

Doktori (Ph.D) értekezés tézisei

A lipidek szerepe az ősziárpa fényindukált hidegakklimatizációjában

Kovács Terézia

Témavezetők:

Dr. Galiba Gábor, Dr. Kovács László, Dr. Gombos Zoltán⁺

SZEGEDI BIOLÓGIAI KUTATÓINTÉZET

SZEGEDI BIOLÓGIAI KUTATÓINTÉZET

Növénybiológia Intézet

BIOLÓGIA DOKTORI ISKOLA

SZEGEDI TUDOMÁNY EGYETEM

Természettudományi és Informatikai Kar



Szeged

2022.

Bevezetés

A 2019-évi KSH adatok szerint őszi búzát 954 943 hektáron, tavaszi búzát 16 804 hektáron, a második legfontosabb gabonanövényünket, az őszi árpát, 161 711 hektáron, míg a tavaszi árpát 101 235 hektáron termesztettek. Az adatsor híven tükrözi, hogy a növénytermesztők az őszi gabonaféléket előnyben részesítik a tavasziakkal szemben, magasabb termőképességük, így nagyobb hozamuk miatt. Ezzel a döntéssel természetesen vállalják az átteleléssel járó kockázatot. A táplánszentkereszti kutatóállomáson évek óta tesztelik a Magyarországon termesztett őszi árpa vetésidő kísérletben. Ez alapján a sokéves adatok egyértelműen az október közepi vetést erősítik meg, mint legmegfelelőbbet. Míg az október közepi vetés esetén csak 10% körüli kipusztulási százalék tapasztalható, addig a szeptember és november közepi vetésidőkben 50% fölé ez az arány. A túl korai vetéseknél gyakran jelentkezik víruskártétel is, melyet a megtelepedő vektorok segítenek elő és további kipusztulást eredményezhet (<http://web.archive.org/web/20160807064318/https://www.agronaplo.hu/szakfolyoirat/2006/08/szantofold/oszi-arpa-termesztes-kulcskerdesei>).

Optimálisnak tekintik, ha a kicsírázott növények elérik a háromleveles fejlődési stádiumot a november végi, december eleji fagyok beköszöntéig. Azonban, ha megvizsgáljuk a napi hőmérsékleti fluktuációt is, akkor a meteorológiai adatok alapján azzal szembesülünk, hogy a -4 °C alatti napok száma októberenként az elmúlt húsz évben (1981-2010) tizenhat volt (Kalapos és *mtsai.*, 2016), vagyis ezeknek a növényeknek a szántóföldön át kell vészelnük a fagyos éjszakákat. A genetikailag meghatározott fagyállóságot a gabonanövények több hétig tartó hidegedződés során érik el. Ebben a korai fázisban a csíranövények az edződési folyamat elején tartanak. A Föld mérsékelt égövén a nappalhossz, a hőmérséklet, a napfény erőssége és színképe évszakoktól és napszaktól függően évmilliók óta ciklikusan változik. Feltételezhető tehát, hogy a növények érzékelik ezeket a változásokat és evolúciós besorolásuktól függetlenül hasonló módon reagálnak rá. Nappal például a vörös/távolivörös (R/FR) fény aránya állandó és független a felhők jelenlététől, azonban alkonyatkor szignifikánsan csökken, amikor a Nap a horizont felett kevesebb, mint 10 ° -on látható. A beeső fény színképében a távolivörös fény aránya megemelkedik, ahogy távolodunk az egyenlítőtől. Ez elsősorban a Föld északi féltekéjének mérsékelt és boreális (szubarktikus) égővein figyelhető meg. Novembertől alacsonyan jár a nap, és jellemzően alkonyatkor hosszú ideig tart a napfény színképének R/FR fény arányának csökkenése, amit pedig éjjel fagy követhet. Emiatt megalapozottnak tűnik az a hipotézis, hogy a növények a fény R/FR arányának csökkenését egyfajta jelként használhatják, ami beindítja a hidegakklimatizációs folyamatokat viszonylag magas, még nem hidegakklimatizációs hőmérsékleten, melynek eredménye a megnövekedett fagyállóság lesz. Ezt a hipotézist először lúdfű modellnövényben Franklin és Whitelam igazolta kísérletes módon 2007-ben (Franklin és Whitelam, 2007). Később a martonvásári kollégák őszi gabonaféléken is megerősítették (Novak és *mtsai.*, 2016), ugyanis mesterséges körülmények között $+15\text{ °C}$ -on az őszi gabonák (búza és árpa) fagyállóságát sikerült a megvilágításra használt fehér fény színképében a R/FR fény arányának csökkentésével növelni. Azt is igazolták, hogy ez a szabályozás a phy A és B fényreceptorokhoz kötött.

