. ábra).



**20. ábra:** Vízpotenciál változása ozmotikus stressz hatására (●), ill. a kontroll (o) növényekben az idő függvényében az Mv Emese (A) és a GK Élet (B) búzafajták első (legöregebb) levelében.



**21. ábra:** Relatív víztartalom változása ozmotikus stressz hatására (●), ill. a kontroll (○) növényekben az idő függvényében az Mv Emese (A) és a GK Élet (B) búzafajták első (legöregebb) levelében.



**22. ábra:** Ozmotikus potenciál változása ozmotikus stressz hatására (●), ill. a kontroll (○) növényekben az idő függvényében az Mv Emese (A) és a GK Élet (B) búzafajták első (legöregebb) levelében

## 5.2.2. Az ozmotikus stressz hatása a fotoszintézisre

### 5.2.2.1. Fluoreszcencia indukció, CO<sub>2</sub> asszimiláció és a sztómakonduktancia változása

A 23. ábra a különböző fluoreszcencia indukciós paraméterek változásait mutatja az idő függvényében. Az összevethetőség érdekében a mérési körülmények és a műszer beállításai megegyeztek a kalászó növényeken végzett kísérleteim során használtakkal.

A mért paraméterek közül az Fv/Fm értékek nem mutattak változást a kísérlet során egyik genotípusban sem a kezelés hatására, a kontroll és a stresszelt növényekben is 0,75 és

0,8 között alakult. Az utolsó, 21. napon a GK Élet összes vízháztartási paramétere lecsökkent, ennek ellenére az Fv/Fm érték nem tér el szignifikánsan a kontroll növényekben mérttől. Ez azt jelzi, hogy az ozmotikus stressznek nem volt hatása a PS II elsődleges fotokémiai folyamataira a sötét adaptált levelekben. A továbbiakban azt vizsgáltuk, hogy a fényadaptált levelekben tapasztalunk-e változást a stressz eredményeképpen.

A PS II effektív kvantumhasznosítása jól tükrözi, hogy a PEG kezelést hatására a növények egyre kevesebb fényenergiát hasznosítottak a fotokémiai folyamataikban, hiszen a 12. naptól mindkét fajtánál kisebb értékeket mértünk, mint a kontroll növényekben. Az utolsó két mérési napon már szignifikáns volt a különbség, a GK Élet esetén azonban a 21. napon mért érték a stresszelt növényben jóval alacsonyabb az Mv Emesénél mértnél.

A qP értékekben csökkenést tapasztaltunk a vízmegvonás hatására mindkét fajta esetén. A két genotípus között a legszembetűnőbb különbség az, hogy az Mv Emesénél a csökkenés korábban kezdődött, 15. és a 21. napon is szignifikánsan lecsökkent, még a GK Életnél csak a 21. napon. Azonban a toleráns fajtához képest az érzékeny fajtánál jobban, 0,58-ra csökkent a fotokémiai kioltás. Ezzel szemben az NPQ értékekben hamarabb tapasztaltunk változást, a 13. naptól mindkét fajta esetén szignifikánsan magasabb értékeket mértem a stressz hatására, tehát a fiatal növények az energia nagy részét nem fotokémiai munkában hasznosították, hanem az energia nagy része hő formájában disszipálódott.

A két fajtában a változások és a tendenciák hasonlóak voltak. A qP és  $\Phi_{PSII}$  értékekben mennyiségi eltérés a genotípusok között csak a 21. napon volt, az Mv Emese PEG kezelt leveleiben a qP 0,58-ra, a GK Életnél viszont 0,41-re, a  $\Phi_{PSII}$  Mv Emesénél 0,284-ra, a GK Életnél 0,168-ra csökkent. Az NPQ értékek mindkét fajta esetén 0,2 körüli értékig növekedtek a stressz hatására már a 15. napon.

A fotoszintézis hatékonysága a toleráns és az érzékeny fajtában egyaránt lecsökkent a PEG kezelés hatására (23. ábra). Az Mv Emesénél már a 13. naptól, a GK Életnél a 15. naptól tapasztaltunk szignifikáns, erőteljes csökkenést a CO<sub>2</sub> fixációban. Az utolsó mérési napon a GK Élet gyakorlatilag nem fixált CO<sub>2</sub>-ot, ez összhangban áll azzal, hogy ennél a fajtánál a  $\Phi_{PSII}$  és a qP értékek szintén nagymértékben lecsökkentek.

A sztómakonduktancia az Mv Emese stresszelt növényeinek első levelében szignifikánsan csökkent a 13. naptól. Az érzékeny GK Életnél csak a 15. naptól tapasztaltunk csökkenést, ami jó összhangban van a P<sub>N</sub> változásával (23. ábra).

### 5.2.2.2. Fluoreszcencia indukció és CO<sub>2</sub> asszimiláció változásának fényintenzitás függése

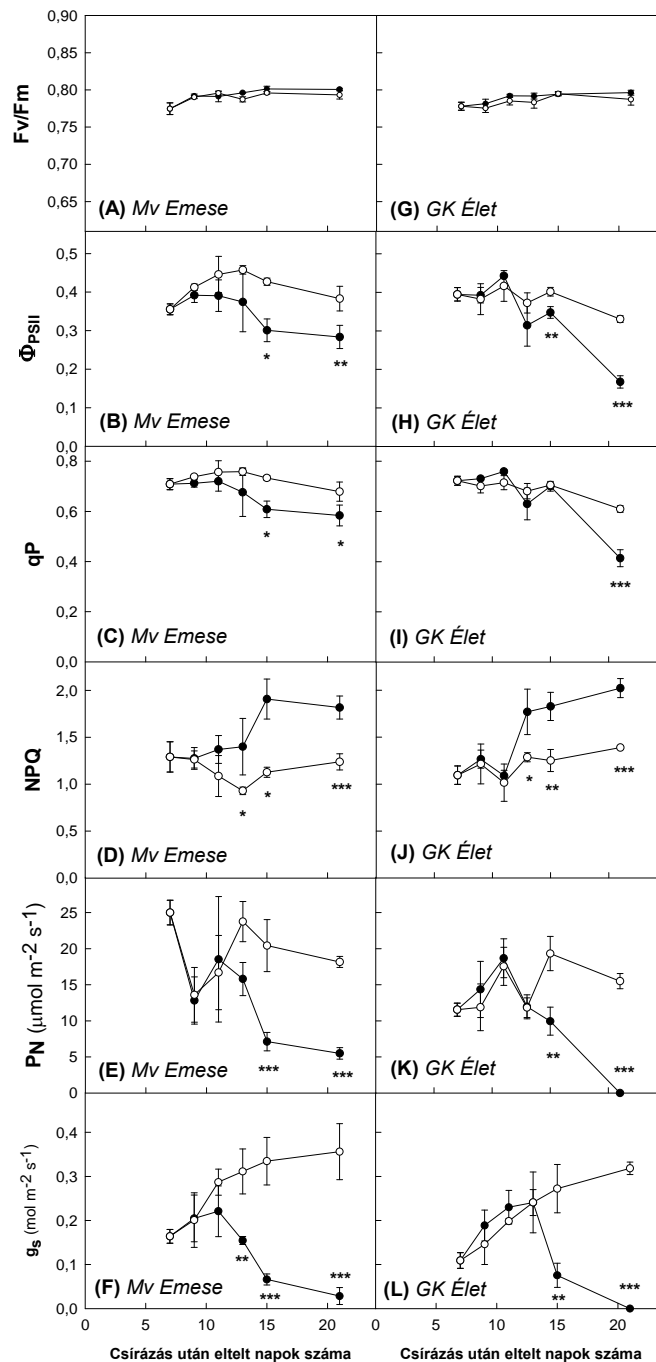
A 24. ábrán a vizsgált genotípusok fényválasz görbéi láthatók, vagyis a  $\Phi_{\text{PSII}}$ , qP és NPQ paramétereket, valamint a CO<sub>2</sub> asszimiláció változása növekvő fényintenzitáson.

A  $\Phi_{\text{PSII}}$  értékek mindkét fajta PEG kezelt növényeiben hasonló nagyságrend szerint alakultak a mérés során. Mindkettő 0,55 körül volt az első, legkevésbé intenzív megvilágításon, 50  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ -on, és a legerősebb megvilágítás hatására pedig 0,03 körüli értékre csökkent. Viszont ha a fajták saját kontrolljaihoz viszonyítjuk, már látható különbség a fajták között. Az Mv Emesénél ez a különbség nagyobb, a kezelés hatására szignifikánsan lecsökkent a PS II effektív kvantumhasznosítása, miközben a GK Életnél, az érzékenynek mondott genotípusnál az ozmotikus stressz kevésbé csökkentette le ezt a fotoszintetikus paramétert.

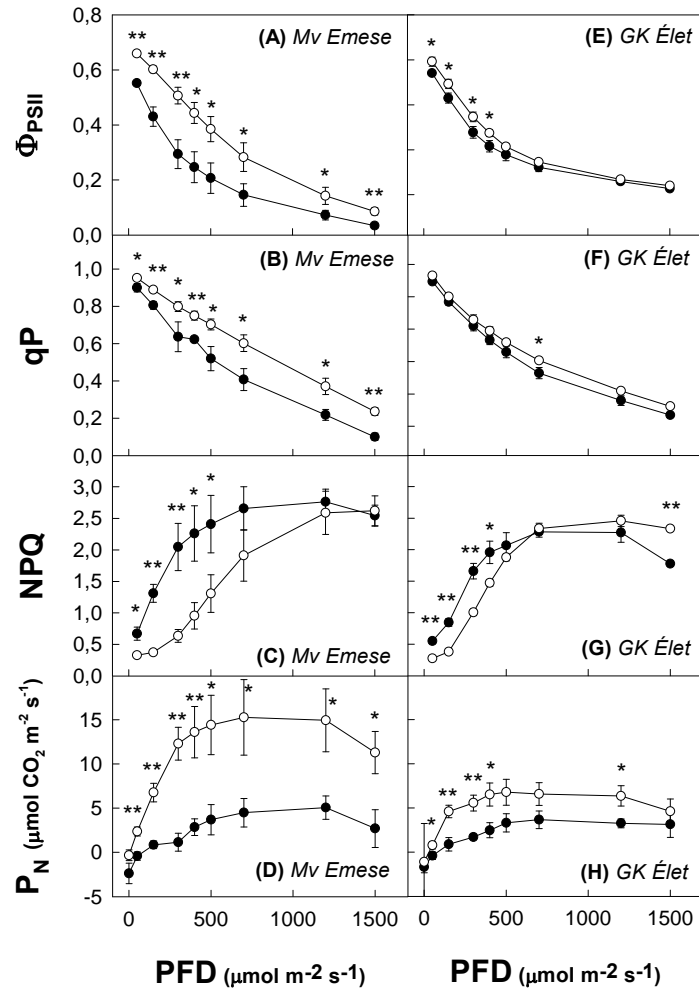
Az qP és NPQ paraméterek változásában szintén tapasztaltunk különbséget a fajták között. Az Mv Emesénél a qP értékek a kontrollhoz képest szignifikánsan lecsökkentek, és ezzel párhuzamosan az NPQ értékek szignifikánsan megemelkedtek a kezelés hatására. Tehát az energia hő formájában kibocsátott hányada megnőtt a fotokémiai munka terhére. A GK Életnél a fotokémiai munka nem csökkent le szignifikánsan, és a nem fotokémiai munka csak kissé emelkedett meg a kontroll növényhez képest, és nem is ért el olyan magas értékeket, mint amiket az Mv Emesénél tapasztaltunk.

Az Mv Emese kontroll és PEG kezelt növényei közt több fényintenzitáson tapasztaltunk szignifikáns különbségeket, mint a GK Élet esetén. Ezzel összhangban van a CO<sub>2</sub> asszimilációs ráta fényválasz görbéje, a stresszelt az Mv Emese a kontrollhoz képest jelentősen lecsökkentett a CO<sub>2</sub> asszimilációt, a GK Életnél pedig csak néhány ponton mértünk szignifikáns különbségeket a kontrollhoz képest. A két fajta PEG kezelt növényeinél körülbelül ugyanakkora CO<sub>2</sub> asszimilációs rátát mértünk, 1 és 5  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  között 150 és 1500  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  fényintenzitások között.

A magas fényintenzitásokon a CO<sub>2</sub> asszimiláció mindkét fajtánál, a kontroll és a kezelt növények esetén is, lecsökkent a fénygátlás miatt. A vizsgált növények a növényházi körülményeinkhez, azaz 300  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  fényintenzitáshoz adaptálódtak.



**23. ábra:** A maximális kvantumhasznosítás ( $F_v/F_m$ ), az effektív kvantumhasznosítás ( $\Phi_{PSII}$ ), a fotokémiai kioltás ( $qP$ ), a nem fotokémiai kioltás ( $NPQ$ ) és a  $CO_2$  asszimiláció ( $P_N$ ) változása ozmotikus stressz hatására (●), ill. a kontroll (○) növények első (legöregebb) levelében az idő függvényében az Mv Emese (A-F) és a GK Élet (G-L) búzafajtákban.



