

A szárazságstressz hatása a búza gametogenezisére, fertilitására és korai szemfejlődésére

Doktori értekezés

Fábián Attila László

Eötvös Loránd Tudományegyetem

Biológia Doktori Iskola

Vezető: Dr. Erdei Anna

Kísérletes Növénybiológia Doktori Program

Vezető: Dr. Szigeti Zoltán

Témavezető:

Jäger Katalin Ph.D.

tudományos főmunkatárs

Magyar Tudományos Akadémia Agrártudományi Kutatóközpont

Mezőgazdasági Intézet

Növényi Sejtbiológia Osztály

Martonvásár

2012

Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke	4
1. Bevezetés	6
2. Irodalmi áttekintés	7
2.1. A búza ivaros folyamatai.....	7
2.1.1. A hím- és női gametofiton fejlődése	7
2.1.1.1. A hím gametofiton fejlődése	8
2.1.1.2. A női gametofiton fejlődése	8
2.1.2. A termő felépítése és a megtermékenyítés folyamata	9
2.1.3. Az embrió fejlődése.....	9
2.1.4. Az endospermium fejlődése	10
2.1.5. A szemtermés érése során lezajló további változások.....	13
2.2. A szemfejlődéssel kapcsolatos anyagcsere folyamatok áttekintése.....	13
2.2.1. A termelő és fogyasztó szervek közötti kapcsolatok	13
2.2.2. A transzportált szacharózt hasító enzimek jellemzése, szerepe a növényekben ...	14
2.3. A szárazság hatásai, tolerancia stratégiák	16
2.3.1. Stressz, stresszreakció, stresszorok	16
2.3.2. A szárazságstressz általános hatásai	18
2.3.3. A szárazság fotoszintetikus folyamatokra gyakorolt hatásai	21
2.3.4. A szárazság fenofázistól függő hatásai az ivaros folyamatokra	23
2.3.5. Szárazságtűrési stratégiák	24
3. Célkitűzés	26
4. Anyagok és módszerek	26
4.1. Növényanyag és a növénynevelés körülményei.....	27
4.2. Stresszkörülmények	28
4.3. A víztartalom meghatározása	29
4.4. Szövetteni vizsgálatok.....	29
4.5. Sztereológiai analízis.....	30
4.6. Pásztázó elektronmikroszkópia	31
4.7. A fotoszintetikus folyamatok vizsgálata	31
4.8. Kolorimetriás enzimaktivitás mérés.....	32
4.9. Az enzimaktivitások <i>in situ</i> szöveti lokalizációja	33
4.10. Ozmotikus adaptáció meghatározása	35
4.11. A termésелеmek meghatározása	36
4.12. A csírázó képesség vizsgálata	36
4.13. Statisztikai analízis.....	36
5. Eredmények	37
5.1. A szárazság hatása a vegetatív szövetekre és a termésre	37
5.2. Szövetteni vizsgálatok.....	42
5.2.1. A gametogenezisre gyakorolt hatások.....	42
5.2.1.1. A pollenfejlődésben bekövetkezett változások	42
5.2.1.2. A petekészülék fejlődése.....	42
5.2.2. Az embrió fejlődésére gyakorolt hatások.....	44
5.2.3. Az endospermium fejlődését érintő változások	45
5.2.4. Az embriót és az endospermiumot körülvevő sejtrégek változásai.....	46
5.3. Sztereológiai analízis.....	48

5.3.1. A korai szemfejlődés idején alkalmazott stressz endospermium sejtszámra gyakorolt hatása.....	48
5.3.2. A korai szemfejlődés idején alkalmazott stressz keményítő felhalmozódásra gyakorolt hatása.....	48
5.3.3. A korai szemfejlődés idején alkalmazott stressz fehérje felhalmozódásra gyakorolt hatása.....	50
5.4. A szárazság hatása a fotoszintetikus folyamatokra	50
5.4.1. A sztómakonduktancia (g_s)	50
5.4.2. A nettó fotoszintetikus ráta (A_{net}).....	52
5.4.3. Az intercelluláris tér széndioxid koncentrációja (C_i).....	53
5.4.4. A második fotoszintetikus rendszer kvantumhatásfoka (Φ_{PSII}).....	54
5.5. A szárazság hatása a transzportált szacharózt bontó enzimek aktivitására	56
5.5.1. A portokokban jelentkező hatások	56
5.5.1.1. A savas invertázok aktivitása	56
5.5.1.2. A szacharóz szintáz aktivitása	56
5.5.2. A fejlődő szemtermésekben jelentkező hatások.....	57
5.5.2.1. A savas invertázok aktivitása	57
5.5.2.2. A szacharóz szintáz aktivitása	58
5.6. Az enzimaktivitások termőn belüli <i>in situ</i> szöveti lokalizációja.....	58
5.6.1. A savas invertázok lokalizációja.....	58
5.6.2. A szacharóz szintáz lokalizációja.....	60
5.7. A fajtákra jellemző ozmotikus adaptációs képesség.....	62
5.8. A szárazság hatása a csírázó képességre és a csíragyökerek számára	62
6. Az eredmények értékelése	65
6.1. A szárazság hatása a gametogenezisre, a fertilitásra és a szemkötésre	65
6.2. A szárazság hatása a fotoszintetikus folyamatokra és a sejtek ozmotikus viszonyaira. 66	
6.3. A szárazság hatása a szemtermések fejlődésére.....	69
6.4. A szárazság hatása a szemfeltöltődésre és a termésre.....	73
6.5. A szárazság hatása a kezelt szemek csírázására és a csíranövények gyökérszámára ...	76
6.6. Következtetések	77
7. Az eredmények összefoglalása.....	78
Összegzés	80
Summary	81
Köszönetnyilvánítás	82
Irodalomjegyzék	83
Függelék	105