Leírták azt is, hogy a kék fény hatást gyakorol a kriptokróm jelátviteli úton keresztül a hideg rezisztencia kialakulására lúdfűben (Imai és *mtsai.*, 2021a, b). Kollégáim korábbi

kutatásai alapján tisztázódott, hogy a monokromatikus kék fény indukálja a fagyállóságban szerepet játszó *C-repeat binding factor 14 (CBF14)* gén expresszióját gabonafélékben (Novak és mtsai., 2017). Korábbi kutatások alapján ismert, hogy a hidegkezelés változásokat indukál a lipid-összetételben (Chao és mtsai., 2011; Chen és mtsai., 2012; Chen és mtsai., 2008; Falcone és mtsai., 2004; Markham és mtsai., 2011; Saucedo-Garcia és mtsai., 2011; Wang és mtsai., 2008). Azonban az a kérdés megválaszolatlanul maradt, hogy milyen metabolomikai változásokat indukál a fehér fény színekének távolivörössel történő kiegészítése a növények leveleiben, melyek eredményeként nő a fagyűrés. Az sem volt ismert, hogy a kék fényvel történő kiegészítés befolyásolja-e a távolivörös fénykezelés hatását. Ezekre a kérdésekre kerestünk választ kutatásaink során.

Célkitűzések

Közismert, hogy a hidegedződés során változik a sejtmembrán lipidösszetétele, ezáltal csökken a viszkozitása, ami akadályozza a fagy okozta membránkárosodást. A PhD. dolgozatban részletezett kísérletek beállításakor azonban semmilyen információ nem állt rendelkezésre arról, hogy milyen lipidomikai változást okoz a növények megvilágítására használt fehér fény távolivörös fényvel, illetve kék fényvel való kiegészítése. Ezért az itt leírt kísérletek célja a hideg, illetve a modulált spektrum hatására bekövetkező membránlipid változások összehasonlítása volt.

A következő kérdésekre és feltevésekre kerestünk választ:

1. A fehér fény távolivörös és kék fényvel kombinált kiegészítése miként befolyásolja az árpa levelek fagyűrését különböző hőmérsékleteken?
2. A lipidek bioszintézisét meghatározó „kulcsgének” génexpressziós mintázatainak kiderítése megemelt arányú távolivörös megvilágítás mellett.
3. Az alkalmazott mesterséges LED-es fényforrások által létrehozott alacsony vörös/távolivörös, továbbá a kombinált távolivörös + kék fény miként befolyásolja az árpa levelek lipid-összetételét normál (15 °C) és alacsony (5 °C) hőmérsékleten?

Anyagok és módszerek

Az általunk kiválasztott modellnövény a *Hordeum vulgare* ssp. *vulgare* őszi árpa fajta „Nure” volt. Három nappal a sötétben csíráztatás (21 °C) után 480 magot ültettünk el 36 mm átmérőjű Jiffy-7 tápkorongokba (Jiffy Group, Oslo, Norvégia). Ezek után a csíranövényeket PGV-36 (Conviroon PGV36, Controlled Environments Ltd., Winnipeg, MB, Canada) fitotronkamrában neveltük tovább, ahol a fényt modulálható mennyezeti LED megvilágítás szolgáltatta, 12 órás fotoperiódussal. A növényeket tizennégy napig fehér fényvel világítottuk meg (Philips Lumileds, LXZ2-5790). A fény intenzitás $250 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (PAR) volt, a hőmérséklet 15 °C. A növényeket ½ Hoagland-tápoldattal öntöztük (Hoagland és Arnon, 1938).

Amikor a növények elérték a háromleveles stádiumot, 13 a Zadok skálán (Zadoks és mtsai., 1974), elkezdtük a kezeléseket. A kísérlet kezeléseit tekintve két eltérő hőmérsékletet (5 és 15 °C) alkalmaztunk. Négy különböző spektrális összetételű fényt alkalmaztunk: kontrol fehér fényt (WL), melyet a növénynevelés során is használtunk, a fehér fényt távolivörös fényvel kiegészítve (WLFR) (a távoli vörös fényforrás: Edison Edixeon, 2ER101FX00000001),

a WLFR változatot kék fényel kiegészítve (a kék fényforrás: P-Tech, PLBT-3535-DP UV) és monokromatikus kék fényt (410 nm) alkalmaztunk. A modulálható LED fénypanelt négy elkülöníthető részre osztottuk, az eltérő fénykezelésekhez. A megvilágítás erőssége $250 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ fotonfluxus-sűrűségű, a R/FR arány $\sim 0,5$ míg a kék/vörös arány $\sim 1,8$ volt minden esetben. A hőmérséklet változatlan maradt a fénykezelések során. Ezzel a beállítással az október és november hónapok átlag hőmérsékletét imitáltuk (15°C). A kezelés második szakaszában viszont ugyanezen fényviszonyok mellett, monokromatikus kék megvilágítás nélkül, hidegkezelést alkalmaztunk (5°C).

A kezelések után meghatároztuk a levél szegmensek fagyállóságát konduktancia méréssel (Webb és *mtsai.*, 1994). A levélmintákat egy folyadékos Grant GP-200-R4 fagyasztókészülékben (Grant Instruments, Sepreth, UK) fagyasztottuk meg. A fagyasztási hőmérséklet a 15°C -on nevelt növények esetében, -5 , -7 , és -9°C volt. Azok esetében, amelyek egy hétig 5°C -on voltak tartva -8 , -10 és -12°C fagyasztási hőmérsékleteket alkalmaztunk egy órán keresztül.