**24. ábra:** Az effektív kvantumhasznosítás ( $\Phi_{PSII}$ ), a fotokémiai kioltás ( $qP$ ), a nem fotokémiai kioltás ( $NPQ$ ) és a  $CO_2$  asszimiláció ( $P_N$ ) válaszgörbéi növekvő fényintenzitásra ( $PFD$ =photon flux density), ozmotikus stressz hatására (●,) ill. a kontroll (○) növények első (legöregebb) levelében az idő függvényében az Mv Emese (A-D) és a GK Élet (E-H) búzafajtákban.



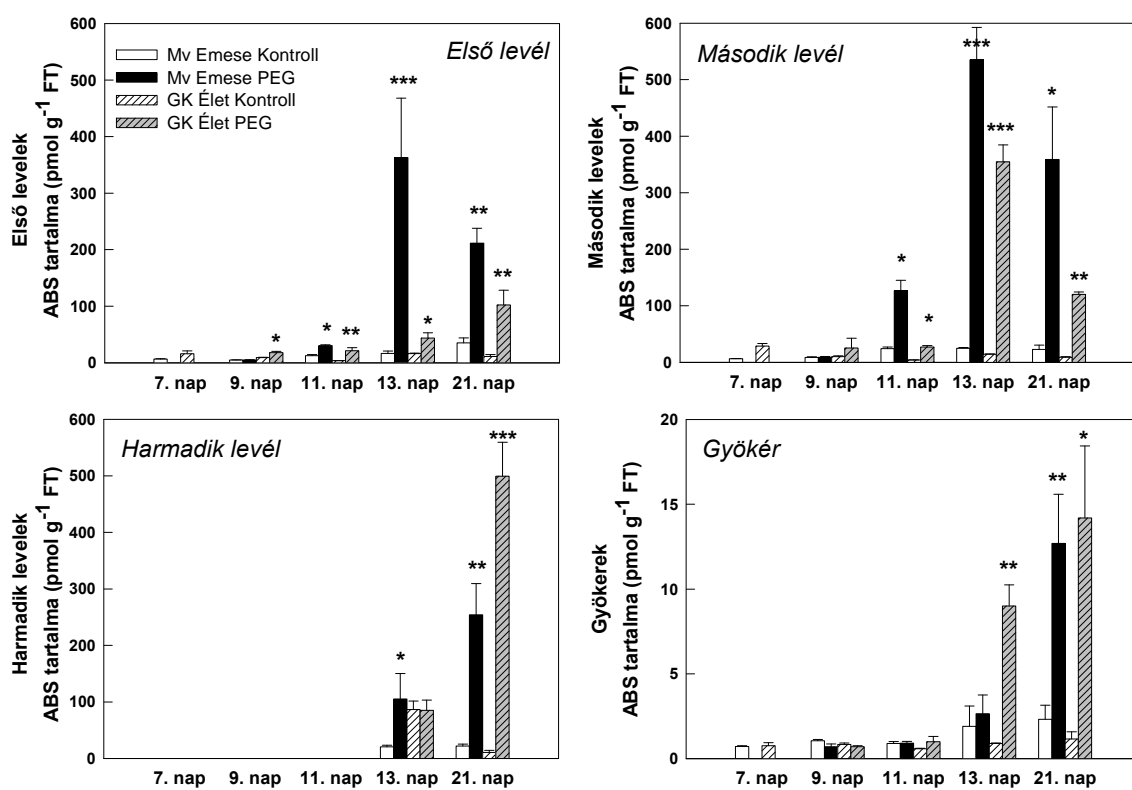
### 5.2.3. Ozmotikus stressz hatása a hajtás és a gyökér ABS tartalmára

Az első, második és harmadik levelek, valamint a gyökér ABS tartalmát határoztuk meg. Első levélen a csírázás után elsőként megjelenő, legöregebb levelet értjük, a második és a harmadik levelek pedig a fejlődés után sorban megjelenő fiatal levelek.

Az Mv Emese a 9. napon alkalmazott, 200 mOsm PEG kezelésre reagált, a 11. napon az első és a második levelekben is megnövekedett az ABS tartalom, majd a 13. napra a különbség tovább nőtt kontrollhoz képest. A 21., utolsó napon ezekben a hajtásokban már csökkenést mutat, de ezzel egy időben a harmadik levélben megemelkedett az ABS szint. Ez utóbbiban már megjelenésekor, a 13. napon nagyobb volt a hormontartalom, mint a kontroll növényben, és ez a különbség a 21. napon tovább nőtt. Az 25. ábrán jól látszik, hogy az ozmotikus stressz hatására az Mv Emese a 11. napon a legfiatalabb, második levélben növelte meg drasztikusan az ABS tartalmat, az legöregebb, első levélben csak később, a 13. napon, és ebben kisebb mennyiséget is mértünk, mint a második levélben. A következő fiatal hajtásban, a harmadik levélben már a megjelenésekor megemelkedett hormontartalmat mértünk a kontrollhoz képest. A gyökérben csak a 21. napon tapasztaltunk szignifikáns növekedést.

A GK Élet első, legöregebb levelében már a 9. naptól szignifikánsan magasabb hormontartalmat mértünk a kontrollhoz képest, tehát már az első, 100 mOsm-os PEG kezelés hatására megemelkedett. A többi mérési napon is magasabb volt a kontrollnál, de az Mv Emese hormontartalmát nem érte el. A második levelében a 11. napon emelte meg az ABS szintet. Majd a 21. napon csökkenést figyeltünk meg ezekben a hajtásokban, de a harmadik levélben az utolsó napra szignifikánsan megnőtt a hormontartalom, a másik két hajtásnál is szignifikánsan magasabbra. A gyökérben az utolsó két mintavételi napon, a 13. és 21. napok tapasztaltunk ABS szint növekedést a kontroll növényhez képest.

A gyökér ABS szintje a GK Élet fajtában emelkedett meg hamarabb és nagyobb mértékben. Ezzel szemben az Mv Emese a hormon jelentős részét a levelekben akkumulálta, itt is elsősorban a hajtás friss tömegének nagy részét kitevő második levélben. A két idősebb levél ABS tartalma korábbi és jelentősebb emelkedést mutat, mint a GK Élet fajtánál, míg ez utóbbi genotípusban az ABS elsősorban a legfiatalabb levélben akkumulálódik (25. ábra).

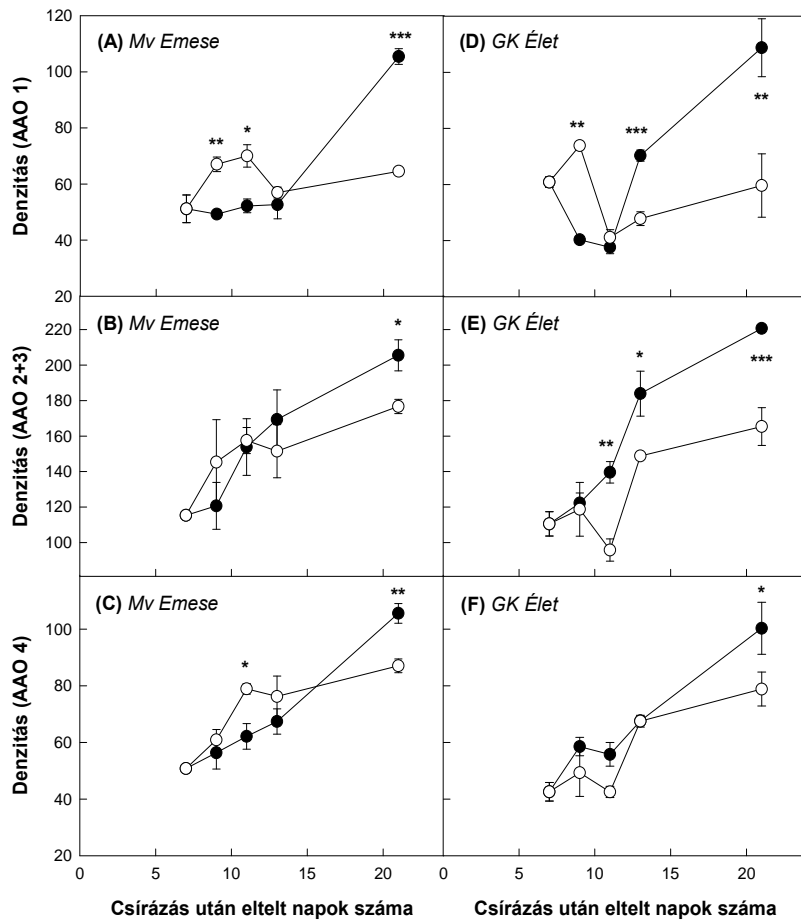


**25. ábra:** Abszcizinsav tartalom változása 400 mOsm PEG kezelés hatására, ill. a kontroll növényekben az idő függvényében az első, második és harmadik levelekben, valamint a gyökérben az Mv Emese és a GK Élet búzafajtákban.

#### 5.2.4. Ozmotikus stressz hatása az abszcizin aldehid-oxidáz aktivitásra gyökérben

Az aldehid oxidáz enzimfehérjék natív gélen történő elválasztása során 4 izoenzimet sikerült azonosítanunk. Az AAO2 és AAO3 izoformák nem váltak el teljesen, ezért ezeknek a kiértékelését együtt végeztük. Az Mv Emese gyökereiben az ABS tartalom csak a 21. napon nőtt meg szignifikánsan az ozmotikus stressz hatására, és ezzel összhangban áll az AAO enzim aktivitásának változása is, mert mindegyik izoforma szintje csak a 21. napon emelkedett meg. A GK Élet esetén a PEG kezelt növények gyökerének ABS tartalma már a 13. napon szignifikánsan magasabb volt, mint a kontroll növényekben. Az AAO1 izoenzim aktivitása szintén megemelkedett már a 13. napon, még az AAO4 izoenzimé csak a 21. napon. Az

AAO2+3 izoenzimek együttes aktivitása viszont korábban, már a 11. napon szignifikánsan megemelkedett az ozmotikus stressz hatására. Az AAO enzimek aktivitása az ABS tartalmak változásával összhangban változott (26. ábra).

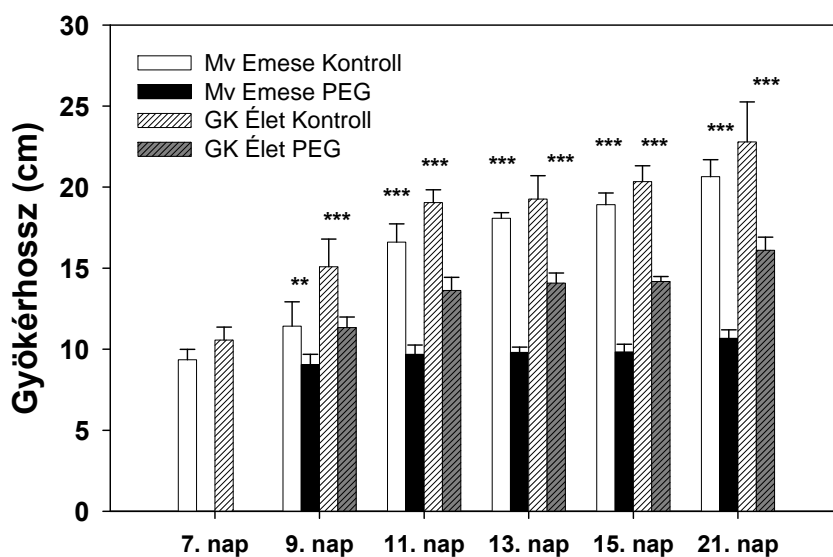


**26. ábra:** Abszcizin aldehid oxidáz izoformák aktivitásának változása 400 mOsm PEG kezelés hatására, ill. a kontroll növényekben az idő függvényében az Mv Emese és a GK Élet búzafajták gyökerében

### 5.2.5. Növekedés ozmotikus stressz alatt

Mindkét fajta rövidebb gyökereket növesztett az ozmotikus stressz hatására. A különbségek már a 9. napon szignifikánsan voltak, de a 9. és 21. napok közt végig nagyobbak voltak a kontroll és a kezelt növények között az Mv Emese esetén. Az érzékeny GK Életnél kisebb csökkenést tapasztaltunk, és minden esetben hosszabb gyökérrzel rendelkezett az ozmotikus stressz hatása alatt (27. ábra).

Annak ellenére, hogy a CO<sub>2</sub> asszimiláció különböző mértékben csökkent le a két fajtánál a stressz hatására (23. ábra), az össz biomassza produkció a kísérlet végén nagyon hasonló volt, 37,51 mg (kontroll) és 37,13 mg (PEG) az Mv Emesénél, illetve 44,3 mg (kontroll) és 45,4 mg (PEG) a GK Életnél. Ozmotikus stressz hatására a biomassza nagyobb része esett a gyökérrendszerre, mint a kontroll kezeléseknél (7. táblázat), de az érzékeny GK Életnél ez az érték nagyobb volt, mint az Mv Emesénél, és a GK Életnél mért gyökérhosszak is nagyobbak voltak, kisebb mértékben csökkentek le a stressz hatására. Hasonló tendenciát figyeltünk meg a két fajta gyökérnövekedésében rhizotrófonban is szárazságstressz alatt (Csiszár 2008).



27. ábra: Gyökérhossz változása 400 mOsm PEG kezelés hatására, ill. a kontroll növényekben az idő függvényében az Mv Emese és a GK Élet búzafajtákban.