Rövidítések jegyzéke

A_{net}	nettó széndioxid asszimilációs ráta
CAT	kataláz
APX	aszorbát peroxidáz
C_i	intercelluláris széndioxid koncentráció
DHA	dehidroaszorbát
DHAR	dehidroaszorbát reduktáz
DTT	ditiotreitól
DNSA	dinitro-szalicilsav
EDTA	etilén-diamin-tetraecetsav
EGTA	etilén-glikol-bisz(β -aminoetil éter)-N,N,N',N'-tetra-ecetsav
GR	glutation reduktáz
g_s	sztómakonduktancia
GSH	glutation (redukált forma)
GSSG	glutation (oxidált forma)
HEPES	N-2-hidroxietil-piperazin-N'-2-etánszulfonát
MDHA	monodehidro-aszorbát
MDHAR	monodehidro-aszorbát reduktáz
MES	2-(N-morfolino)-etán-szulfonát
MKN	megporzást követő nap
MMN	megporzást megelőző nap
MW	molekulatömeg (molecular weight)
NAD^+	nikotinamid-adenin-dinukleotid (oxidált alak)
NADH	nikotinamid-adenin-dinukleotid (redukált alak)
NBT	nitro-tetrazóliumkék (nitroblue tetrazolium)
OA	ozmotikus adaptáció
OP	ozmotikus potenciál
PAS	perjódsvavas Schiff festés
PEG	polietilén-glikol
PMSF	fenil-metil-szulfonil-fluorid
PPI	pirofoszfát

PS II	kettes számú fotokémiai rendszer
Rubisco	ribulóz-1,5-biszfoszfát karboxiláz/oxigenáz
RuBP	ribulóz-1,5-biszfoszfát
PVP-40	polivinil-pirrolidon, molekulatömeg: 40.000
RVT	relatív víztartalom
TVT	térfogatarányos víztartalom
UDP	uridin-difoszfát
UDPGase	uridin-difoszfát-glükóz pirofoszforiláz

1. Bevezetés

Napjainkra elfogadottá vált, hogy az emberi civilizáció jelentős hatást gyakorol a Föld bioszférájára és időjárására. Megváltoztattuk az őshonos növény- és állatfajok természetes élőhelyét, elterjedését, jelentős mértékben csökkentve ezzel az élővilág sokféleségét, sőt az utóbbi évszázadok során már olyan globális folyamatokra is hatást gyakorlunk, melyeket a mai napig sem ismerünk kellő részletességgel. A fosszilis energiahordozók alkalmazása következtében a légkör széndioxid tartalma az 1960-as évek óta közel 20%-kal lett magasabb, és más üvegházhatású gázokkal együtt hozzájárul a globális klímaváltozáshoz. A folyamat által okozott meteorológiai változások közé sorolható a csapadék mennyiségének és eloszlásának jelentős megváltozása, mely egyre fokozódó negatív hatást gyakorol a mezőgazdaságra.

A búza (*Triticum aestivum* L.) Európában évszázadok óta a legfontosabb termesztett étkezési célú gabonaféle, az ENSZ Élelmezési és Mezőgazdasági Szervezetének (FAO) adatai szerint világszerte a legnagyobb termőterületen vetett és a második legnagyobb mennyiségű termést adó gabonanövény (Curtis 2002). A búza termesztése során szembe kell néznünk a klímaváltozás egyik fő következményével, az egyre gyakoribbá váló aszályos időszakokkal (Collins és mtsi 2009), melyek jelentősen csökkentik a betakarítható termés mennyiségét (Jamieson és mtsi 1995). Ennek megfelelően a szárazsággal szemben toleráns genotípusok nemesítése egyre fontosabbá válik. Kiemelt jelentőséggel bír azoknak a tulajdonságoknak az ismerete, amelyek hozzájárulnak egy-egy jó szárazságtűrő fajta terméshozzájárulásához.

Hazánkban a búza szárazságtűrés kutatásának több évtizedre visszanyúló hagyománya van, mely az elmúlt évtizedben a klímaváltozás hatására új lendületet kapott. A búza biotikus és abiotikus stresszekkel szembeni toleranciájának vizsgálata és terméshozzájárulásának javítása céljából Dudits Dénes akadémikus vezetésével 2001-től kezdődően Búzakonzorcium és Búzakalász Konzorcium elnevezéssel magyar kutatóhelyek közötti széleskörű konzorciális együttműködés jött létre, melyek jelentős mértékben járultak hozzá a gabonafélék stressztűrésével kapcsolatos tudásunkhoz és a magyarországi búzanesemítés versenyképességéhez (Dudits 2006). Ezek a pályázatok közvetlenül is hozzájárultak a dolgozat létrejöttéhez, hiszen a benne foglalt eredményekhez vezető kutatások a Konzorciumok kutatási programjához szorosan kapcsolódnak. A munka során az MTA Agrártudományi Kutatóközpont Mezőgazdasági Intézetében Barnabás Beáta akadémikus

asszony vezetésével folyó szaporodásbiológiai kutatások keretein belül vizsgáltuk a vízhiány által a búza ivaros folyamataira kifejtett hatásokat.