A különböző fénykezelések hatásosságát az árpa levelek fagyállóságára a klorofill-a fluoreszcencia értékének mérésével is meghatároztuk 0, 2 és 24 óra után a következő fagyasztási protokoll végrehajtását követően: 9 h 2°C , 1 h 0°C , 4 h -2°C , 1 h -3°C , 1 h -4°C , 1 h -5°C , 5 h -6°C , 1 h -5°C , 1 h -3°C , 1 h 0°C . A klorofill-a fluoreszcencia tranziensét és abból a PSII maximális (F_v/F_m) és aktuális hatásfokát ($Y(\text{II})$) impulzus amplitúdó modulált PAM-2000 fluorométer (Heinz Walz GmbH, Effeltrich, Németország) segítségével mértük meg.

Az irodalomból jól ismert, hogy a membrán lipidösszetétele az élőlények hideg edződése során változik, valamint a lipid bioszintézis a CBF géncsalád szabályzása alatt is áll. A totállipid-extraktumot a begyűjtött és lefagyasztott árpalevelekből Welti és *mtsai.* 2002 által leírt módszer szerint vontuk ki. A lipidextrakcióhoz a leveleket három növényből külön-külön gyűjtöttük össze és -80°C -on tároltuk feldolgozásig. A száraz súlyokat analitikai mérleggel határoztuk meg.

Az összlipid-kivonat tömegspektrometriás elemzését MS-alapú módszerrel végeztük és a Kansas Lipidomics Kutatóközpont elemző laboratóriumában hajtották végre (https://www.kstate.edu/lipid/analytical_laboratory/lipid_profiling/index.html).

ESI-MS/MS lipidprofil meghatározása során automatizált elektropray ionizációs-tandem tömegspektrometriás eljárást alkalmaztak. Az adatgyűjtést, az elemzést és az acilcsoport-azonosítást a leírtak szerint hajtották végre (Xiao és *mtsai.*, 2010). A belső standardok pontos mennyiségét a korábban leírtak szerint számszerűsítették (Welti és *mtsai.*, 2002).

A lipidkivonatokat folyamatos injektálással vezették be az ESI-forrásba triple quadrupole MS/MS-en (API4000, ABSciex, Framingham, MA, USA). Az adatfeldolgozást a Kansas Lipidomics Kutatóközpont honlapján ismertették:

https://www.k-state.edu/lipid/analytical_laboratory/lipid_profiling/index.html.

A különböző molekulafajtákat az adott fejcsoport-fragmentum és a tömegük alapján azonosították. A mennyiségeket mol%-ra számították ki. A mintában szereplő csúcsok és a

belső standardok csúcsainak összehasonlításához átlag értéket alkalmaztak. 1 jel egység megegyezik 1 nmol belső standarddal ugyanabból a lipidcsoportból (általában a variancia korrekciójával m/z alapján) (https://www.ktate.edu/lipid/analytical_laboratory/protocols_and_methodology/lipid_extraction_arabidopsis_leaves/index.html). A termékionletapogatás felhasználható a képződött fejcsoport vagy más fragmensek meghatározására, valamint a zsírsav-csoportok azonosítására, különösen a poláris lipid fajták esetében.

Az egyes lipid molekulák telítetlenségi indexét a következő képlet szerint határoztuk meg: $DBI = [\sum (\text{a normalizált jelintenzitás \% / lipid fajta száraz tömege} \times \text{kettős kötések száma})] / 100$ (Falcone és mtsai., 2004).

A génexpressziós vizsgálatokat a következő protokoll szerint végeztük. A begyűjtött levélmintákból össz RNS-t izoláltunk a Direct-zol™ RNA MiniPrep készlet segítségével (Zymo Research Corp., Irvine, CA, USA) a gyártó által meghatározott protokoll szerint. Ezt követően cDNS könyvtárakat készítettünk Moloney Murine Leukemia Virus (M-MLV) reverz transzkriptáz és oligo (dT) primerek felhasználásával (Promega Corporation, Madison, WI, USA). A relatív expressziós szinteket a KAPA SYBR® FAST, Master Mix (2X), Universal qPCR kit (Kapa Biosystems, Inc., Wilmington, MA, USA), CFX96 Touch™ valós idejű PCR detektáló rendszer (Bio-Rad Hungary Ltd., Budapest, Magyarország) alkalmazásával határoztuk meg. A PCR primerek az NCBI-Primer Design Tool (Országos Biotechnológiai Információs Központ, Bethesda, MD, USA) szoftver felhasználásával terveztük meg. A relatív expressziós szinteket $\Delta\Delta C_t$ módszerrel számoltuk ki, ahol referenciagénként ciklophilint használtunk (Livak és Schmittgen, 2001). Az adatok kiértékelése után elsősorban a lipid anyagcserében résztvevő főbb enzimek génjeire összpontosítottunk.

A bemutatott eredmények minden esetben legalább három független kísérlet méréseiből számolt átlagok, szórásként pedig az átlaghibát tüntettük fel. A statisztikai elemzést egy-utas ANOVA és Dunnett post-hoc teszttel végeztük el, a 15 °C-on nevelt fehér fényen nevelt egy napos mintákat használva kontrollként. Egyes esetekben t-tesztet alkalmaztunk.