**7. táblázat:** Hajtás és gyökér száraztömege, a gyökér száraztömege az össz növényi száraztömeg %-ában, valamint hajtás- és gyökérhossz változása 400 mOsm PEG kezelés hatására, ill. a kontroll növényekben a 21. napon az Mv Emese és a GK Élet búzafajtákban.

Kezelés	Mv Emese		GK Élet	
	Kontroll	PEG	Kontroll	PEG
Hajtás száraztömege (mg növény <sup>-1</sup> )	31,44±5,26	29,0±8,96 (92,20%)	36,83±5,04	34,83±6,6 (93,50%)
Gyökér száraztömege (mg növény <sup>-1</sup> )	6,07±0,92	8,13±1,55 * (133,90%)	7,47±1,12	10,97±2,27 * (146,85%)
Gyökér száraztömege (teljes tömeg %-a)	16,18	21,89	20,28	31,88
Hajtáshossz (cm)	31,51±1,12	27,4±1,18 ** (86,96 %)	34,52±1,71	30,5±1,7 ** (88,36%)
Gyökérhossz (cm)	20,64±1,04	10,66±0,52 *** (51,64%)	22,78±2,47	16,1±0,81 *** (70,68%)

### 5.2.6. Apikális gyökérszegmens ABS, ROS és NO tartalma

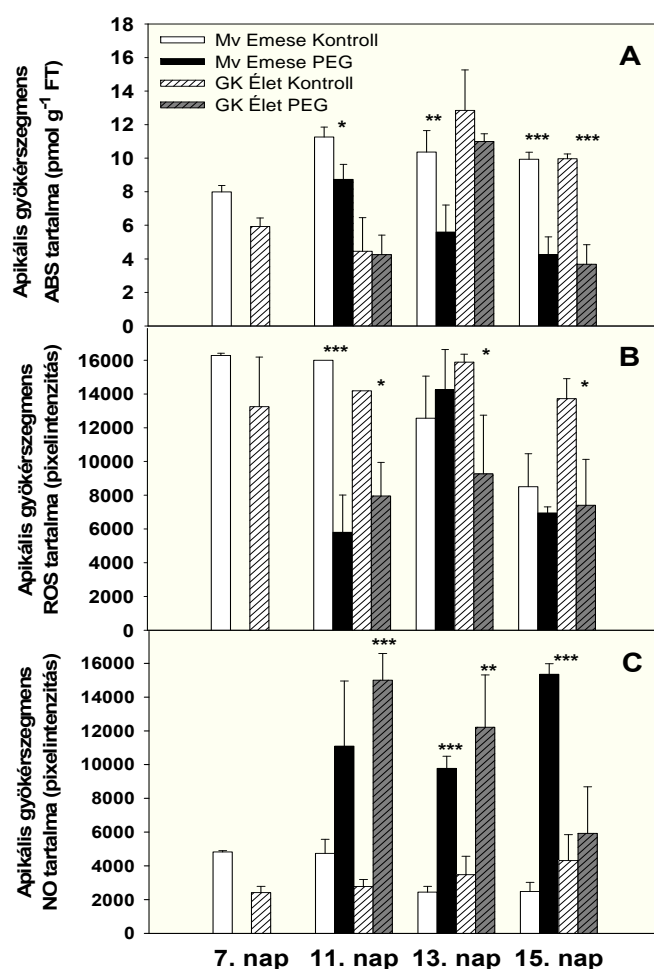
Vízhiányos állapotban a szövetek ROS (pl. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) és NO tartalma megváltozhat, és ezek jelátviteli molekulákként működhetnek, például a zárósejtekben az ABS szignalizációs útvonalban. Ezeknek a molekuláknak a szintjét vizsgáltuk a gyökér csúcsi, 1,5 cm-es gyökérszegmensében, hogy megpróbáljunk választ kapni arra, hogy milyen összefüggésben állnak a gyökérműveléssel ozmotikus stressz alatt.

A két genotípus közül a GK Élet rendelkezik nagyobb gyökérszegmessel, ami a szárazságtűrés szempontjából előnyös tulajdonság lehet, azonban ebben az esetben ez nem elegendő a szárazság alatti termésstabilitás kialakulásához. A gyökérmegnyúlás szabályozása azonban jól tanulmányozható e két genotípus példáján.

Az ABS tartalom szignifikánsan lecsökkent a toleráns Mv Emese csúcsi gyökérszegmensében PEG kezelés hatására a kontrollhoz képest, már a 9. napon, és ez a különbség a kísérlet során végig szignifikáns maradt. Ezzel ellentétben az érzékeny GK Életnél csak a 15. napon tapasztaltunk szignifikáns csökkenést a stressz hatására.

A ROS és NO szinteket a gyökerek megnyúlási zónájában határoztuk meg. A 11. napon a ROS szint az Mv Emese stresszelt csúcsi gyökérszegmenseiben alacsonyabb volt, mint a kontroll növényekében, azonban ez a különbség később eltűnt, a 13. és 15. napokon már a kontrollhoz közeli értékeket mértünk. A GK Életnél azonban, a kísérlet során végig szignifikánsan alacsonyabb volt a ROS szint a PEG kezelt, mint a kontroll gyökerekben.

A NO szintek mindkét fajta esetén megnöttek a stressz hatására, már a 11. napon. Az Mv Emesénél a NO akkumuláció a 15. napig szignifikánsan magasabb volt, még a GK Életnél a 15. napra a NO szint lecsökkent a kontrollhoz közeli értékre (28. ábra).



28. ábra: Abszcisinsav (A), ROS (B) és NO (C) tartalom változása 400 mOsm PEG kezelés hatására, ill. a kontroll növényekben az idő függvényében az apikális gyökérszegmensekben az Mv Emese és a GK Élet búzafajtákban.

## 6. Eredmények értékelése

Kutatócsoportunk a búza szárazságtűrésének vizsgálatával foglalkozott, a kutatások középpontjában a különböző fiziológia paraméterek szárazságstressz alatti változásainak vizsgálata állt. Célunk az volt, hogy a szárazságtűréssel korreláló fiziológiai paramétereket találjuk, illetve, hogy megállapítsuk, alkalmasak-e a fiatal növényeken végzett kísérletek a későbbi, terméshozammal is jellemezhető szárazságtűrés jellemzésére.

Munkák során a kalászólo növényeken szárazságstressz hatására és a fiatal növényeken ozmotikus stressz hatására fellépő változásokat vizsgáltuk és vettettük össze szárazságtűrő és szárazságérzékeny búzafajtákon. Mindkét rendszerben mértük a vízháztartási paraméterek, a klorofill *a* fluoreszcencia indukciós paraméterek és a CO<sub>2</sub> asszimiláció változását az idő függvényében, külön hangsúlyt fektettünk az ABS változások vizsgálatára, ezért ezt több növényi szervben is mértük (zászlóslevél, szemtermés, fiatal növények gyökere, első, második és harmadik levele), illetve az ozmotikus stressz során a gyökérnövekedést befolyásoló molekulák változásait is tanulmányoztuk (ABS, NO, ROS).

### 6.1. Kalászólo növények

*A végső hozam paramétere*i, szemszám, szemtömeg és ezerszem-tömeg a két érzékeny fajta, a GK Élet és a Cappelle D. szárazság stressznek kitett növényeinél szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a toleráns Mv Emese és Plainsman esetén, tehát **a szárazságérzékeny fajtáknak a termesztése vízhiányos körülmények között valóban veszteségesnek mutatkozott.**

A gabonafélék különösen érzékenyek a szárazságra a virágzás kezdetekor és a virág szerveinek pre-mitotikus differenciációjakor, és a vízhiány a hím gametofitont is károsíthatja (Barnabás és mtsai., 2008; Saini, 1997), aminek hatására a megtermékenyítés folyamata kevésbé lesz hatékony, és a kalásonkénti szemszám csökken. Bár a virágzat részeinek érzékenységét és károsodását vizsgáló specifikus kísérleteket nem végeztünk, a két érzékeny fajtánál hasonló jelenséget figyeltünk meg, a kalászok felső és alsó szakaszában nem, vagy

csak alig voltak szemek, vagyis ezeken a részeken a megtermékenyítés folyamata károsodhatott.

A *vízháztartási paraméterek* alakulásából az látszik, hogy a toleráns genotípusoknál is csökkent a vízpotenciál és a nedvességtartalom, de kisebb mértékben, mint az érzékeny fajtáknál, melyek hamarabb, alacsonyabb értékeket értek el. A szárazság a Plainsman vízháztartását befolyásolta a legkevésbé. **A vizsgált érzékeny fajták, a GK Élet és a Cappelle D. erőteljes és gyors vízvesztéssel reagáltak, a vízpotenciál értékek nagyobb mértékű csökkenése az érzékenységet jelzi** (Hsiao, 1973).

A *pigmenttartalom* a Plainsman és a Cappelle D. fajták kontroll növényeiben enyhén lecsökkent az utolsó, 24. napon. Az értékek csökkenése arra utal, hogy ezeknek a fajtáknak a kontroll növényeiben a terméséréssel kapcsolatos, monokarpikus szenescencia folyamata hamarabb indult meg, mint az Mv Emese vagy a GK Élet esetén. A klorofill és karotenoid tartalmak csökkenése ezt a szenescenciát jelzik, és ez a fotoszintézis paramétereinek változásaival is jól korrelál. **Az öregedés folyamata mind a négy fajtában felgyorsult a szárazság hatására**, ezt a klorofill a+b és karotinoid tartalmak erőteljes csökkenése jelzi, illetve a fluoreszcencia indukciós paraméterek szignifikáns megváltozása az utolsó mérési napokon: az anthézis utáni 18., 21. illetve 24. napokon mindegyik genotípusnál szignifikánsan lecsökkent a PS II effektív kvantumhasznosítása.

A szemfeltöltődés időszakában a *fluoreszcencia indukciós paraméterek* mérése során az Mv Emese, a GK Élet és a Plainsman fajtáknál a 12. napig nem találtunk szignifikáns eltérést a különböző öntözést kapott búzanövények között, a fotoszintetikus apparátus nem károsodott, annak ellenére, hogy a stressz hatására a növények vízpotenciálja erőteljes csökkenést mutatott. A Cappelle D. esetén tapasztaltunk szignifikáns eltéréseket a kezelések között már a korábbi napokon is, de ezek nem mutattak egyértelmű tendenciát. Az utolsó mérési napokon, a vízhiányos körülmények között nevelt növényeknél tapasztalt szignifikáns csökkenések valószínű oka az, hogy a szárazság hatására hamarabb öregedtek, mint a kontroll növények. A szemfeltöltődési periódusban a zászlólevél folyamatos öregedése is közrejátszik, mint természetes folyamat, valamint a szárazság ezen túl előidézheti a teljes növény öregedését (Yang és Zhang, 2005) és e kettő együttes eredménye lehet az anthézis utáni 18., 21. ill. 24. napokon mért alacsonyabb  $\Phi_{PSII}$ , qP, CO<sub>2</sub> asszimiláció és magasabb NPQ érték a stresszelt növényekben. **A szárazság hatására bekövetkező korábbi szenescenciát**



**az érzékeny és toleráns fajtákban szárazság hatására, a klorofilltaralom és az Fv/Fm értékek korábbi csökkenése jelzi.**

A Plainsman esetén a kontroll növények is már az öregedés jeleit mutatták a 24. napon, ezért ennél a fajtánál nem mértünk szignifikáns különbségeket.

Sok más kísérlettel ellentétben (Hassan, 2006; Li és mtsai., 2006; Paknejad és mtsai., 2007) mi azt találtuk, hogy a **fluoreszcencia indukciós paramétereknek és a zászlós levél CO<sub>2</sub> fixálásának talajszárazság hatására bekövetkező változásai nem adnak egyértelmű információt a növény szárazságra mutatott - terméshozam változásban jelentkező - érzékenységről.** Ha a paramétereket külön-külön megvizsgáljuk, látható, hogy az Fv/Fm,  $\Phi_{PSII}$ , qP és P<sub>N</sub> értékek mind a 4 fajtában, vagyis a toleráns és érzékeny fajtákban egyaránt lecsökkentek az utolsó napon. **Az NPQ az egyetlen paraméter, melynek változását, szignifikáns emelkedését csak az érzékeny fajtáknál figyeltük meg** ez összhangban van Hura és mtsai (2007) eredményeivel, akik azt találták, hogy az NPQ paraméter változása használható a tolerancia vagy érzékenység eldöntésére. Azonban ez a csoport a qP paramétert is alkalmasnak találta, ezzel szemben a mi kísérleteinkben az a paraméter a toleráns és érzékeny fajtákban egyaránt megemelkedett. Li és mtsai 2007. szerint az Fv/Fm paraméter a toleráns és az érzékeny fajtákban is csökken szárazság hatására, azonban ez a csökkenés a toleráns fajtákban enyhébb. Ezért ők az Fv/Fm paraméterről állapították meg, hogy alkalmas lehet a fajták érzékenységének jellemzésére. Ezzel szemben a mi azt tapasztaltuk, hogy az Fv/Fm paraméter nem csökkent le nagyobb mértékben az érzékeny fajták zászlóslevelében.