2. Irodalmi áttekintés

A globális klímaváltozást leíró modellek az elérhető vízbázisok csökkenését jelzik előre a világban (Arnell 1999), mely folyamat káros hatásaival Magyarországon is szembe kell néznünk (Fodor és Pásztor 2010, Bartholy és mtsi 2009). A szárazságstressz-rezisztencia jelentősége ennél fogva a jövőben egyre nő, a nemesítőkre pedig a magasabb szintű szárazságtűréssel rendelkező genotípusok előállításának feladata vár (Foulkes et al. 2007). Kiemelkedő jelentőségű azon élettani folyamatok jobb megismerése, melyek segítségével a búza képes az ivaros folyamatok idején a szárazsághoz adaptálódni, valamint növekedését, fejlődését és terméspotenciálját a stresszkörülmények ellenére is fenntartani (Seropian és Planchon 1984).

2.1. A búza ivaros folyamatai

2.1.1. A hím- és női gametofiton fejlődése

A növények egyedfejlődése során a reprodukzív folyamatok első lépése az ivaros nemzedék, azaz a hím és női gametofiton létrejötte. A gametofiton a törzsfejlődés során jelentős mértékű redukción esett át, a zárvatermő növényeknél már csupán néhány, a sporofiton nemzedéken belül fejlődő sejt képviseli a haploid, ivaros nemzedéket. Mivel az ivarsejtek fejlődése a gametofiton fejlődésétől nem különíthető el, ezeket a folyamatokat együtt tárgyaljuk. Mindkét nem esetében az első lépés a haploid spórák létrejötte, azaz a sporogenezis. Ez a folyamat a meiózis, melynek sikeressége meghatározza az ivaros nemzedék további sorsát. A haploid makro- és mikrospórákból a gametofiton kialakulásával párhuzamosan folyik az ivarsejtek fejlődése (gametogenezis) (Boavida és mtsi 2005).

2.1.1.1. A hím gametofiton fejlődése

A hím gametofiton, azaz a pollenszem fejlődése a portokok (antéra) pollensákjaiban (lokulamentum) megy végbe (összefoglaló: McCormick és mtsi 2004). A diploid mikroszpóra anyasejtekből a meiózist követően a haploid mikroszpórák négyes csoportjai, azaz tetrádok jönnek létre, melyeket kallózból felépülő közös faluk tart együtt. A mikroszpórák a közös burokból kalláz enzim közreműködésével szabadulnak ki, amely egyben a mikrosporogenezis lezárulását is jelenti

A búza mikroszpórák pollenné történő differenciálódása, tehát a mikrogametogenezis szempontjából elsődleges fontosságú a lokulamentumok belsejét kibélelő táplálósövet, a tapétum szerepe. A tapétum sejtei biztosítják a fejlődéshez szükséges tápanyagokat, valamint a pollenfal anyagait. Fejlődésük során a mikroszpórák citoplazmája átrendeződik és két további mitózison mennek át. A folyamat eredménye a hárommagvas, érett pollenszem, azaz a hím gametofiton. A pollenszem tartalmazza az úgynevezett vegetatív sejtet, melynek szerepe a pollen bibére kerülését követően a spermasejtek ovulumba juttatása, azaz a pollentömlő létrehozása. A vegetatív sejt citoplazmájában helyezkedik el a kettős megtermékenyítéshez szükséges két, orsó alakú spermasejt.

2.1.1.2. A női gametofiton fejlődése

A búza női gametofitonjának fejlődése a híméhez hasonlóan a meiózissal veszi kezdetét. A termőben elhelyezkedő makroszpóra anyasejtéből számszerű osztódással négy haploid makroszpóra jön létre, azonban ebből három degenerálódik és elpusztul. A fennmaradó leánysejt három további osztódás során alakul érett embriózsákká. A többek között búzára is jellemző Polygonum típusú embriózsák hét sejtet (nyolc sejtmagot) tartalmaz (Yadegari és Drews 2004). Ezek a csírákapu (mikropile) mellett elhelyezkedő két szinergida sejt, a hozzájuk kapcsolódó petesejt, a kettős sejtmaggal rendelkező központi sejt, valamint az embriózsák petesejttel ellentétes pólusán elhelyezkedő ellenlábás (antipodális) sejtek csoportja (Percival 1921, Maheshwari 1950).

A szakirodalomban fellelhető információk szerint (Tímár és mtsi 1997) a hexaploid búza esetében a mikro- és mikrosporogenezis folyamata szinkronizáltan megy végbe, azonban az azt követő gametogenezis sebessége eltérő: a háromsejtes pollen kialakulása hét napot vesz igénybe, míg az érett embriózsák már a meiózist követő harmadik napra létrejön.