Összefoglalás

A növények genetikailag meghatározott fagyűrésének kialakulásához egy hosszú akklimatizációs folyamat szükséges (hidegedződés), melyet döntően a külső hőmérséklet és a fényviszonyok határoznak meg. A növények hideghez történő alkalmazkodása során dinamikusan változik sejtjeik membránjainak lipid-összetétele. Választ kerestünk arra a kérdésre, hogy a fehér fény távolivörössel és kék fényel kombinált kiegészítése miként befolyásolja az árpa levelek membránlipid-összetételét különböző hőmérsékleteken. Ezen a kérdés körön belül első sorban az árpa levelek lipid bioszintézisben résztvevő főbb gének expressziós mintázatát, lipid-összetételét és a lipidek zsírsavláncainak kettős kötés tartalmát vizsgáltuk.

Eredményeink alapján a következő megállapításokat vonhatjuk le:

- 1. A fagyűrés meghatározására alkalmazott vezetőképességen alapuló módszer és a klorofill fluoreszcencia vizsgálatok alapján elmondhatjuk, hogy a hozzáadott távolivörös és kék fény növeli az árpa fagyűrő képességét. A kék fénykiegészítés 15 °C-on elősegíti a membránok integritásának megőrzését. A lipid metabolizmust képes befolyásolni a kék és a távolivörös*

fény, mely szignálként szolgál.

2. *A távolivörös fény hatást gyakorol a lipid metabolizmus néhány meghatározó génjének az expressziójára.* Esetünkben a távolivörös megvilágítás többszörösére növelte a *DGDI* expresszióját 15 °C-on függetlenül a megvilágítás hosszától. Alacsony hőmérsékleten (5 °C) a távolivörös fény kevésbé hatott, sőt az egy napos kezelés még gátolta is e gének expresszióját. Azonban, az *MGDG* és a *DGDG* mennyisége nem korrelált az *MGD2* és a *DGDI* gének kifejeződésével, mivel össz mennyiségüket nem befolyásolta a távolivörös fénykezelés.

Az *NC* gén expressziója a *DGDI* expressziójával parallel változott. Ez a változás igazolja, hogy a ceramidok, mint jelátviteli lipidek fontos szerepet játszhatnak a hidegakklímáció fényregulációjában.

A megemelt arányú távolivörös kezelés átmenetileg csökkentette a *PLD α 3* expresszióját egy napnyi 5 °C-os kezelés után. Azonban, ez a pozitív hatás egy hét elteltével elmúlt. Bár a génexpresszió még mindig alacsonyabb volt a 15 °C-on tartott kontroll mintákhoz képest, de magasabb, mint a fehér fényel megvilágított 5 °C-on nevelt kontroll mintáké. Ez a jelenség arra utal, hogy a távolivörös kiegészítés ebben a tekintetben ellentétesen hat a hidegkezeléshez viszonyítva.

A *LOC* relatív expressziója a megemelt arányú távolivörös megvilágítás szabályozása alatt állhat hőmérsékletfüggő módon, mivel 5 °C-on a *LOC* mRNS expressziója lecsökkent a távolivörös kiegészítő fény alkalmazása során. Ebből levonható az a következtetés, hogy a megemelt arányú távolivörös megvilágítás hatására a növény lipidbontó folyamatai gátlódnak. Feltételezhető, hogy e módon a távolivörös fény hozzájárul a fagyűrés növeléséhez.

3. *A „Nure” őszi árpa levél membránjainak összlipid tartalma változott különböző spektrális összetételű megvilágítás hatására.* Valószínűsíthető, hogy a távolivörös fény és a kék fény kiegészítés által indukált *MGDG* koncentráció növekedés a kloroplasztisz membránban hozzájárulhatott az árpa levelek fagyűrésének növekedéséhez.

Feltételezzük, hogy a fénykezelések által indukált átmenetileg magasabb PG-tartalom elősegíthette a tilakoidmembrán megfelelő működését 5 °C-on.

Esetünkben a PC mennyisége hőmérséklettől függetlenül szignifikánsan emelkedett kék fénykezelés hatására, míg a távolivörös fény nem hatott rá.

Kísérleteink során a hozzáadott távolivörös kezelés hatására a PA szint nem változott, viszont a távolivörössel kombinált kék fény és a monokromatikus kék hatására lecsökkent. Ez a tendencia független volt a hőkezeléstől. A PA mennyisége a több lipid családkhoz hasonlóan jelentősen változott a kezelések hatására, mely összefügghet azzal, hogy a PA a lipidszintézis egyik legfontosabb prekursora.

4. *A különböző spektrális összetételű megvilágítás hatást gyakorol a membrán DGDG/MGDG arányára.* Kísérleti eredményeink szerint a fénykezelésre a *DGDG/MGDG* arány csökkent, ennek pedig nem volt negatív hatása az árpa levelek membrán stabilitására. A kék fény megvilágítás erőteljesebben csökkentette ezt az arányt, mint a távolivörös kiegészítés és ez a változás lényegesen hozzájárulhatott a fagyűrés növekedéséhez.