A fénygörbék alapján sem találtunk olyan egyértelmű változást, mely vagy az érzékeny, vagy a toleráns fajtákat jellemezné, hiszen az egyik toleráns fajtában, az Mv Emesében tapasztaltuk a legnagyobb, és az egyik érzékeny fajtában, a Cappelle D.-ben tapasztaltuk a legkisebb változást a vízmegvonás hatására, az összes mért fényintenzitáson.

Habár a klorofill fluoreszcencia mérése az egyik széles körben elfogadott módszer a búzafajták szárazságtűrésének tesztelésére, az irodalmi adatokkal ellentétben a mi eredményeink alapján a szárazság nem okozott karakterisztikus változásokat a sötét- és fényadaptált zászlóslevelek PSII fotokémiai rendszerének működésében, és **sem a fluoreszcencia indukciós paraméterek, sem a CO<sub>2</sub> fixálás változásában nem tapasztaltunk a toleranciára, vagy az érzékenységre jellemző egyértelműen jellemző tendenciát.**

A fluoreszcencia indukciós paraméterek kombinálása más módszerekkel pontosabb, és határozottabb szelekciót tenne lehetővé, ezért a méréseket kiterjesztettük az ugyancsak a szárazságtűrés fiziológia markerének tekintett ABS tartalmakra is.

Mind a *zászlóslevelekben*, mind a *szemtermésekben* a talajszárazság hatására megemelkedett *ABS szinteket* tapasztaltunk az összes fajtában. Ez a zászlóslevelek esetén a kalász hasban állapotkor, vagyis a vízmegvonás után 4 nappal jelentősen magasabb volt, mint a kontroll növényekben, ami azt jelzi, hogy ez **a hormon szignálmolekulaként működik a szélsőséges talajnedvességre adott válaszokban** (Davies és Zhang, 1991).

A zászlóslevelekben ezután tapasztalt alacsonyabb ABS szintek egybeesnek a szemtermésben a hormonakkumulációval, ami magyarázható a hormon transzportjával a zászlóslevelekből a termés irányába. Az Mv Emese, a GK Élet és a Plainsman esetén a zászlóslevelek ABS tartalma a kísérlet végén is szignifikánsan magasabb a stresszelt, mint a kontroll növényekben, ami azzal magyarázható, hogy ez a hormon **a szeneszcencia folyamatának felgyorsításáért is felelős ezekben a genotípusokban** (Noodén és mtsai., 1997; Yang és mtsai., 2002). Az ABS keletkezhet a szemtermésben *de novo* szintézissel, és transzlokálódhat részben a levelek és/vagy gyökerek irányából (Ober és mtsai., 1991). Mivel a szárazság megemeli a zászlóslevelek ABS tartalmát, és az ABS könnyen és gyorsan szállítódik a floémában, az **ABS transzlokációja a floémában vezethet a szemtermések magasabb ABS szintjéhez szárazságstressz során** (Ahmadi és Baker, 1999).

A szemtermések ABS tartalmának változása a toleráns és az érzékeny fajtákban két igen eltérő tendenciát mutatott. A két toleráns fajtánál, az Mv Emesénél és a Plainsmannál egy maximum értéket mértünk a 9. napon. Még az érzékeny fajtáknál, a GK Életnél és a Cappelle D.-nél a 9. napi megemelkedett ABS szint a további napokon is magas maradt.

Eredményeinkből szembetűnő, hogy az **ABS csúcs a szárazság hatására az Mv Emese, a Plainsman és a Cappelle D. fajtáknál a szárazság hatására korábban tolódtott** a saját kontroll növényeikhez képest. A GK Életnél a kontrollnál nem tudjuk egyértelműen megmondani, hogy a 9. napon mért emelkedés az érés során fellépő ABS csúcsot jelenti-e.

Az ABS a szemek növekedését redukálhatja, mert a szemek fejlődésének elején kialakuló endospermium sejtjeinek számát csökkentheti, vagyis a feltölthetőséget, a maximális tárolási kapacitást (Myers és mtsai., 1990). Azonban a szemfeltöltődés későbbi fázisában is lehet negatív hatással a fejlődésre, hiszen gátolhatja a cukrok transzportját (Borkovec és

Prochazka, 1992). Yang és mtsai (2001) eredményei alapján a **szemfeltöltődés korai szakaszában ABS tartalom pozitívan korrelál a keményítő szintézisében szerepet játszó szacharóz-szintáz szintekkel**. Más kutatások alapján a **folyamatosan magas ABS tartalom** a szemfejlődés sejtosztódási periódusa után, a **szemfeltöltődés későbbi szakaszában viszont gátló hatású lehet a szemfeltöltődésre és növekedésre** (Ahmadi és Baker, 1999), az **asszimilátumok importjára** (Tietz és mtsai., 1981). Xie és mtsai. (2003) szintén azt tapasztalták, hogy a megnövekedett ABS tartalom a keményítő akkumulációra van kedvezőtlen hatással, ami magyarázhatja az érzékeny fajtáknál megfigyelt kisebb szemtömeg értékeket. A mi kísérletünkben a szignifikánsan alacsonyabb szemtömeg szárazság hatására a két érzékeny fajta esetén a szemfeltöltődés későbbi szakaszában, több napon át tartó magas ABS tartalom hatására is kialakulhatott, vagyis a **9. és 24. napok között mért magas hormonszint gátolhatta a szemek feltöltődését és növekedését**.

A szenzitív fajtáknál, a GK Életnél és a Cappelle D.-nél a 9. naptól folyamatosan magas ABS szinteket mértünk, aminek következményeként lehetségessé vált, hogy a szemfeltöltődési periódusban negatívan befolyásolja a tartalék tápanyagok, elsősorban a keményítőszemcsék akkumulációját (Tietz és mtsai., 1981; Xie és mtsai., 2003).

A két toleráns fajtában a stresszelt növények *zászlóslevelében* a szemfeltöltődési periódus végén magasabb volt az ABS szint, mint az érzékeny fajták esetén, ami szintén magyarázhatja a jobb terméshozam értékeket, hiszen az ABS szabályozhatja az asszimilátumok remobilizációját a szemtermések irányába (Tadas és mtsai., 1999; Travaglia, 2007).

Mért adataink azt is jól tükrözik, hogy az ABS tartalom az anthézis utáni szárazság esetén napról-napra változhat. Ez ellentmond Read és mtsai. (1991) eredményeinek, akik szabadföldi kísérleteikben azt találták, hogy a levél extrahálható ABS tartalma negatívan korrelál a hozammal. A mi eredményeink alapján a az ABS tartalom változásának tendenciáját, és több napon keresztül stagnálását vagy éppen változását is figyelembe kell venni a kérdés vizsgálatakor.

A citokinineknek az abszcizinsavhoz hasonlóan szerepük lehet a szárazság okozta szenescenciában, a levelek *transz-zeatin* ribozid tartalma pozitívan korrelál a klorofill tartalommal (Yang, 2003). Vizsgált fajtáink közül a két magyar fajtában tapasztaltuk a legkorábban a levelek elsárgulását. Az érzékeny GK Életben a szárazság hatására lecsökkent

*transz*-zeatin ribozid szint korrelál a megfigyelt alacsony klorofill tartalommal, vagyis ebben a fajtában a gyökérből transzlokálódó citokinin mennyiségi csökkenésének szerepe lehet a felgyorsult szenescencia folyamatában.

A 5.1. fejezet alapján megállapítható, hogy a vízhiányos növények szemterméseiben az ABS tartalom megemelkedett, ami kedvező lehet a tartalékfehérjék akkumulációjának (Xie és mtsai., 2003). Ez magyarázhatja azt, hogy még az érzékeny fajtáknál tapasztalt csökkent szemtömeg ellenére is, a tartalékfehérje szintek közel azonosak voltak a kontroll és a stresszelt növények esetén mindegyik fajta esetén (5. Táblázat). A magas hőmérséklet és a nitrogén műtrágyák gliadin/glutenin arány csökkentő hatásáról már beszámoltak, ami a gyengébb sikerminőséggel korrelál (Dupont és Altenbach, 2003). Mi azt tapasztaltuk, hogy a szárazság hatására egyetlen fajtában, az Mv Emesében változott szignifikánsan a gliadin/glutenin arány, és ebben az esetben is növekedést tapasztaltunk, nem pedig csökkenést, ami a későbbi sütőipari minőséget ronthatná. **Az irodalomban talált, korábbi eredményekhez hasonlóan (Panozzo és mtsai., 2001; Triboi és mtsai., 2003) a különböző fehérje frakciók a mi kísérleteinkben sem változtak jelentősen a szárazság hatására.**

## 6.2. Fiatal növények

Munkánk második részében az ozmotikus stressz hatásait vizsgáltuk fiatal növényeken, hiszen ezek egy szárazságtoleranciát jellemző tesztrendszer alapjait is képezhetik. A fiatal növények esetén a csírázástól a csírázás utáni 21. napig vizsgáltuk a fiziológiai paraméterek változásait. Vizsgáltuk a vízháztartási paraméterek, a fotoszintetikus paraméterek változását az időben, az első, második, harmadik levelek és a gyökér ABS tartalmának változást, az apikális gyökérszegmens ABS, NO és ROS változását valamint a gyökérhossz és a biomassza produkció alakulását az ozmotikus stressz során. A fiatal növények ozmotikus stresszre adott válaszait azért vizsgáltuk, hogy választ kapjunk arra a kérdésre, mennyiben hasonlítanak a fiatal növény ozmotikus stresszre és a zászlós levél vízhiányra adott válaszai, és lehet-e a fiatal növények válaszreakciói alapján a genotípusok szárazságtűrését monitorozni.

A ozmotikus stressz hatására a fiatal növény stádiumban a GK Életnél az összes *vízháztartási paraméterben* szignifikáns csökkenést tapasztaltunk a kontrollhoz képest, ez az érzékeny fajta erősebben, és hamarabb reagált az ozmotikus stresszre. A rezisztens genotípus,

Mv Emese is reagált a PEG kezelésre, de szignifikáns különbségeket nem mindegyik paraméterben és csak az utolsó, 21. napon észleltük, tehát csak a hosszan tartó ozmotikus stressz váltotta ki. A GK Élet a stresszre vízvesztéssel reagált, relatív víztartalma lecsökkent, és az ozmotikus potenciál a hajtásban már a 9. napon, tehát már a legelső PEG kezelés hatására (100 mOsm, 7. nap) lecsökkent. A toleráns Mv Emese és az érzékeny GK Élet között mindegyik vízháztartási paraméter alakulásában látszik különbség, az eredmények alapján elmondható, hogy **az érzékeny fajta erősebben, és hamarabb reagált az ozmotikus stresszre.**

*A kalászosítás időszakában és a fiatal növény korban egyaránt azt tapasztaltuk, hogy az érzékeny fajták, a GK Élet és a Cappelle D. vízháztartási paraméterei erőteljesebb csökkenéssel reagáltak az ozmotikus ill. szárazság stresszre, a két kísérleti körülményre adott válaszok ebből a szempontból ugyanazt mutatták.*

*A fluoreszcencia indukciós paraméterek közül a PS II elsődleges fotokémiáját jellemző Fv/Fm nem változott meg fiatal növényekben a PEG kezelés hatására, azonban mindkét fajtában szignifikánsan megváltoztak a fény adaptált leveleken mért paraméterek: a  $\Phi_{PSII}$  és a fotokémiai munka lecsökkent, a nem fotokémiai munka megemelkedett, mindkét genotípusnál ugyanakkor, a 11. naptól tapasztaltunk változást a stresszelt növényekben. Bár az érzékeny genotípusnál, a GK Életnél a kísérlet végén a  $\Phi_{PSII}$  és qP értékek csökkenése erőteljesebb volt, a tendenciák mégsem különböztek szignifikánsan a toleráns és az érzékeny fajta között. **Az ozmotikus stressz nem okozott a toleráns vagy az érzékeny fajtára jellemző specifikus változást a fényadaptált levelek PSII fotokémiai folyamataiban és a CO<sub>2</sub> asszimilációban.***

*A kalászosító növényeknél csak az utolsó mérési napon figyeltünk meg különbséget, miközben a fiatal növények esetén már pár nap PEG-kezelés után szignifikáns különbségeket mértünk az ozmotikus stressz hatására. Az utolsó napon, a  $\Phi_{PSII}$  és a qP értékek a fiatal növények esetén a GK Életnél csökkentek le jobban, mint az Mv Emesénél, a kalászosító növényeknél pedig épp az ellenkezőjét tapasztaltuk. Az NPQ fiatal korban az Mv Emese és a GK Élet esetén is megemelkedett, míg a kalászosító búzáknál csak a két érzékeny fajta, a GK Élet és a Cappelle D. esetén. A CO<sub>2</sub> asszimiláció is eltérő tendenciát mutatott a kalászosító növényekben, mert a szárazság hatására csak az utolsó napon csökkent le a vizsgált fajták fotoszintézisének hatékonysága.*

A fényválasz görbék között azonban a két kísérlet során találtunk hasonlóságot, mindkét esetben, az ozmotikus stressz hatására fiatal korban és a szárazság hatására a kalászolás időszakában a toleráns Mv Emese esetén volt szignifikánsabb a különbség a kontrollhoz képest. A kalászoló búzák esetén ennek az volt az oka, hogy ez a fajta hamarabb öregedett a szárazság hatására a másik három vizsgált fajtához képest, ezért már az anthézis utáni 16. napon a fotoszintetikus apparátusa gyengén működött. Azonban ez a toleráns fajta, tehát ezen adatok alapján sem tudunk a toleranciára vonatkozó egyértelmű következtetéseket levonni, a mért fotoszintetikus paraméterek szerint ez a fajta érzékenyebb volt az alkalmazott kezelésekre.