2.1.2. A termő felépítése és a megtermékenyítés folyamata

A megtermékenyítést megelőzően a búza termőjének legnagyobb részét a termésfal (perikarpium) teszi ki, mely számos sejtréteget tartalmaz. Ide sorolható a magkezdemény epidermisze, a hipodermisz, a magkezdemény tulajdonképpeni testét alkotó parenchima sejtek rétegei, valamint a harántsejtek és a tömlősejtek rétegei. Az antézis idején a vékony sejtfallal határolt parenchima sejtek jelentős mennyiségű keményítőt raktároznak. A perikarpiumon belül találhatóak az embriózsákokat körülvevő sejtrétegek, azaz kívülről befelé haladva a külső és belső integumentumok rétegei, a nucellusz epidermisze, majd maga a nucellusz, mely a legbelső, az embriózsákokat határoló réteg.

A megporzást követően a pollenszem a kétágú, tollas bibén kicsírázva tömlőt hajt. A pollentömlő a termő teljes hosszán végighalad, majd kémiai szignálokat követve a csirakapun keresztül az embriózsákba jut (Hülkamp és mtsi 1995), és az egyik szinergida sejttel egyesül. A belőle kiszabaduló két hímvarsejt egyike a petesejtet megtermékenyíti meg, ezzel létrejön a zigóta, majd a későbbiekben az embrió. A másik spermasejt a központi sejt magjával olvad össze (Lord és Russell 2002, Weterings és Russell 2004), minek eredményeképpen kialakul az endospermium szövete.

2.1.3. Az embrió fejlődése

A megtermékenyítést követő 24 órán belül a búza zigóta osztódik, melynek eredménye egy megnyúlt bazális és egy kisebb apikális leánysejt. A nagyobb bazális sejtéből alakul ki az egyszikűekre jellemző csökevényes szuszpenzor, az apikális sejtéből pedig az embrió fejlődik (Bewley és Black 1995). A további osztódások során ez a sejt proembrióvá, egy keskeny, megnyúlt alapi résszel rendelkező, csepp (club) alakú sejt tömeggé alakul. A megtermékenyítés utáni hetedik naptól a differenciáció első jelei láthatóvá válnak: megkülönböztethetőek a sziklevel és a hajtáscsúcs kezdeményei valamint a rövid szuszpenzor (Rogers és Quatrano 1983). Két nappal később a hajtás- és gyökérpólus már elkülönülnek, a rügyhévely (koleoptil) kezdeménye pedig megjelenik az embrió endospermiummal ellentétes oldalán. A tizennegyedik napra az embriót alkotó szervek mindegyike kialakul: megfigyelhető a sziklevel, valamint a koleoptil által borított, levélkezdeményeket tartalmazó hajtáscsúcs és a gyökérkezdemény is (Percival 1921). Ettől kezdve a gyökérkezdeményben a központi hengert

létrehozó pleróma, az elsődleges kérget kialakító peribléma, valamint a gyökérsüveg létrehozásáért felelős kaliptrogén merisztémák egymástól könnyen megkülönböztethetők. Ezzel párhuzamosan az embrió tengelyének két oldalán a csírázást követően megjelenő másodlagos gyökerek kezdeményei is megjelennek (Rogers és Quatrano 1983). A megtermékenyítéstől számított huszadik és harmincadik nap között a kialakult szervek tovább fejlődnek. Az érett embrió a szemtermés alapi részén, a háti oldalon helyezkedik el. A rügyecske (plumula) tartalmazza a kezdetleges lombleveleket és a hajtáscsúcsot valamint az azokat süveggént fedő rügyhüvelyt (koleoptil). A gyököcskét (radikula) a gyökérhüvely (koleorhiza) borítja. Az embrió tengelyének egyik oldalához kapcsolódó pajzs alakú sziklevel vagy pajzsocska (szkutellum) szoros kapcsolatban áll az endospermiummal, míg az embrió másik oldala csupán a magháj által fedett (Percival 1921).

2.1.4. Az endospermium fejlődése

A fejlődési folyamat során az endospermium sejteinek négy, eltérő feladatra specializálódott típusa alakul ki: az embrióközeli endospermium sejtek, a keményítős raktározó sejtek, az aleuron réteg sejtjei, valamint az endospermium transzfer sejtek (Olsen és mtsi 1999, Olsen 2004).