5. *A sejtmembránt alkotó foszfolipidek mennyisége különböző spektrális összetételű megvilágítás hatására változik.* A foszfolipidek mennyisége kis mértékben megemelkedett

a nagyobb arányú távolivörös megvilágítás hatására, ez pedig javíthatja a hidegtűrést. *A távoli vörös kiegészítés alkalmazása során mind a PC, mind a PE mennyisége megemelkedik, de PC/PE arány nem változik. Ugyanakkor a távolivörössel kombinált kék fénykezelés hatására a PC és a PE mennyisége ellentétes irányba változik, a PC/PE arány növekedését eredményezve.* Ez a változás nagy valószínűséggel az egyik lényeges oka annak, hogy a kék fény hozzáadva a fehér + távolivörös fény kombinációhoz, tovább növeli a fagyállóságot. A PC köztudottan alkotó eleme a kettős-lipidmembránnak míg a PE nem. A PC/PE arány növekedése stabilizálhatja a membránt stressz körülmények között.

6. *A membránt alkotó lipidek zsírsavláncainak kettőskötés-tartalmára is hatást gyakorolt a különböző spektrális összetételű megvilágítás.* Korábbi megállapítások szerint a PE lipid család telítettségének változása együtt jár a gabonák fagyűrő képességének emelkedésével. Eredményeink összecsengenek ezzel az állítással. Valamint a megemelt arányú távolivörös, a távolivörössel kombinált kék és a monokromatikus kék fény a PE fajták változtatásával már 15 °C-on megemelte a „Nure” fagyűrő őszi árpa hidegakklimatizációs szintjét. *A kettőskötések számának növekedése következtében természetesen a membránlipidek kettős kötés indexének értéke is nőtt a különböző spektrális összetételű megvilágítás hatására.* Már 15 °C-on is megemelkedett a vizsgált őszi árpa levelek össz kettős kötés indexe hozzáadott fény kiegészítés hatására.

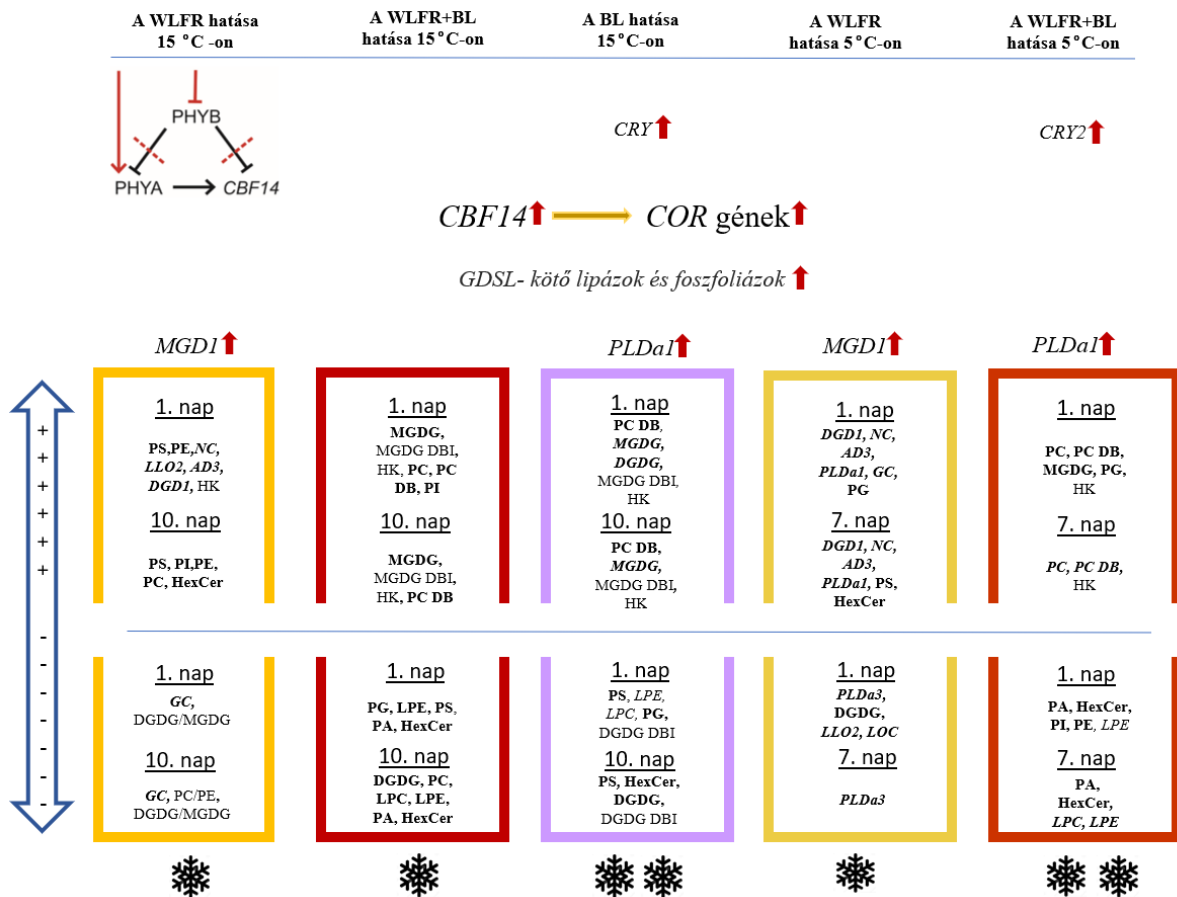
Kiemelendő a PG kettős kötés indexének emelkedése, kék fény hatására, mely elősegítheti a tilakoid membránban helyet foglaló fotoszintetikus elektrontranszportláncot alkotó fehérjekomplexek kiegyensúlyozott működését.