A toleráns fajta, az Mv Emese hajtásainak és a gyökerének ABS tartalmát megmérve azt tapasztaltuk, hogy ez a fajta legfiatalabb leveleiben akkumulálja az abszcizinsavat ozmotikus stressz hatására, hiszen a második levélben már a 13. napon magasabb volt az ABS szint, mint az első levélben, és a harmadik levélben már megjelenésekor megemelkedett a hormonszint az stresszelt növényekben.

Az GK Élet hamarabb reagált a PEG kezelésre, már a 9. napon szignifikáns emelkedést figyeltünk meg az első levélben. A toleráns Mv Emese első és második levelében magasabb szinteket mértünk, mint a GK Élet esetén, miközben a gyökér ABS szintje épp ellenkezőleg, a GK Életnél volt magasabb a 15. és 21. napokon. Az első és második levelekben és a gyökérben mért értékek alapján a toleránsnak mondott az Mv Emese, bár később, mégis erőteljesebb ABS szint emeléssel reagált az ozmotikus stresszre, mint a érzékenynek mondott GK Élet

A két genotípus stratégiája hasonlóknak tűnik, mindkét fajta a legfiatalabb, második levélben jobban megemelte az ABS tartalmat, mint az öregebb, első levélben, és a legkésőbb megjelenő harmadik levélben szintén mindkét genotípus szignifikánsan megemelte a hormon szintet. **Mindkét fajta a fiatalabb leveleibe fokozatosan szállította az abszcizinsavat, ami a növényeknél, szárazság esetén egy általános reakció, azonban ez a gradiens a GK Élet genotípus esetén erőteljesebb volt** (Zhang és Davies, 1989).

A szárazság hatására megnövekedett xilem ABS tartalom forrása nagyrészt a gyökér lehet (Tardieu és mtsai., 1991). A gyökér sejtjeinek pH-ja fontos szerepet játszik a xilemben transzportálódó ABS mennyiségének szabályozásában. Jovanović és mtsai. (2000) munkájában a rezisztens kukoricafajta gyökér kéreg sejtjeiben a citoplazma és a vakuolum

pH-ja savasodott az ozmotikus stressz hatására. Ennek következtében nagyobb mennyiségű disszociálatlan ABSH tudott a sejtekből az apoplastba diffundálni. Ezzel ellentétben az érzékeny fajta gyökérszövetjeiben a pH 7,06-7,32 között alakult, ami hatásos anion csapdának bizonyult, hiszen az ABS anionok nem tudtak kidiffundálni, ezáltal limitálódott a hormon transzportja a xilémbe és végül a levelekbe.

Az említett kísérlethez hasonlóan mi is különbséget figyeltünk meg a gyökérben a toleráns és érzékeny fajta között az ABS akkumulációban. A két fajta esetén az ABS gradiens a növényen belül, vagyis a gyökértől a hajtásokig különbözően alakult. A szárazságra érzékeny, de hosszabb gyökérrel rendelkező GK Életben a PEG kezelés hatására a gyökér ABS tartalma hamarabb és nagyobb mértékben emelkedett meg, mint Mv Emesénél, ami jelentheti azt, hogy a hormon transzportja a gyökerekből a hajtások felé kevésbé volt hatékony. A levelek ABS tartalma esetén a tendencia éppen fordított volt, Mv Emesénél mértünk magasabb szinteket a stresszelt növényekben, és a hormon szintek hamarabb és erőteljesebben növekedtek meg az öregebb levelekben. A GK Élet leveleiben csak később és kisebb mértékben emelkedett meg az ABS tartalom. A GK Élet esetén **a gyökérben szintetizálódó ABS transzportjának kisebb hatékonysága, vagy a kevesebb hajtásban szintetizálódó ABS oka lehet az érzékeny fajtánál tapasztalt alacsonyabb értékeknek.** Bár az ozmotikus stressz hatására kialakult magasabb ABS tartalmakat magyarázhatja a hatékonyabb transzport a gyökér irányából, a levelekben történő ABS szintézist nem lehet kizárni. A gyökérszövet magas ABS tartalma viszont korrelációt mutat a GK Élet erőteljesebb gyökérenövekedésével.

A gyökerekben tapasztalt ABS tartalmak növekedésének szabályozásában szerepe lehet az AAO enzimeknek is. Az izoenzim aktivitásának gélben történő vizsgálata során azt tapasztaltuk, hogy az Mv Emese gyökérében mind a négy izoenzim csak a 21. napon mutatott a kontrollhoz képest szignifikánsan nagyobb aktivitást. Ezzel ellentétben a GK Élet esetén, ahol az ABS tartalom is hamarabb, a 13. napon emelkedett meg, az AAO1 és AAO2+3 izoenzim aktivitásának fokozódása is korábbra, a 13. illetve a 11. napra helyeződött. **Az AAO2+3 izoenzim aktivitásának legkorábbi megemelkedéséből arra következtethetünk, hogy ezeknek az izoenzimnek kiemelkedő szerepe lehet a ozmotikus stressz hatására megemelkedő ABS bioszintézisében.**

Az első levelek ABS tartalma jól korrelált a mért *sztómakonduktancia* értékekkel mindkét fajtánál. A magas ABS szintek a hajtásokban a sztómazáródást segítik elő (Pospíšilova, 2003), ezt látjuk a mi kísérletünkben is. A toleráns Mv Emese stresszelt növényeinek első leveleiben a sztómakonduktancia hamarabb lecsökkent, a 13. napon. Az érzékeny A GK Élet stresszelt első leveleiben ABS tartalom alacsonyabb, a  $g_s$  értékek pedig magasabbak voltak a 13. napig, mint az Mv Emesénél, majd a 15. napon csökkent le szignifikánsan. **A magasabb ABS szintekkel összhangban az Mv Emese első levelében a sztómakonduktancia és  $P_N$  értékek is hamarabb csökkentek le, vagyis a toleráns fajta hamarabb zárta be a sztómáit, amivel a vízvesztés csökkentését segítette.**

Az ozmotikus stressz alatti *növekedési paramétereket* megvizsgálva, meglepő módon azt tapasztaltuk, hogy az érzékeny GK Élet növesztett hosszabb gyökereket. A GK Életnél az össz biomassza produkció gyökérre eső része is nagyobb volt, mint az Mv Emesénél, és a mért gyökérhosszak is kisebb mértékben csökkentek le a stressz hatására

Az ABS eloszlása a biomassza eloszlását is szabályozhatja a gyökér és a hajtás szövetei között. **Az érzékeny GK Élet stressznek kitett növényeinek gyökerében megfigyelt nagyobb mértékű ABS akkumuláció nagyobb gyökér biomassza prudukcióval és gyökérhosszal párosult.**

A csökkent hajtásnövekedés alacsony vízpotenciálú körülmények között lehetővé teszi a növény számára, hogy növelje a gyökér biomasszát. **Feltételezhető, hogy a hajtás/gyökér arány különböző mértékű gátlása az ABS egyik legfontosabb feladata ozmotikus stressz során** (Taiz és Zeiger, 2006).

A gyökérnövekedés szempontjából legfontosabb *apikális gyökérszegmens ABS tartalmát*, valamint az ebben a régióban megtalálható *megnyúlási zóna ROS és NO tartalmát* is meghatároztuk, mert ezeknek a molekuláknak szerepük lehet az ozmotikus stressz alatti gyökérnövekedés szabályozásában.

Az Mv Emesénél a kísérlet során végig tapasztalt alacsonyabb ABS tartalom a gyökérszegmensekben jól korrelált a sokkal szignifikánsabb gyökérnövekedés-csökkenéssel, hiszen ennél a fajtánál a PEG kezelt gyökerek hossza 50%-a volt a kontroll növényeknél mért gyökérhossznak. Az érzékeny GK Életnél csak a 15. napon csökkent le szignifikánsan az ABS tartalom, és ezzel összhangban a gyökérhossz is kisebb mértékben csökkent le. Eredményeink alapján az ABS elsődleges szereppel bír a gyökér megnyúlásában, ahogyan azt más kísérletek



is alátámasztják (Sharp és LeNoble, 2002; Saab és mtsai., 1990; Vysotskaya és mtsai 2008), habár sokan a  $H_2O_2$  (Cosgrove, 1999) vagy a NO (Kolbert és mtsai., 2008) hasonlóan fontos szerepét hangsúlyozzák.

Az erőteljesebb gyökérhossz csökkenést az Mv Emesénél intenzív ROS akkumuláció kísérte a kezelt és a kontroll növényekben is, valamint szignifikánsan nagyobb NO szintézis a stresszelt gyökerekben. Ezek a reaktív oxigén és nitrogén fajták az alacsony ABS szintekkel együtt eredményezhették a gyökérhossz csökkenését.

Ezzel ellentétben a GK Életnél, ahol a gyökérhossz csökkenés kisebb volt, mint az Mv Emesénél, szignifikánsan alacsonyabb ROS szinteket tapasztaltunk a PEG-kezelt növények megnyúlási zónájában. A stresszelt növények gyökerében az NO szintek is magasabbak voltak a GK Életnél a 11. és 13. napokon, mint az Mv Emesénél. Ezek a változásokat azonban nem kísérte az ABS tartalom csökkenése és a ROS szint növekedése, ezért ezeknek a molekuláknak az aránya a GK Élet esetén kedvezőbb lehetett a gyökérnövekedés szempontjából ozmotikus stressz alatt. Eredményeink alapján a búzanövények apikális gyökérszegmens ABS tartalma határozta meg elsősorban az ozmotikus stressz alatti gyökérnövekedést. A hormon hatását befolyásolhatta a megnyúlási zóna  $H_2O_2$  és más egyéb reaktív oxigén formák, mint a szuperoxid gyökéanion és peroxinitrit, valamint a NO akkumulációja. Ezeknek a reaktív molekuláknak a kombinált hatása a fiziológiai szempontból jelentősebb ABS hiányában erőteljes gyökérnövekedés csökkenéshez vezetett a toleráns Mv Emese esetében. Az ABS jelenléte mellett a NO akkumuláció egyedüli megemelkedése kevésbé jelentős gyökérnövekedés inhibíciót okozott a PEG kezelés hatására az érzékeny GK Életnél.

## 7. Összefoglalás és következtetések

Munkánkban arra kerestünk választ, hogy vannak-e olyan fiziológiai paraméterek, amelyekkel az agronómiailag szárazságtűrőnek ismert búzafajták talajszárazság esetén vagy az ezt kísérletesen szimuláló ozmotikus stressz során egyértelműen jellemezhetők fiatal növény korban illetve a szemfeltöltődés alatt. Ezeket a fiziológiai paramétereket az irodalom alapján azok közül az élettani tulajdonságok közül választottuk ki, amelyek kapcsolatban lehetnek a szárazságstresszhez történő akklimatizációval. Ezek a vízháztartási paraméterek, a fotoszintézis, a nettó CO<sub>2</sub> fixáció hatékonysága, a klorofill a fluoreszcencia indukciós paraméterek, a levél (zászlóslevél és fiatal levelek) valamint a feltöltődő szemek abszcizinsav tartalmának változása, valamint a gyökérnövekedés és gyökérhossz változása ozmotikus stressz hatására.

Célunk az volt, hogy ezen fiziológiai paraméterek segítségével jellemezzük a genotípusok szárazságtűrési stratégiáját, és fiziológiai módszereket adjunk a nemesítők kezébe a nemesítésben használható, megfelelő genetikai anyag kiválasztásához. Mivel a búza szárazságtűrését mindig a terméshozam jellemzi, ezért a szemfeltöltődés időszakában alkalmazott szárazságstressz hatásának vizsgálatát összekapcsoltuk a termés mennyiségét (ezerszem tömeg, egy kalászra jutó szemszám) és minőségét (raktározott proteinfraekciók) meghatározó komponensek vizsgálatával.

A kísérletben használt búza genotípusok közül kettő szárazságtűrő (*Triticum aestivum* L. cv. Plainsman V és a cv. Mv Emese), míg kettő szárazságra érzékeny genotípus (cv. Cappelle Despres és a cv. GK Élet) volt. A talajszárazság hatását a kalász hasban állapottól a zászlós levélen és a szemtermésben határoztuk meg, míg a fiatal növények esetén a levelek és a gyökér ozmotikus stresszre adott válaszát háromleveles korrig vizsgáltuk. Eredményeinket a dolgozat elején felvetett három probléma köré csoportosítva a következőkben foglalhatjuk össze.