A megtermékenyítést követően a központi sejtben csupán a sejtmagok sorozatos osztódása történik meg citokinézis nélkül, ezzel sokmagvas struktúrát, azaz szincíciumot hozva létre (Bennett és mtsi 1975, Brown és mtsi 1994, Olsen 2004), melyet a szakirodalom egyszikűeknél nukleáris endospermiumként ismer. Ebben az állapotban a sejtmagok egyenletesen oszlanak el a központi sejt citoplazmájának perifériális részén. A sejtesedésre való felkészülés egy mitotikus szünet során történik meg, amikor a sokmagvas citoplazma sejtmagonkénti plazmadoménekké szerveződik át (Brown és mtsi 1994). A sejtfalak kialakulása először a proembrióval határos citoplazma térségben történik meg, létrehozva azt az endospermium sejtípust, melyet búza esetében az egységes irodalmi elnevezés híján leginkább embrióközeli endospermiumnak nevezhetünk. A folyamat során sűrű, erősen festődő citoplazmával rendelkező sejtek jönnek létre, melyek alig tartalmaznak vakuólumokat, ezzel szemben rendkívül gazdag durva felszíni endoplazmatikus retikulum hálózat található bennük, különösen a szövet embrió felé eső oldalán. Ezek a sejtek a fejlődés során keményítőt vagy fehérjét nem raktároznak, azonban anyagcseréjük igen aktív (Cosségal

és mtsi 2007). Sajnos e sejttípussal kapcsolatban a búza esetében rendkívül kevés irodalmi adat áll rendelkezésre, azonban a kukoricában és *Arabidopsisban* található, úgynevezett embrió körülvevő endospermium régió (embryo surrounding region) minden tekintetben hasonló sejteket tartalmaz. Ezek vizsgálata alapján a régió valószínűsíthető szerepe, hogy az embrió annak korai fejlődése során exocitózis révén tápanyagokkal, esetleg szignálokkal látja el. Ezt követően sejtjei elhalnak, anyagaik pedig az embrió és az endospermium fejlődése során használódnak fel (Cosségal és mtsi 2007).

Az embriózsák üregét kibélelő sok sejtmagvas zincícium további sejtesedését szabadon növekvő sejtfaalak kísérik, melyek centripetálisan fejlődnek a központi sejt perifériájáról kiindulva (Olsen 2004). A sejtes endospermium kialakulását követően az endospermium felületi sejtrétegeinek mitotikus aktivitása következtében a sejtszám tovább nő (Mares és mtsi 1977, Olsen 2004). Az osztódásból származó belső leánysejtek adják a keményítő endospermium iniciális sejtjeit, melyek a szénhidrát- és fehérjeraktár szerepét töltik be a bennük található keményítőszemcsék és proteintestek révén. Az endospermiumban tárolt tartalék tápanyagok közül a legfontosabb a keményítő, mely a száraz szemtömeg 65-70 százalékát teszi ki. A keményítő a nagyobb A típusú és a kisebb, B típusú szemcsék formájában (Buleon és mtsi 1998, Tester és mtsi 2004, Turnbull és Rahman 2002), változó számban, méretben és összetételben van jelen az endospermium sejtjeiben (Raeker és mtsi 1998). Az A típusú szemcsék lencse alakúak, méretük általában 10 µm-nél nagyobb, és az endospermium fejlődése során már a negyedik megporzást követő nap körül megjelennek. A B típusú szemcsék szabályos gömb alakúak, méretük nem haladja meg a 10 µm-t, megjelenésük pedig az endospermium sejtek osztódásának befejeződése utánra tehető (10-14 MKN). A két típus közötti különbség az összetételre is kiterjed: az A típusú szemcsékben arányaiban több, elágazó molekulaláncú amilopektin található, míg a B típusban ennek aránya az amilózhoz képest alacsonyabb (Ao és mtsi 2007). Egyes szerzők egy harmadik, úgynevezett C típusú szemcsét is említenek, mely a legkisebb mérettel rendelkezik (5 µm alatt) és a fejlődés során a legkésőbb jelenik meg (21 MKN) (Bechtel és mtsi 1990).

Az endospermium sejtekben raktározott anyagok másik fontos ágát a fehérje természetű prolaminok képviselik. A prolamin elnevezés egy kiterjedten kutatott, többféleképpen csoportosítható, sok tagból álló fehérjecsaládot takar (Shewry és Tatham 1990, Shewry és mtsi 1999). A búzában előforduló prolaminokat gliadinokra és gluteninekre oszthatjuk fel, mindkét típusra jellemző a magas prolin és glutamin tartalom. A gliadinok monomer fehérjék (MW: 30-80 kDa), melyek alkohol és víz keverékében oldhatóak. Ezzel

szemben a glutenin fehérjék polimerekbe tömörülnek, melyeknek molekulatömege a 20000 kDa-t is elérheti, ennek megfelelően oldhatatlanok. A prolaminok szintézisüket követően egy szignálpeptidnek köszönhetően az endoplazmatikus retikulum lumenébe szállíthatódnak. A szignálpeptid lehasítását követően itt a fehérjék érezen mennek át, natív konformációjuk kialakul (folding), majd a protein testeknek nevezett organellumokban rakódnak le, melyek kialakulása a megporzást követő hetedik-kilencedik napon kezdődik meg. A fehérje egységek sejten belüli szállítása és lerakódása széleskörűen vizsgált folyamat (összefoglaló: Tosi 2012). A protein testek az endospermium fejlődésének késői szakaszában eltűnnek, a prolamin fehérjék pedig a sejtek citoplazmájában folyamatos mátrixot hoznak létre (Shewry és Halford 2002) melynek elsődleges jelentőséget tulajdonítanak a sütőipari tulajdonságok tekintetében.