7. *Bizonyos esetekben a membránt alkotó lipid fajták változása következett be, valamint a rövidebb lipidláncok mennyisége és azok telítettsége megnőtt különböző spektrális összetételű megvilágítás hatására.* Az eredményeink alapján a különböző spektrumú hozzáadott fény-és hőmérsékletkezelés hatására jellemzően a legnagyobb mennyiségben előforduló lipid fajták szintje emelkedett meg a kloroplasztiszra jellemző lipid családokban, mint a 36:6, 36:5, 36:4, 36:2, 34:3 és 34:1. Ezek a változások elősegítik a kloroplasztisz lipidmembránok fluiditásának növelését.

8. *A kék monokromatikus megvilágítás, illetve a távolivörös fénykezeléssel kombinált kék fénykiegészítés hatására a vizsgált levelek lizol tartalma csökkent.* Ez az alkalmazott fénykezelés által indukált összlipid mennyiség megemelkedésével, valamint az átépítő folyamatok serkentésével magyarázható.

9. *A levelek HexCer tartalmának változását detektáltuk különböző spektrális összetételű megvilágítás mellett.* Egyes HexCer fajták jelentősen megemelkedtek a fehér fényt kiegészítő távolivörös fény alkalmazása során. Ezeknek a csoportoknak szerepük lehet a jelátvitelben.

A fent leírt eredmények alapján elmondhatjuk, hogy a fényösszetétel által indukált fagytolerancia fontos része az előedzési folyamatoknak. Összeségében elmondható, hogy a hideg kezelés által indukált lipidóm változása jól korrelál a hidegakklimatizációval és a megvilágítás összetétele hatást gyakorol a fagytolerancia kialakulására. Megfigyeléseinket a 1. ábrán foglaltuk össze.



1. ábra A hidegkezelésre és a különböző megvilágítások hatásának összesítése. A mintákat megvilágítottuk távolivörössel kiegészített fehér fényvel (WLFR), kombinált távolivörös + kék fényvel (WLFR+BL), valamint monokromatikus kék fényvel (BL, 410 nm, csak 15 °C-on). A fénykezelés mellett két fajta nevelési hőmérsékletet (5 és 15 °C) alkalmaztunk. A mintákat a kezelés első (1. nap) és utolsó napján vettük le, amely a 15 °C esetében tíz nap (10. nap) volt, míg az 5 °C esetében hét (7. nap). A levélmintákat minden esetben a harmadik levél szint középső részéből metszettük ki. Az eredményeket az ábrákon a kezelések szerint csoportosítottuk, valamint az értékek változása, a génexpresszió, a lipid családok és a kalkulált értékek szerint. Minden kezelés alatt bemutatjuk az eddig felderített ismereteket. Úgy mint, hogy a megemelt arányú távolivörös fény kiegészítés gátolja a PHYB átíródását, ez által a PHYA átíródása felszabadul a gátlás alól és serkenti a CBF14 géncsalád átíródását. A 410 nm-es megvilágítás mind 15 mind 5 °C-on aktiválja a CRY-t. A CBF14 aktiválása elindítja a COR génekét is, ez a folyamat hatást gyakorol a GDSL-kötő lipázok és foszfolipázok aktivitására. Továbbá ismert, hogy a távolivörös fény hatására az MGD1 enzim mennyisége megemelkedik hőmérséklettől függetlenül. Kék fény hatására a PLDα1 enzim mennyisége emelkedik meg szintén hőmérséklettől függetlenül. A statisztikai elemzést egyutas ANOVA és Dunnett post-hoc tesztel végeztük a fehér fényvel megvilágított (WL) mintákat használva kontrollként. A statisztikai próbát 3-9 független biológiai ismétlésen végeztük el. Az ábrán azok a paraméterek találhatóak meg, melyek legalább 0,1 szignifikanciaértékkel térnek el a kontroll (WL) mintáktól.

Rövidítések: alkalin ceramidáz 1 (ACER1); alkohol dehidrogenáz 3 (AD3); NADPH-függő aldehid reductáz kötő protein, kloroplasztisz (ARL); digalaktoszildiacil glicerín szintáz 1 (DGD); digalaktoszil diacilglicerín (DGDG); nem-lizoszomális glükoszilceramidáz (GC); ceramid (HexCer); a tilakoid membránt alkotó lipidek hosszának és kettőskötés számának a megoszlása (HK); linolát 9S-lipoxigenáz 2 (LLO 2); lipoxigenáz 2.3, kloroplaszt (LOC); monogalaktoszil diacilglicerín szintáz 2 (MGD2); monogalaktoszil-diacil-glicerín (MGDG); mono-galaktoszil-diacil-glicerín/ di-galaktoszil-diacil-glicerín arány (MGDG/ DGDG); neutrális ceramidáz (NC); foszfatidil-kolin (PC); foszfatidil-kolin/ foszfatidil-etanolamin arány (PC/ PE); foszfatidil-etanolamin (PE); foszfatidil-glicerín (PG); foszfatidil-inozitol (PI); foszfolipáz-D-alfa 1 (PLDα1); foszfolipáz-D alfa 2 (PLDα2); foszfolipáz-D alfa 3 (PLDα3); foszfatidil-szerin (PS)