## 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 Plainsman **szárazságtoleráns** búzafajták. Ezek az adatok a laboratóriumi körülmények között is a szántóföldi eredményekhez hasonlóan alakultak.
- **A vízháztartási paraméterek** a fiatal és a kalászoló növények esetén is **azonos tendencia szerint változtak az egyes genotípusokban**.  
A toleráns fajták a levelek végső öregedési stádiumának bekövetkezéséig sem a talajszárazság, sem az ozmotikus stressz hatására nem mutattak 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 szárazságstressz során, a zászlósleveleken mért adatokkal
- **A zászlóslevelek fotoszintetikus aktivitásának változása** a kalász hasban állapottól kezdődő szárazság hatására **nincs szoros kapcsolatban a fajták szárazságtűrésével**.
- 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 jellemezték 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 CO<sub>2</sub> asszimilációban**. A fluoreszcencia indukciós paraméterek

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**. Ez 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 a 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.

## Summary

Wheat (*Triticum aestivum* L.) is one of the main crops consumed by humans and it is cultivated in different environments. Under the temperate zone early-summer droughts are increasingly frequent and limit grain yield since they coincide with the grain filling period of most cereals, including wheat. The most important parameter of the wheat for which genotypes are screened during the process of breeding is the grain yield. But determining grain yield is time-consuming as the wheat plants have to be bred until the maturity of the grains. Therefore the selection would be time and energy-saving if a standard test system were worked out based on the correlations of certain physiological parameters and the drought tolerance and grain yield.

To reach this aim several experiments have been carried out on wheat in field and in greenhouses as well. In a greenhouse the drought stress can be stimulated in two different ways: with water deficit if the plants are grown in soil, or with germination and growth of seedlings in solution with high osmotic potential (e.g. in mannitol, polyethylene glycol, PEG).

For working out a test system, which could be used for selecting genotypes for drought tolerance the different conditions (field, greenhouse) and varieties with different drought tolerance characteristics should be compared.

In this work four wheat genotypes, two drought tolerant (*Triticum aestivum* L. cv. Mv Emese and cv. Plainsman V) and two sensitive (cvs. GK Élet and Cappelle Desprez) wheat genotypes were investigated. Two sets of experiments were carried out. In the first set of experiment plants were grown in soil and the drought stress was stimulated by water-deficit, and in the second set of experiment young seedlings were grown in hydroponic culture, in this case osmotic stress was induced by PEG treatment.

In the grain filling period final grain yield, water status parameters, flag leaf photosynthetic activity, abscisic acid (ABA) levels of flag leaf and grain, grain yield and storage protein contents, in the seedling stage photosynthetic activity of the first leaf, ABA content of leaves and root, abscisic aldehyde oxidase (AAO) activity in root, root and shoot growth, biomass production and ABA, reactive oxygen species (ROS) and nitric oxide (NO) levels of the apical root segment were investigated. The changes of the mentioned parameters were investigated in the function of time, in the grain filling period from the booting stage till

the 24<sup>th</sup> day after anthesis (DPA), and from the 7<sup>th</sup> day till the 21<sup>st</sup> day after germination in seedling stage. We monitored two sensitive and two tolerant wheat cultivars by comparing the physiological parameters used most frequently for screening drought resistance, namely the photosynthetic performance and ABA accumulation.

The main goals of this PhD work were the following:

- Comparing the changes of the physiological parameters in the young seedling stage under osmotic stress and in the grain filling period during water-deficit. To find out whether the changes of these experiments correlate, and the changes observed in the seedling stage can characterise the drought tolerance and final grain yield.
- Finding correlations between the photosynthetic activity of the flag leaves and the degree of grain filling.
- To determine the effects of water-deficit on the ABA content of the flag leaves and grains and to find out the influence of the changes of ABA concentrations on the grain filling, final number and mass of grains.
- To see the effects of osmotic stress on the ABA content of leaves and root in seedling stage and to observe if there is correlation between these ABA contents and the root and shoot growth, biomass production and stomatal conductance.
- To investigate the role of NO, ROS and ABA molecules in root growth under osmotic stress.
- To observe the changes of the activity of abscisic aldehyde oxidase in root under osmotic stress.

The yield parameters of the sensitive GK Élet and Cappelle D. declined much more than those of the tolerant Mv Emese and Plainsman genotypes after irrigation withdrawal. While when the environmental conditions were optimal, GK Élet and Cappelle D. performed well or even better than Plainsman, during severe drought Plainsman exhibited very high yield stability.

**The water status parameters of the drought sensitive genotypes, GK Élet and the Cappelle D. decreased earlier and more significantly under water-deficit as well as under osmotic stress. The changes of these physiological parameters were the same in the experiments.**

Since photosynthesis is one of the main metabolic processes determining grain yield in wheat, Chl *a* fluorescence is frequently used to monitor the function of the photosynthetic apparatus in response to water stress.

**The changes of the fluorescence induction parameters were different in the two experiments. The tendencies were different, because significant differences between the control and the stressed plants were observed only on the last day of the experiment in the grain filling period, while the osmotic caused significant changes right after 1-2 days.** In seedling stage on the last day the  $\Phi_{\text{PSII}}$  and  $qP$  values decreased more in GK Élet, in contrast in the grain filling period these parameters decreased more in Mv Emese. The NPQ increased significantly in Mv Emese and in GK Élet also under osmotic stress, but it increase only in case of the sensitive genotypes, GK Élet and Cappelle D. in the grain filling period.

Our results suggest that osmotic stress did not result in either tolerant or sensitive cultivar-specific changes in PSII photochemistry and in  $\text{CO}_2$  assimilation in the light-adapted first leaves of wheat seedlings. In the grain filling period the significant changes in  $P_N$ ,  $\Phi_{\text{PSII}}$ ,  $qP$  and NPQ during drought stress can be explained by the earlier senescence, as drought may promote whole plant senescence in monocarpic plants. Earlier senescence during water deficit in sensitive and in tolerant varieties was indicated by the earlier decline in pigment content,  $\text{CO}_2$  fixation and decline of the photosynthetic electron transport in the chloroplast, revealed by decreased  $\Phi_{\text{PSII}}$  and  $qP$ . The control plants of the tolerant Plainsman also demonstrated symptoms of faster senescence.

Light response curves of the photosynthetic parameters were measured on the 16<sup>th</sup> day after germination and on the 16<sup>th</sup> day after anthesis. In both experiments the differences between the control and the stressed plants were the highest in Mv Emese. In the grain filling period this could be explained with the earlier senescence of Mv Emese compared to the other genotypes. But these data can neither characterise the sensitivity of the genotypes as Mv Emese is a tolerant variety. The photosynthetic apparatus of Mv Emese was sensitive to drought stress despite the fact that it is a tolerant variety in agricultural terms.

**The changes of the fluorescent induction parameters were different in seedling stage and in the grain filling period. The changes of neither parameter characterised obviously the drought tolerance or sensitivity of the genotypes. According to our results the fluorescent induction parameters did not provide definite information on tolerance or sensitivity.**

The plant hormone abscisic acid (ABA) plays a major role in the acclimation to water deficit during different types of stress facilitating survival by changing the physiology and growth of the plants. Therefore we emphasized the examination of the ABA levels. The ABA contents of the leaves and root in the seedlings and of the flag leaves and grains in the grain filling period were determined.

In seedling stage the ABA content of roots of the sensitive GK Élet increased earlier and to a higher extent after PEG exposure. The tendencies in leaf ABA levels were the opposite. We found higher ABA contents under osmotic stress in the leaves of the tolerant Mv Emese, and the hormone levels increased earlier and more intensively in the older leaves. This may suggest that transport of ABA from roots to leaves could be less efficient in GK Élet. **Higher leaf ABA levels in the tolerant Mv Emese in response to osmotic stress resulted in earlier decrease in stomatal conductance and in  $P_N$ .**

The AAO isoenzymes could have role in the regulation of the ABA levels in roots. In the root of Mv Emese the activity of all isoenzymes (AAO1, AAO2+3 and AAO4) increased significantly only on the 21<sup>st</sup> day. In contrast, in GK Élet the activity of AAO1 and AAO2+3 increased earlier. As the ABA content of the root of GK Élet increased earlier also, **our results suggest that that the isoenzymes AAO1 and AAO2+3 could have important role in regulating ABA synthesis under osmotic stress.**

According to our results regarding the ABS, ROS and NO content of apical root segments the higher ABA content is important in maintaining primary root elongation under osmotic stress. The effects of ABA could be modified by the levels ROS and NO molecules in the root elongation zone. **The combined effects of ROS and NO in the lack of the physiologically important ABA led to a higher reduction of root growth in case of the tolerant Mv Emese.** In the apical root segments of the stressed seedlings of GK Élet in the presence of ABA the NO content increased only which resulted a slighter reduction of root growth.



ABA levels in flag leaves of Mv Emese and Plainsman during drought stress, at the end of the grain filling period, were higher than in the sensitive GK Élet and Cappelle D., which can explain better yield parameters as ABA can regulate the assimilate remobilization into the grains. **The results were similar in both experiments as the drought stress as well as the osmotic stress resulted in higher ABA levels in the flag leaves and in the first and second leaves in case of the tolerant genotypes.**

Lower ABA concentrations in the flag leaves coincide with ABA accumulation in the grains and this can probably be explained by the transport of the hormone from flag leaves to the ears. In our experiment obvious differences between the sensitive and tolerant genotypes were found in the changes of ABA content of grains during drought stress. The ABA level in the grains was increased significantly in all genotypes exposed to water stress at 9 DPA. In drought-tolerant cultivars Emese and Plainsman, the highest levels were measured at 9 DPA during the experimental period; the hormone levels then decreased rapidly until full maturity. In the sensitive GK Élet and Cappelle D., the ABA content was increased at 9 DPA too, but it remained high throughout the following phases of grain filling, allowing it to influence the accumulation of food reserves in the endosperm, hasten grain dormancy and programmed death of the starchy endosperm cells. **In our experiment, significantly lower grain masses in GK Élet and Cappelle D. may be caused by the constantly high ABA levels in the grains, from 9 DPA to 24 DPA, as other studies indicated that continuously high ABA levels after the cell division period exerted an inhibitory effect on the transport of assimilates, grain filling and grain growth.**

The different storage protein, HMW-GS, LMW-GS and gliadin fractions were not significantly modified by drought. The enhanced ABA levels at 9-12 DPA in each genotype may favour the accumulation of storage proteins, which may explain the similar storage protein contents in the grains of the control and stressed plants.

**Our results indicate that, for an accurate assessment of the sensitivity of a genotype to drought stress, the responses of the whole plant, including the vegetative and reproductive organs must be taken into consideration. Conclusions drawn from the physiological parameters of the vegetative parts offer only limited information concerning the sensitivity of the genotypes in terms of agriculture.**

## Köszöntenyilvánítás

Köszönetet szeretnék mondani *Prof. Dr. Erdei Lászlónak*, témavezetőmnek, hogy lehetővé tette számomra, hogy PhD munkámat a Szegedi Tudományegyetem Növénybiológiai Tanszékén végezhessem, hogy munkám során hazai és külföldi konferenciákra eljuthassak és, hogy munkám során végig támogatott.

Hálával tartozom *Dr. Tari Irma* Tanárnőnek az évek során nyújtott fáradhatatlan szakmai és emberi támogatásáért, jó tanácsaiért, biztatásáért és kedvességéért.

Külön köszönet illeti *Gallé Ágnest*, aki segített a beilleszkedésben, a módszerek elsajátításában, aki a legkiválóbb mérőtársam volt és jó barátom lett.

Köszönöm *Dr. Csiszár Jolánnak*, hogy mindig segített a szakmai kérdésekben és, hogy a „búzás csoport” tagjaként mindig jó kedvűen dolgozhattunk együtt.

Köszönöm *Dr. Pécsváradi Attilának* a szakmai tanácsait, a labor munkában nyújtott különleges technikai segítségét és, hogy az oktatással töltött órákat vidám hangulatban tölthettem.

Köszönöm a *PhD hallgató társaimnak és a Tanszéken dolgozó asszisztenseknek* az összetartást, a rengeteg segítséget, kedvességet és sok nevetést és a Növénybiológiai Tanszék *valamennyi volt és jelenlegi munkatársának*, hogy munkám során végig támogattak és őszintén velem örültek a PhD fokozat megszerzésének rögzös útján ért sikereknek.

Szeretném megköszönni a szegedi Gabonatermesztési Kutatóintézet munkatársainak, *Dr. Cseuz Lászlónak és Kovácsné Eszternek* a kísérletekhez biztosított növényi anyagért.

A tartalékfehérje frakciók mérésében nyújtott segítséget köszönöm a Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszékén dolgozó munkatársaknak, *Dr. Salgó Andrásnak, Dr. Tömösközi Sándornak és Abonyi Tibornak*.

Hálával tartozom *családomnak*, hogy szeretetükkel támogattak, végig hittek bennem és biztattak. Végül, de nem utolsó sorban szeretném megköszönni férjemnek, *Forgó Róbertnek* a rengeteg türelmet, segítséget, szeretet és a közös otthon melegét.

## 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* – DOI: 10.1007/s11738-009-0453-6

**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.

## Poszterek

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.

2<sup>nd</sup> 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.

2<sup>nd</sup> 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.

2<sup>nd</sup> 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

## **Konferencia előadások**

### **Idegen nyelven:**

**Guóth A. (2005):** Examination of the wheat gluten polypeptides by HPLC

4th European Young Cereal Scientist and Technologist Workshop, BOKU, Heiligenstadt, Vienna, Austria, 2005. június 29- július 1.