A raktározó endospermium sejtjei a szemtermés érése során a tartaléktápanyagok felhalmozását követően programozott sejthalál következtében pusztulnak el (Young és Gallie 2000, 2004).

Az endospermium legkülső sejtrétege aleuron réteggé differenciálódik. Ez a sejtréteg a szemtermések hasi barázdájában húzódó, szállítószöveti elemekhez kapcsolódó, részben nucellusz, részben endospermium eredetű transzfer sejtek régióját kivéve az endospermium teljes felületét beborítja. Kezdetben két sejtréteg fejlődése indul el az aleuron réteggé történő differenciálódás útján, azonban a belső, úgynevezett szubaleuron réteg később raktározó sejtekké alakul. Az aleuron réteg szerepe, hogy a csírázás során az embrió számára különböző enzimek (proteinázok, hidrolázok, glukanázok) termelésével hozzáférést biztosítson a raktározó sejtekben tárolt tápanyagokhoz. (Cosségal és mtsi 2007).

A szemtermés zavartalan fejlődésének alapvető feltétele, hogy a vegetatív szervekben megtermelt tápanyagok eljussanak rendeltetési helyükre, az endospermiumba. A transzportált anyagok anyai eredetű perikarpiumba való eljuttatása a szállítószövetek floém elemein keresztül történik, melyek a magkezdemény teljes hosszában, a hasi barázda mentén futnak végig. A fejlődő magkezdeményben az anyai szövetek és az endospermium között nincs apoplasztikus összeköttetés, ezért a transzport megkönnyítését az endospermium üregének két oldalán elhelyezkedő eltérő eredetű transzfer sejtek végzik (Zheng és Wang 2011). A nucellusz eredetű transzfer sejtek az endospermium üregébe adják le a floém elemekből kilépő tápanyagokat, amelyeket a velük szemben elhelyezkedő endospermium transzfer sejtek felvesznek és a keményítőes endospermium felé továbbítanak (Wang és mtsi 1994, Zheng és Wang 2011). A folyamat során a szacharóz és az aminosavak a szállítóelemekből a

keményítős endospermiumba kerülnek, ahol keményítő és fehérjék formájában raktározódnak (Morrison és mtsi 1978, Wang és mtsi 1995).

2.1.5. A szemtermés érése során lezajló további változások

A magkezdemény fejlődése során jelentős változások zajlanak le annak szerkezetében. Az endospermium kialakulásával és fejlődésével párhuzamosan a perikarpium keményítőben gazdag parenchimájának sejtei valamint a nucellusz sejtrétegei irányítottan, programozott sejthalál során lebomlanak, anyagaik pedig a szemtermés kialakításában vesznek részt (Dominguez és mtsi 2001). A nucellusz felhasználásának és eltűnésének következtében az érett szemtermésben az aleuron réteggel közvetlenül határos, a nucellusz epidermiszéből kialakuló hyalin réteg. Ezen kívül található a maghéj vagy teszta, mely a külső és belső integumentumok sejtrétegeiből jön létre. A belső integumentum belső rétegében felszaporodó gyantás komponensektől nyeri a búzaszem jellegzetes színét. A termésfalat (perikarpium) alkotó rétegek belülről kifelé haladva: a tömlősejtek rétege, a harántsejtek rétege, a magkezdemény parenchima sejteinek maradványaiból létrejövő réteg, a hipodermisz, az epidermisz, valamint az azt borító kutikula (Evers és Millar 2002, Percival 1921, Simmonds 1989). Az érett szemtermésben a maghéj és a termésfal egymással szorosan összenő.

Bár a szemtermések fejlődése során fellépő szárazságstressz jelentős mértékben csökkenti a termés mennyiségét, a szakirodalomban nincs elérhető információ a vízhiány által okozott, a fejlődő szemtermésekben bekövetkező szövettani változásokról.

2.2. A szemfejlődéssel kapcsolatos anyagcsere folyamatok áttekintése

2.2.1. A termelő és fogyasztó szervek közötti kapcsolatok

A növényekben a megtermelt tápanyagok eloszlásának szempontjából forrás (source) és fogyasztó (sink) szerveket különböztetünk meg. Az ezek közti transzportfolyamatok és azok egymáshoz való viszonya a fejlődés meghatározó tényezője. Az ivaros életszakaszba lépéssel a búzában a kalász, mint új fogyasztó jelenik meg, melynek szerepe különösen a megporzás

követően, a szemtermés feltöltődése során válik jelentőssé. A szemfeltöltődés folyamata során a fogyasztó szerv tápanyag felvevő képessége (sink strength) a termés mennyiségét meghatározó egyik legfontosabb tényező (Liang és mtsi 2001). Ez a felvevő képesség alapvetően a mérettől (szemszám, az endospermium sejtek száma és mérete), valamint a szemtermések életteni aktivitásától függ (Venkateswarlu és Visperas 1987). A szemtermések felé irányuló tápanyag szállítás egyik jelentős eleme a szacharóz, mely búzában a legfontosabb transzportált szénhidrát (Fisher és Gifford 1987). Emiatt a tápanyag felvevő képesség meghatározó tényezője a szemtermésbe érkező szacharóz enzimatikusan hasításának sebessége, mely fenntartja a transzporthoz szükséges szacharóz koncentráció gradienst a forrás és a célszerv között (Herbers és Sonnewald 1998). A szacharóz hasítását végző enzimeket nevezhetjük a szemtermésekben zajló felépítő szénhidrát anyagcsere kulcsenzimeinek, hiszen aktivitásukkal kezdődik meg a transzportált szacharóz felhasználása, e nélkül pedig a fotoszintézis által megtermelt szénhidrátok makromolekulákba történő beépítése nem képzelhető el. Fontos szerepet látnak el az anyagcserét befolyásoló cukor szignálok egyensúlyának beállításában is (Koch 2004).