Köszönetnyilvánítás

A kutatásunkat támogatta: a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal NKFIH [K124922, K128575 és PD128280], a Magyar Állami Támogatás [támogatási szám: GINOP – 2.3.2 – 15 – 2016 – 00001] és az EFOP – 3.6.3 – VEKOP – 16 – 2017 – 00008. A projektet az Európai Unió és az Európai Szociális Alap társ finanszírozta. A közölt lipid analízist a következő helyen végeztük: Kansas Lipidomics Research Center Analytical Laboratory. A műszer megszerzését és a lipidomikai módszer fejlesztését a Nemzeti Tudományos Alapítvány támogatta (EPS 0236913, MCB 1413036, MCB 0920663, DBI 0521587, DBI1228622), Technology Enterprise Corporation, az orvosi biológiai kutatás kiválóságának K – IDEa hálózata (INBRE) Nemzeti Egészségügyi Intézet (P20GM103418) and Kansas State Egyetem.

Publikációs lista

MTMT azonosító: 10073240

A doktori eljárás alapját képező közlemény:

Kovács T, Ahres M, Pálmai T, Kovács L, Uemura M, Crosatti C, Galiba G. (2020) Decreased R:FR Ratio in Incident White Light Affects the Composition of Barley Leaf Lipidome and Freezing Tolerance in a Temperature – Dependent Manner – Int. J. Mol. Sci., Issue 21, Vol. 7557, DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21207557>

IF: 5,92

Referált folyóiratban megjelent közlemények:

The effect of white light supplemented with decreased red/far red light ratio on the lipid composition and frost tolerance of barley leaves, (2021), MNBT, ISBN 978 – 615 – 01 – 2350 – 9

Kovacs T, Szalontai B, Kłodawska K, Vladkova R, Malec P, Gombos Z, Laczko – Dobos H. (2019) Photosystem I oligomerization affects lipid composition in *Synechocystis* sp. PCC 6803. BBA – Molecular and Cell Biology of Lipids, Vol. 1864, Issue 10, Pages 1384 – 1395, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2019.06.013>

IF: 4,52

Sindhuja V, Laczkó – Dobos H, Petrova N, Herman É, Kovács T, Zakar T, Todinova S, Taneva S, Kovács L, Gombos Z, Tóth T and Krumova S. (2020) Phycobilisome integrity and functionality in lipid unsaturation and xanthophyll mutants in *Synechocystis*. Photosynthesis Research, Vol. 145, Pages 179–188, DOI: 10.1007/s11120 – 020 – 00776 – 170 – 5

IF: 3,57

Összesített IF: 14,016

A doktori disszertációhoz kapcsolódó konferencia közlemények, előadások:

How the membrane lipid composition changes on the effect of distant red and white light as well as cold stress, (2019), International Symposium on Plant Photobiology

Increased far – red light ratio in white light and temperature dependent changes in the

composition of membrane lipids, (2019), Plant Biology CS

Increased proportion of far – red in the incident white light modifies membrane lipid composition by temperature dependent manner in winter barley, (2019), CBB5 – Budapest

The effect of white light supplemented with decreased red/far red light ratio on the lipid composition and frost tolerance of barley leaves, (2021), MNBT, ISBN 978 – 615 – 01 – 2350

A lipidek szerepe az ősziárpa fényindukált hidegakklimatizációjában, (2022), THHEM, ISBN 978 – 615 – 82054 – 3 – 6

Egyéb közlemények, poszterek, előadások és konferencia közlemények:

The structural roles of carotenoids and lipids in cyanobacterial photosynthetic complexes characterized by CD spectroscopy, (2018), Straub Napok

The structural roles of carotenoids and lipids in cyanobacterial photosynthetic complexes characterized by CD spectroscopy, (2018), FECPR, ePS – 1

Red – light and cold stress – induced changes in the composition of membrane lipids, (2019), Straub Napok

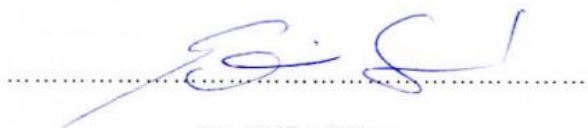
A *synechocystis* sp. PCC6803 cytb/6f komplexénekének PetD fehérjéjének az állapot átmenetekben betöltött szerepének feltérképezése, (2020), XXIII. Tavasz Szél Konferencia

A lipidek szerepe az ősziárpa fényindukált hidegakklimatizációjában, (2022), THHEM, ISBN 978-615-82054-3-6

Nyilatkozat

Mint az alábbi közlemények felelős szerzője igazolom, hogy **Kovács Terézia** Ph.D jelölt jelentős mértékben hozzájárult az alábbi tudományos publikáció létrehozásához és tézisben közölt eredményeit más Ph.D. értekezésben nem használjuk fel.