**Guóth A., Tari, I., Csiszár, J., Gallé, Á., Cseuz, L., Erdei, L. (2007):** Drought stress and grain filling in wheat

Industrial utilization of wheat cultivars of the Tisza-Maros region. With special attention to wheat starch productivity – Opening Conference, 2007. június 28-29.

**Guóth A., Tari, I., Csiszár, J., Gallé, Á., Erdei, L. (2007):** Grain filling and its hormonal background: the effects of drought

Industrial utilization of wheat cultivars of the Tisza-Maros region. With special attention to wheat starch productivity –Interim Conference, 2007. szeptember 27-28.

**Guóth A, Markovics E, Véha A, Madoşă E, Ciulca S, Furdi F, Mihacea S (2008):** Flour quality in the Hungarian and Romanian wheat cultivars. INTERREG Closing Conference, Szeged, 2008. March 13-14.

#### **Magyar nyelven:**

**Guóth A., Tari I., Csiszár J., Gallé Á., Erdei L. (2006):** Szárazságstressz hatása búzafajták fotoszintetikus folyamataira és a szemfeltöltődés hormonális változásaira.

Az NKFP Búzakalász Konzorcium zárószemináriuma, Mátraháza, 2006. november 8-10.

**Guóth A., Tari I., Csiszár J., Gallé Á., Cseuz L., Erdei L. (2007):** Szárazságstressz hatása a búza fotoszintetikus folyamataira és a hormonális változásaira a szemfeltöltődési periódusban.

Az NKFP Búzakalász Konzorcium zárószemináriuma, Mátraháza, 2007. október 15-17.

**Guóth A., Tari I., Cseuz L., Gallé Á., Csiszár J., Erdei L. (2008)** Hormonális változások és gyökérfejlődés. NAP-BIO „Növényi génforrás” Magyar – Német Közös Gabonanemesítési Projekt Szemináriuma, Mátraháza, 2008. november 19-21.

**Guóth A., Tari I., Gallé Á., Csiszár J., Cseuz L., Erdei L. (2008)** Szárazságstressz hatása búza fotoszintetikus folyamataira, hormonális változásaira és a szemfeltöltődésre. IX. Magyar Növénybiológiai Kongresszus, Szeged, 2008. július 7-9.

**Előadás - társszerző:**

Gallé Á., Csiszár J., Secenji M., **Guóth A.**, Tari I., Györgyey J., Dudits D., Erdei L. (2006) Glutation S-transzferáz aktivitás és génexpressziós változások búzavonalakban szárazságstressz hatására. Előadás, Búzakalász Konzorcium (NKFP) Szeminárium, Mátraháza, 2006. november 8-10.

Gallé Á., Secenji M., Csiszár J., **Guóth A.**, Tari I., Györgyey J., Dudits D., Erdei L. (2007) GST és génexpressziós változások szárazságstressz hatására szemfeltöltődés alatt különböző búzafajtákban. Előadás, Búzakalász Konzorcium (NKFP) Szeminárium, Mátraháza, 2007. október 15-17.

Gallé Á., Csiszár J., Secenji M., Tari I., **Guóth A.**, Dudits D., Györgyey J., Erdei L. (2007) Studies on glutathione S-transferase activities and gene expression levels in *Triticum aestivum* cultivars during polyethylene glycol-induced osmotic stress. 9th International Symposium Interdisciplinary Regional Research ISIRR, Novi Sad, 37

Tari I., **Guóth A.**, Csiszár J., Cseuz L., Gallé Á., Erdei L. (2008) Effect of photosynthetic activity in flag leaves on grain filling during drought stress: abscisic acid and starch accumulation. Industrial Utilization of wheat cultivars of the Tisza-Maros region, with special attention to wheat productivity. HURO-06-02/006 project, Final Conference, 2008. 12-14 March, Szeged.

Csiszár J., Gallé Á., **Guóth A.**, Pintér B., Pálfi X., Erdei L., Tari I. (2008): Antioxidáns mechanizmusok és a gyökérfejlődés. NAP-BIO „Növényi génforrás” Magyar –Német Közös Gabonanemesítési Projekt Szemináriuma, Mátraháza, 2008. november 19-21.

Csiszár J., **Guóth A.**, Kolbert Zs., Gallé Á., Tari I. (2008) Starch content and  $\alpha$ -amylase activities in different wheat cultivars. INTERREG Closing Conference, Szeged, 2008. March 13-14.

Gallé Á., Csiszár J., Secenji M., Tari I., **Guóth A.**, Györgyey J., Erdei L. (2008): GST (glutation S-transzferáz) aktivitás- és génexpressziós változások különböző szárazságtűrésű búzafajtákban. IX. Magyar Növénybiológiai Kongresszus, Szeged, 2008. július 7-9.

Díjak:

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

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 HU00602/006) kutatási pályázatok támogatták.



### Felhasznált irodalom

**Ahmadi A, Baker DA** (2001) The effect of water stress on the activities of key regulatory enzymes of the sucrose to starch pathway in wheat. *Plant Growth Regulation* 35:81-91

**Abbad H, El Jaafri SA, Bort J, Araus JL** (2004) Comparative relationship of the flag leaf and the ear photosynthesis with the biomass and grain yield of durum wheat under a range of water conditions and different genotypes. *Agronomie* 24, 19-28.

**Ahmadi A, Baker DA** (1999). Effects of abscisic acid (ABA) on grain filling process in wheat. *Plant Growth Regulation* 28:187-197.

**Allan AC, Fluhr R** (1997) Two distinct sources of elicited reactive oxygen species in tobacco epidermal cells. *Plant Cell* 9: 1559–1572

**Altenbach SB, DuPont FM, Kothari KM, Chan R, Johnson EL, Lieu D** (2003) Temperature, water and fertilizer influence the timing of key events during grain development in US spring wheat. *Journal of Cereal Sciences* 37:9-20.

**Barnabás B, Jäger K, Fehér A** (2008) The effects of drought and heat stress on reproductive processes in cereals. *Plant, Cell and Environment* 31:11-38.

**Bartha B, Kolbert Zs, Erdei L** (2005) Nitric oxide production induced by heavy metals in *Brassica juncea* L. Czern and *Pisum sativum* L. *Acta Biologica Szegediensis* 49: 9-12

**Beligini MV, Lamattina L.** (2000) Nitric oxide stimulates seed germination and de-etiolation, and inhibits hypocotyls elongation, three light-inducible responses in plants. *Planta* 210:215-221

**Berger F** (1999). Endosperm development. *Current Opinion in Plant Biology* 2, 28-32

**Bietz JA, Burnouf T, Cobb LA, Wall JS** (1984) Gliadin analysis by reversed-phase high-performance liquid chromatography: optimization of extraction conditions. *Cereal Chemistry* 61: 124-129

**Bilger W, Schreiber U** (1986) Energy-dependent quenching of dark level chlorophyll fluorescence in intact leaves. *Photosynthesis Research* 10:303-308

**Blumenthal CS, Barlow EWR, Wrigley CW** (1993) Growth environment and wheat quality: The effect of heat stress on dough properties and gluten proteins. *Journal of Cereal Science* 18:3-21

**Borkovec V, Prochazka S** (1992) Pre-anthesis interaction of cytokinins and ABA in the transport of <sup>14</sup>C-sucrose to the ear of winter wheat (*Triticum aestivum L.*). *Journal of Agronomy and Crop Science* 169:229-235

**Bradford MM** (1976) A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye-binding. *Analytical Biochemistry* 72:248-54

**Bradley DJ, Kjellbom P, Lamb CJ** (1992) Elicitor- and wound induced oxidative cross-linking of a proline-rich plant cell wall protein: A novel, rapid defense response. *Cell* 70:21–30

**Chen CW, Yang YW, Lur HS, Tsai YG, Chang MC** (2006) A novel functions of abscisic acid in the regulation of rice (*Oryza sativa L.*) root growth and development. *Plant and Cell Physiology* 47:1-13

**Christmann A, Hoffmann T, Teplova I, Grill E, Muller A** (2005) Generation of active pools of abscisic acid revealed by in vivo imaging of water-stressed *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 137:209-219.

**Christmann A, Weiler EW, Steudle E, Grill E** (2007) A hydraulic signal in root-to-shoot signalling of water shortage. *The Plant Journal* 52:167-174

**Córdoba-Pedregosa MC, Córdoba F, Villalba JM, González-Reyes JA** (2003) Differential distribution of ascorbic acid, peroxidase activity, and hydrogen peroxide along the root axis in *Allium cepa* L. and its possible relationship with cell growth and differentiation. *Protoplasma* 221: 57–65

**Cosgrove D** (1999) Enzymes and other agents that enhance cell wall extensibility. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 50:391–417

**Czövek P, Király I, Páldi E, Molnár I, Gáspár L** (2006) Comparative analysis of stress tolerance in *Aegilops* accessions and *Triticum* wheat varieties to detected different drought tolerance strategies. *Acta Agronomica Hungarica* 54:49-60

**Daniel C, Triboi E** (2002) Changes in wheat protein aggregation during grain development: effects of temperatures and water stress. *European Journal of Agronomy* 16:1-12

**Davies WJ, Zhang J** (1991) Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 42:55-76

**Delledonne M, Xia Y, Dixon RA, Lamb C** (1998) Nitric oxide functions as a signal in plant disease resistance. *Nature* 394:585–588

**Dupont FM, Altenbach SB** (2003) Molecular and biochemical impacts of environmental factors on wheat grain development and protein synthesis. *Journal of Cereal Science* 38:133-146.

**Durner J, Wendehenne D, Klessig DF** (1998) Defense gene induction in tobacco by nitric oxide, cyclic GMP, and cyclic ADP-ribose. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 95:10328–10333

**Flagella Z, Pastore D, Campanile RG, Di Fonzo N** (1995) The quantum yield of photosynthetic electron transport evaluated by chlorophyll fluorescence as an indicator of drought tolerance in durum wheat. *Journal of Agricultural Science* 125:325-329

**Flexas J, Escalona JM, Evain S, Gulías J, Moya I, Osmond CB, Medrano H** (2002) Steady-state chlorophyll fluorescence (Fs) measurements as a tool to follow variations of net CO<sub>2</sub> assimilation and stomatal conductance during water-stress in C3 plants. *Physiologia Plantarum* 114:231-240

**Fracheboud Y, Leipner J** (2003) The application of chlorophyll fluorescence to study light, temperature, and drought stress. In *Practical Applications of Chlorophyll Fluorescence in Plant Biology* (eds J.R. DeEll & P.M.A. Toivonen), p 125-150. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.

**Pagnussat GC, Simontacchi M, Puntarulo S, Lamattina L** (2002) Nitric oxide is required for root organogenesis. *Plant Physiology* 129:954-956

**Genty B, Briantais J-M, Baker NR** (1989) The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta* 990:87-92

**Gouvêa CMCP, Souza JF, Magalhães ACN, Martins IS** (1997) NO - releasing substances that induce growth elongation in maize root segments. *Plant Growth Regulation* 21:183–187

**Gupta RB, Batey IL, MacRitchie F** (1992) Relationship between protein composition and functional properties of wheat flours. *Cereal Chemistry* 69:125-131

**Hassan IA** (2006) Effects of water stress and high temperature on gas exchange and chlorophyll fluorescence in *Triticum aestivum* L. *Photosynthetica* 44:312-315

**Hsiao TC** (1973) Plant responses to water stress. *Annual Review of Plant Physiology* 24:519-570

**Hura T, Grzesiak S, Hura K, Thiemt E, Tokarz K, Wedzony M** (2007) Physiological and biochemical tools in drought-tolerance detection in genotypes of winter triticale: accumulation of ferulic acid correlates with drought tolerance. *Annals of Botany* 100:767-775

**Jia YQ, Masbou V, Aussenac T, Fabre JL, Debaeke P** (1996) Effects of nitrogen fertilization and maturation conditions on protein aggregates and on the breadmaking quality of Soissons, a common wheat cultivar. *Cereal Chemistry* 73:123-130

**Jovanović LJ, Stikić R, Hartnung W** (2000) Effect of osmotic stress on abscisic acid efflux and compartmentation in the roots of two maize lines differing in drought susceptibility. *Biologia Plantarum* 43:407-411

**Kobata T, Palta JA, Turner NC** (1992) Rate of development of postanthesis water deficits and grain filling of spring wheat. *Crop Science* 32:1238-1242

**Koiwai H, Nakaminami K, Seo M, Mitsuhashi W, Toyomasu T and Koshiba T** (2004) Tissue-specific localization of an abscisic acid biosynthetic enzyme, AA3, in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 134:1697-1707

**Kolbert Zs, Bartha B, Erdei L** (2008) Osmotic stress- and indol-3-butyric acid-induced NO generations are partially distinct processes in root growth and development in *Pisum sativum* L. *Physiologia Plantarum* 133:406-416

**Lancaster JR** (1996) Diffusion of free nitric oxide. In: Packer L (ed.) *Methods in enzymology* Pp. 31-50. Academic Press, San Diego

**Larroque OR, Békés F, Wrigley CW, Rathmell WG** (2000): Analysis of gluten proteins in grain and flour blends by RP-HPLC. *Proc. of 7th International Workshop Gluten 2000*, Univ. of Bristol, UK

**Levanony H, Bashan Y, Romano B, Klein E** (1989) Ultrastructural localization and identification of *Azospirillum brasilense* Cd on and within wheat root by immuno-gold labeling. *Plant and Soil* 117:207-218

**Li X, Wang H, Li H, Zhang L, Teng N, Lin Q, Wang J, Kuang T, Li Z, Zhang A, Lin J** (2006) Awns play dominant role in carbohydrate production during grain-filling stages in wheat (*Triticum aestivum*). *Physiologia Plantarum* 127:701-709.