Az enzimek két csoportja képes a szacharóz molekula egyszerű cukrokra történő hasítására: az invertáz (EC 3.2.1.26) és a szacharóz szintáz (EC 2.4.1.13) (Copeland 1990). Bár aktivitásuk alapvetően hasonló, a két enzimcsalád sok tekintetben eltérő tulajdonságokkal rendelkezik.

2.2.2. A transzportált szacharózt hasító enzimek jellemzése, szerepe a növényekben

Az invertáz (más néven β -fruktofuranozidáz) enzim hidroláz aktivitású fehérje, működése közben a szacharóz molekulát egy glükóz és egy fruktóz molekulára hasítja (Sturm és Tang 1999). A növényekben az invertáz három izoformája ismert, molekulatömegük 55 és 70 kDa közötti, és celluláris lokalizációjuk szerint különítjük el őket egymástól (Sturm 1999):

- A sejtfalkötött invertáz savas pH optimummal bír, szerepe van a termelő és fogyasztó szervek (source és sink) közötti cukor elosztásban, a sebzésre és fertőzésekre adott válaszokban, valamint a sejtdifferenciáció és a fejlődés szabályozásában. Nagy jelentőséggel bír a szacharóznak a rostacsövekből való importjában azokban a célszervekben, ahol a plazmodezmák hiánya miatt a transzportált szacharóz

apoplasztikus úton jut el a sejtekhez (Patrick és Offler 2001), például fejlődő magvak és pollenszemek esetében.

- A vakuoláris invertáz működéséhez szintén savas környezet szükséges. Szerepet játszik az ozmoregulációban, a gyümölcsökben és a raktározó szövetekben található cukorfajták arányainak meghatározásában, valamint a hideghatásra adott válaszban (édesedés).
- A citoplazmatikus invertáz aktivitásának pH optimuma semleges vagy enyhén lúgos. Az enzim szerepe kevésbé ismert, valószínűleg a lebontó anyagcsere folyamataiban tölt be jelentős szerepet. Árpa esetében bizonyították, hogy egy szacharóz transzporterrel együttműködve a fejlődő szemtermések transzfer sejtjeiben a szénhidrátok továbbítását segíti a szállítószövetek, valamint az endospermium és az embrió között (Lim és mtsi 2006, Thompson és mtsi 2001).

A szacharóz szintáz egy glikozil transzferáz aktivitású enzim, amely uridin-difoszfát (UDP) jelenlétében a szacharózt UDP-glükózzá és fruktózzá alakítja (Sturm 1999). A 90 kDa molekulatömegű enzim az általa katalizált reakciót a szubsztrát/termék koncentráció viszonyoktól függően mindkét irányban képes elvégezni, tehát nevének megfelelően szintetizálni is képes a szacharózt, azonban raktározó szövetekben feltehetően csak a hasító aktivitása van jelen (Xu és mtsi 1989). Szerepe a szénhidrátoknak a felépítő anyagcsere irányába történő terelése a szacharóz bontásával, a forrás (source) és a felhasználó (sink) szövetek közötti szénhidrát elosztás, továbbá jelentősége van az anaerobiotikus viszonyokra és a hideghatásra adott válaszokban (Sturm 1999). Az enzimnek a citoplazmában elhelyezkedő szolubilis formája ismert, azonban az újabb eredmények szerint sokféle sejtalkotóval képes rövidtávon asszociálódni: a plazmamembránnal, a Golgi vezikulumokkal, az amiloplasztokkal, az aktin fonalakkal valamint a tonoplasttal (Koch 2004). Sokféle szerepe ismert a különböző sejt típusokban: szubsztrátot biztosít a kallóz szintéziséhez, valamint a cellulóz szintáz komplex részeként a sejtfal létrehozásában is részt vesz (Amor és mtsi 1995, Koch 2004). Az általa katalizált reakció a keményítő szintéziséhez vezető első lépés a raktározó szövetekben (Chourey és mtsi 1998). Ezt búza esetében is igazolták (Keeling és mtsi 1988, Dupont 2008), ennél fogva valószínűsíthető, hogy az enzim aktivitásának intenzitása illetve időtartama képes limitálni az endospermiumban raktározott keményítő mennyiségét, valamint a szemfeltöltődés időszakának hosszúságát. Ezek a tényezők a termék mennyiségének szempontjából szintén nagy jelentőséggel bírnak (Chevalier és Lingle 1982).

Ezen felül a szacharóz szintáz bizonyítottan fontos szerepet játszik a keményítőt tartalmazó raktározó szervek szacharóz felvevő képességének meghatározásában is (Sung és mtsi 1989).