Kovács T., Ahres M, Pálmai T, Kovács L, Uemura M, Crosatti C, Galiba G. (2020) Decreased R:FR Ratio in Incident White Light Affects the Composition of Barley Leaf Lipidome and Freezing Tolerance in a Temperature – Dependent Manner – Int. J. Mol. Sci., Issue 21, Vol. 7557, DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21207557>



Dr. Galiba Gábor

Agrártudományi Kutatóközpont, Mezőgazdasági Intézet

ELKH

Hivatkozás

- Chao DY, Gable K, Chen M, Baxter I, Dietrich CR, Cahoon EB, Guerinot ML, Lahner B, Lu S, Markham JE, Morrissey J, Han G, Gupta SD, Harmon JM, Jaworski JG, Dunn TM, Salt DE.** 2011. Sphingolipids in the root play an important role in regulating the leaf ionome in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell* **23**, 1061-1081.
- Chen M, Markham JE, Cahoon EB.** 2012. Sphingolipid Delta8 unsaturation is important for glucosylceramide biosynthesis and low-temperature performance in *Arabidopsis*. *Plant J* **69**, 769-781.
- Chen M, Markham JE, Dietrich CR, Jaworski JG, Cahoon EB.** 2008. Sphingolipid long-chain base hydroxylation is important for growth and regulation of sphingolipid content and composition in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **20**, 1862-1878.
- Falcone DL, Ogas JP, Somerville CR.** 2004. Regulation of membrane fatty acid composition by temperature in mutants of *Arabidopsis* with alterations in membrane lipid composition. *BMC Plant Biol* **4**, 17.
- Hoagland DR, Arnon DI.** 1938. The water-culture method for growing plants without soil / THE WATER-CULTURE METHOD FOR GROWING PLANTS WITHOUT SOIL Professor of Plant Nutrition and Chemist in the Experiment Station. 2 Instructor in Truck Crops and Junior Plant Physiologist in the Experiment Station. Smithsonian Institution Annual Report, 1884-1949.
- Imai H, Kawamura Y, Nagatani A, Uemura M.** 2021a. Effects of the blue light-cryptochrome system on the early process of cold acclimation of *Arabidopsis thaliana*. *Environmental and Experimental Botany* **183**.
- Imai H, Kawamura Y, Nagatani A, Uemura M.** 2021b. Effects of the blue light-cryptochrome system on the early process of cold acclimation of *Arabidopsis thaliana*. *Environmental and Experimental Botany*.
- Kalapos B, Dobrev P, Nagy T, Vitamvas P, Gyorgyey J, Kocsy G, Marincs F, Galiba G.** 2016. Transcript and hormone analyses reveal the involvement of ABA-signalling, hormone crosstalk and genotype-specific biological processes in cold-shock response in wheat. *Plant Sci* **253**, 86-97.
- Livak KJ, Schmittgen TD.** 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C(T)}$ Method. *Methods* **25**, 402-408.
- Markham JE, Molino D, Gissot L, Bellec Y, Hematy K, Marion J, Belcram K, Palauqui JC, Satiat-Jeunemaitre B, Faure JD.** 2011. Sphingolipids containing very-long-chain fatty acids define a secretory pathway for specific polar plasma membrane protein targeting in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **23**, 2362-2378.
- Novak A, Boldizsar A, Adam E, Kozma-Bognar L, Majlath I, Baga M, Toth B, Chibbar R, Galiba G.** 2016. Light-quality and temperature-dependent CBF14 gene expression modulates freezing tolerance in cereals. *J Exp Bot* **67**, 1285-1295.
- Novak A, Boldizsar A, Gierczik K, Vagujfalvi A, Adam E, Kozma-Bognar L, Galiba G.** 2017. Light and Temperature Signalling at the Level of CBF14 Gene Expression in Wheat and Barley. *Plant Mol Biol Report* **35**, 399-408.
- Saucedo-Garcia M, Gonzalez-Solis A, Rodriguez-Mejia P, Olivera-Flores Tde J, Vazquez-Santana S, Cahoon EB, Gavilanes-Ruiz M.** 2011. Reactive oxygen species as transducers of sphinganine-mediated cell death pathway. *Plant Signal Behav* **6**, 1616-1619.
- Wang W, Yang X, Tangchaiburana S, Ndeh R, Markham JE, Tsegaye Y, Dunn TM, Wang GL, Bellizzi M, Parsons JF, Morrissey D, Bravo JE, Lynch DV, Xiao S.** 2008. An inositolphosphorylceramide synthase is involved in regulation of plant programmed cell death associated with defense in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **20**, 3163-3179.

- Webb MS, Uemura M, Steponkus PL.** 1994. A Comparison of Freezing Injury in Oat and Rye: Two Cereals at the Extremes of Freezing Tolerance. *Plant Physiol* **104**, 467-478.
- Welti R, Li W, Li M, Sang Y, Biesiada H, Zhou HE, Rajashekar CB, Williams TD, Wang X.** 2002. Profiling membrane lipids in plant stress responses. Role of phospholipase D alpha in freezing-induced lipid changes in Arabidopsis. *J Biol Chem* **277**, 31994-32002.
- Xiao S, Gao W, Chen QF, Chan SW, Zheng SX, Ma J, Wang M, Welti R, Chye ML.** 2010. Overexpression of Arabidopsis acyl-CoA binding protein ACBP3 promotes starvation-induced and age-dependent leaf senescence. *Plant Cell* **22**, 1463-1482.
- Zadoks JC, Chang TT, Konzak CF.** 1974. A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Res* **14**, 415-421.