**Lichtenthaler HK, Wellburn AR** (1983) Determination of carotenoids and chlorophyll *a* and *b* of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions* 11:591-592

**Liszka A, Van der Zalm E, Schopfer P** (2003) Production of reactive oxygen intermediates ( $O_2^-$ ,  $H_2O_2$  and  $OH^\cdot$ ) by maize roots and their role in wall loosening and elongation growth. *Plant Physiology* 136:3114-3123

**Lu C, Zhang J** (1999.) Effects of water stress on photosystem II photochemistry and its thermostability in wheat plants. *Journal of Experimental Botany* 50:1199-1206

**Ma S, Gong Q, Bohnert H** (2006) Dissecting salt stress pathways. *Journal of Experimental Botany* 57:1097-1107

**Magalheas JR, Monte DC, Durzan DJ** (2000) Nitric oxide and ethylene emission in *Arabidopsis thaliana*. *Physiology and Molecular Biology of Plants* 6:117–127

**Marchylo BA, Kruger JE, Hatcher DW** (1989) Quantitative reversed-phase high-performance liquid chromatographic analysis of wheat storage proteins as a potential quality prediction tool. *Jornal of. Cereal Science* 9:113-130

**Myers PN, Setter TL, Madison JT, Thompson JF** (1990) Abscisic acid inhibition of endosperm cell division in cultured maize kernels. *Plant Physiology* 94:1330-1336

**Neill SJ, Desikan R, Clarke A, Hancock T** (2002) Nitric oxide is a novel component of abscisic acid signaling in stomatal guard cells. *Plant Physiology* 128:13-16

**Neumann PM** (1995) The role of cell wall adjustments in plant resistance to water deficits. *Crop Science* 35:1258-1266

**Noctor G, Foyer CH** (1998) Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 49:249–279

**Noodén LD, Guiamét JJ, John I** (1997) Senescence mechanism. *Physiologia Plantarum* 101:746-753

**Nooden LD, Santokh S, Lethman DS** (1990) Correlation of xylem sap cytokinin levels with monocarpic senescence in soyabean. *Plant Physiology* 93(1):33-39

**Nooden LD** (1988) Whole plant senescence. In: Nooden LD, Leopold AC (eds.), *Senescence and Aging in Plants*. p. 391-439 Academic Press, San Diego.

**Ober ES, Setter TL, Madison JT, Thompson JF, Sapiro PS** (1991) Influence of water deficit on maize endosperm development. Enzyme activities and RNA transcriptions of starch and zein synthesis, abscisic acid, and cell division. *Plant Physiology* 97:154-164

**Paknejad F, Nasri M, Moghadam HRT, Zahedi H, Alahmadi MJ** (2007) Effects of drought stress on chlorophyll fluorescence parameters, chlorophyll content and grain yield of wheat cultivars. *Journal of Biological Sciences* 7:841-847

**Panozzo JF, Eagles HA, Wootton M** (2001) Changes in protein composition during grain development in wheat. *Australian Journal of Plant Physiology* 52:485–493

**Pieters AJ, El Souki S** (2005) Effects of drought during grain filling on PS II activity in rice. *Journal of Plant Physiology* 62:903-911

**Pospíšilová J** (2003) Participation of phytohormones in stomatal regulation of gas exchange during water stress. *Biologia Plantarum* 46:491-506

**Pritchard J, Wyn Jones RG, Tomos AD** (1988) Control of wheat root growth. The effects of excision on growth, wall rheology and root anatomy. *Planta* 176:399-405

**Rathel TR, Leikert JJ, Vollmar AM, Dirsch VM** (2003) Application of 4,5-diaminofluorescein to reliably measure nitric oxide released from endothelial cells *in vitro*. *Biological Procedures Online* 5:136-142

**Read JJ, Johnson RC, Carver BF, Quarrie SA** (1991) Carbon isotope discrimination, gas exchange and yield of spring wheat selected for abscisic acid content. *Crop Science* 31:139-146

**Rock CD** (2000) Pathways to ABA-regulated gene expression. *New Phytologist* 148:357-396

**Saab IN, Sharp RE, Pritchard J, Voetberg GS** (1990) Increased endogenous abscisic acid maintains primary root growth and inhibits shoot growth of maize seedlings at low water potentials. *Plant Physiology* 93:1329-1336

**Sagi M, Omarov RT, Lips SH** (1998) Xanthine dehydrogenase, nitrate reductase and aldehyde oxidase in ryegrass as affected by nitrogen and salinity. *Plant Science* 135: 125-135

**Saini HS** (1997) Effects of water stress on male gametophyte development in plants. *Sexual Plant Reproduction* 10:67-73

**Saini HS, Westgate ME** (2000) Reproductive development in grain crops during drought. *Advancies in Agronomy* 68:59-96



**Schachtman DP, Gooder JQD** (2008) Chemical root to shoot signaling under drought, *Trends in Plant Science* 577:1360-1385

**Schroeder JI, Allen GJ, Hugouvieux V, Kwak JM, Waner D** (2001) Guard cell signal transduction. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 52:627–658

**Seo M, Peeters AJM, Koiwai H, Oritani T, Marion-Poll A, Zeevaart JAD, KoornneefM, Kamiya Y, Koshiba T** (2000) The Arabidopsis aldehydeoxidase 3 (AA03) gene product catalyzes the final step in abscisic acid biosynthesis in leaves. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 97:12908–12913

**Seo M, Koshiba T** (2002) The complex regulation of ABA biosynthesis in plants. *Trends in Plant Science* 7:41–48

**Shao HB, Chu LY, Jaleel CA, Zhao CX** (2008) Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants. *Comptes Rendus Biologies* 331:215-22

**Sharp RE, Davies WJ** (1989) Regulation of growth and development of plants growing with a restricted supply of water. In: Jones HG, Flowers TL, Jones MB (eds) *Plants under stress*. Cambridge: Cambridge University Press, 71–93.

**Sharp RE, Poroyko V, Hejlek LG, Spollen WG, Springer GK, Bohnert HJ, Nguyen HT** (2004) Root growth maintenance during water deficits: physiology to functional genomics. *Journal of Experimental Botany* 407 (55):2343-2351

**Sharp RE, LeNoble ME** (2002) ABA, ethylene and the control of shoot and root growth under water stress. *Journal of Experimental Botany* 53:33-37

**Shewry PR, Popineau Y, Lafiandra D, Belton P** (2001) Wheat glutenin subunits and dough elasticity: findings of the EUROWHEAT project. *Trends in Food Science and Technology* 11:433-441

**Spollen WG, Tao W, Valliyodan B, Chen K, Hejlek LG, Kim J-J, LeNoble ME, Zhu J, Bohnert HJ, Henderson D, Schachtman DP, Davis GE, Springer GK, Sharp RE, Nguyen HT** (2008) Spatial distribution of transcript changes in the maize primary root elongation zone at low water potential. *BMC Plant Biology* 8:32 doi: 10.1186/1471-2229-8-32

**Subrahmanyam D, Subash N, Haris A, Sikka AK** (2006) Influence of water stress on leaf photosynthetic characteristics in wheat cultivars differing in their susceptibility to drought. *Photosynthetica* 44:125-129

**Tadas P, Agata P, Philip DR, Bernard R, Elsbeth LW** (1999) Identification of senescence-associated genes from daylily petals. *Plant Molecular Biology* 40:237-248

**Taiz L, Zeiger E** (eds.) (2006) *Plant Physiology* – fourth edition, published by Sinauer Associates Inc., Sunderland, MA, USA. (ISBN 0-87893-856-7).

**Tardieu F, Katerji N, Bethenod O, Zhang J, Davies WJ** (1991) Maize stomatal conductance in the field: its relationship with soil water and plant water potentials, mechanical constraints and ABA concentration in the xylem sap. *Plant, Cell and Environment* 14:121-126

**Tatham AS, Drake AF, Shewry PR** (1985) A conformational study of a glutamine- and proline-rich cereal seed protein, C hordein. *Biochemical Journal* 226(2):557–562

**Tietz A, Ludwig M, Dingkuhn M, Dorffling K** (1981) Effects of abscisic acid on the transport of assimilates in barley. *Planta* 152:557-561

**Travaglia C, Cohen, AC., Reinoso H, Castillo C, Bottini R** (2007) Exogenous abscisic acid increases carbohydrate accumulation and redistribution to the grains in wheat grown under field conditions of soil water restriction. *Journal of Plant Growth Regulation* 26:285-289.

**Triboï E, Marte P, Triboï-Blondel A-M** (2003) Environmentally-induced changes in protein composition in developing grains of wheat are related to changes in total protein content. *Journal of Experimental Botany* 54:1731-1742

**Vranova E, Inzé D, Breusegem FV** (2002) Signal transduction during oxidative stress. *Journal of Experimental Botany* 53:1227-1236

**Vysotskaya LB, Korobova AV, Kudoyarova GR** (2008) Abscisic acid accumulation in the roots of nutrient-limited plants: Its impact on the differential growth of roots and shoots. *Journal of Plant Physiology* 165:1274-1279

**Weiler EW, Jourdans PS, Conrad W** (1981) Levels of Indole-3-acetic acid in intact and decapitated coleoptiles as determined by a specific and highly sensitive solid-phase enzyme immunoassay. *Planta* 153:561-571

**Wilén RW, Mandel RM, Pharis RP, Holbrook LA, Moloney MM** (1990) Effects of abscisic acid and high osmoticum on storage protein gene expression in microspore embryos of *Brassica napus*. *Plant Physiology* 94:875-8881

**Xie Z, Jiang D, Cao W, Dai T, Jing Q** (2003) Relationships of endogenous plant hormones to accumulation of grain protein and starch in winter wheat under different post-anthesis soil water statuses. *Plant Growth Regulation* 41:117-127

**Xiong L, Lee H, Ishitani M, Zhu JK** (2002). Regulation of osmotic stress-responsive gene expression by the *LOS6/ABAI* locus in Arabidopsis. *The Journal of Biological Chemistry* 277:8588–8569

**Xu M, Dong J, Zhu M** (2006) Nitric oxide mediates the fungal elicitor-induced puerarin biosynthesis in *Pueraria thomsonii* Benth. suspension cells through a salicylic acid(SA)-dependent and jasmonic acid(JA)-dependent signal pathway. *Science in China Series C: Life Sciences* 49:379-389

**Xu N, Bewley JD** (1995) Embryos of alfalfa (*Medicago sativa* L.) can synthesize storage proteins after the completion of germination, in response to abscisic acid and osmoticum, if maturation drying is prevented. *Planta* 196: 469-476

**Yang J, Zhang J, Huang Z, Zhu Q, Wang L** (2000) Remobilization of carbon reserves is improved by controlled soil-drying during grain filling of wheat *Crop Science* 40:1645-1655

**Yang J, Zhang J, Wang Z, Zhu Q, Wang W** (2001a) Hormonal changes in the grains of rice subjected to water stress during grain filling. *Plant Physiology* 127:315-323

**Yang J, Zhang J, Wang Z, Zhu Q, Liu L** (2001b) Water deficit-induced senescence and its relationship to the remobilization of pre-stored carbon in wheat during grain filling. *Agronomy Journal* 93:196-206

**Yang J, Zhang J, Wang Z, Zhu Q, Liu L** (2002) Abscisic acid and cytokinins in the root exudates and leaves and their relationship to senescence and remobilization of carbon reserves in rice subjected to water stress during grain filling. *Planta* 215:645-652

**Yang J, Zhang J, Wang Z, Zhu Q, Liu L** (2003) Involvement of abscisic acid and cytokinins in the senescence and remobilization of carbon reserves in wheat subjected to water stress during grain filling. *Plant, Cell and Environment* 26:1621-1631

**Yang J, Zhang J** (2005) Grain filling of cereals under soil drying. *New Phytologist* 175:36-50

**Young TE, Gallie DR** (1999) Analysis of programmed cell death in wheat endosperm reveals differences in endosperm development between cereals. *Plant Molecular Biology* 39:915-926

**Zhang J, Davies WJ** (1989) Abscisic acid produced in dehydrating roots may enable the plant to measure the water status of the soil. *Plant, Cell and Environment* 12:73-81

**Zhang F, Wang Y, Yang Y, Wu H, Wang H, Liu J** (2007) Involvement of hydrogen peroxide and nitric oxide in salt resistance in the calluses from *Populus euphratica*. *Plant, Cell and Environment* 30:775-785

**Zlatev ZS, Yordanov IT** (2004) Effects of soil drought on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in bean plants. *Bulgarian Journal of Plant Physiology* 30:3-18