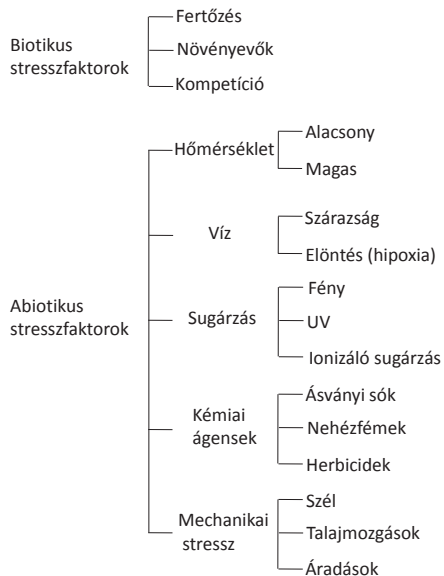
A két említett enzimnek hasonló szerepet tulajdonítanak a cukor anyagcseréhez kapcsolt jelátvitelben, melynek fontos szignálmolekulái maguk a hexózok (Koch 2004, Sturm és Tang 1999, Wobus és Weber 1999). Az invertáz működése során két, míg a szacharóz szintáz esetében csupán egy darab hat szénatomos cukormolekula keletkezik, így a specifikus hexóz szenzorokat az invertázok nagyobb mértékben aktiválják. Az így keletkező eltérő erősségű szignálok különböző jelátviteli utakon keresztül különböző mértékben indukálják a sejtosztódást és a sejtnövekedést. Ennek megfelelően az invertáz és a szacharóz szintáz az elméletek szerint nem konkurens, hanem egy finoman modulált szabályozási rendszerben más-más szerepet betöltő enzimfehérjék (Koch 2004). A reproduktív fejlődésben betöltött feladatot tekintve az invertáznak feltehetően a sejtosztódást és növekedést nagyobb mértékben elősegítő tulajdonsága miatt a termések sejteinek kialakulásában, tehát az asszimilátum felvevő szerv méretének szabályozásában van jelentősége (Koch és Zeng 2002). Az invertáz szerepét a megtermékenyítést követően, a szénhidrátok beépülési fázisában veszi át a szacharóz szintáz, mely a keményítő szintézis számára az ahhoz szükséges glükóz szubsztrátot állítja elő. A termések kialakulási és érési folyamatainak háttérben a cukor szignálokra épülő jelátviteli utakon keresztül szabályozott, összetett hormonális hatások állnak (Koch 2004).

2.3. A szárazság hatásai, tolerancia stratégiák

2.3.1. Stressz, stresszreakció, stresszorok

Munkánk során arra kerestük a választ, hogyan befolyásolja a stressz a búza ivaros folyamatait. Ehhez azonban tisztában kell lennünk azzal, mit is jelent voltaképpen ez a kifejezés. A stressz fogalmát a magyar származású Selye János munkássága révén ismerte meg a világ. Selye a múlt század harmincas éveiben fedezte fel, hogy az élőlények a különböző károsító behatásokra egy közös séma szerint reagálnak (Selye 1936). A stressz tulajdonképpen egy olyan, fokozott terheléssel járó állapot, amelyben kezdetben életjelenségek károkat szenvednek, majd bekapcsolnak a szervezet védekező reakciói, végül ha a károsító behatás túlságosan erős vagy hosszú ideig tart, a szervezet kimerülhet és akár el is pusztulhat.

A károsító hatásokat stresszoroknak, a folyamatot pedig általános adaptációs szindrómának nevezte el. Az egyedek az akklimatizáció révén alkalmazkodnak a megváltozott környezeti feltételekhez, míg a generációk során, evolúciós folyamatok révén létrejött tartós alkalmazkodási folyamatot nevezünk adaptációnak. Az adaptáció eredménye a stressztűrő képesség, azaz a tolerancia, amely genetikailag kódolt tulajdonság. Selye megkülönböztette a gyenge, csupán pozitív stimuláló hatást kiváltó eustresszt, és a károsodásokat okozó distresszt. Ennek a szemléletnek az értelmében az eustressz jótékony hatását figyelhetjük meg például hideg, szárazság, stb. edzést követően, amikor a növények a későbbi erős stresszre kedvezőbben reagálnak.



1. ábra. A stresszorok típusai (Schulze és mtsi után)

A növényekre ható stresszorok csoportosítása többféleképpen történhet, a leggyakrabban alkalmazott a biotikus és abiotikus csoportokba való besorolás (1. ábra). A biotikus stresszeket előidézhetik a növényeket fogyasztó állatok, a különböző kórokozók (vírusok, baktériumok, gombák), de akár más növények is, az élőhelyért vagy a forrásokért

való versengésükkel. Az élettelen, abiotikus stresszhatások a növény élőhelyétől függően gyakran szezonálisan és egymással kombináltan jelentkeznek. Csaknem minden abiotikus stressz olyan környezeti tényezőhöz kötődik, amelyre a növénynek szüksége van a fennmaradáshoz, azonban ezek túl magas, vagy éppen túl alacsony értéke próbára teszi a tűrőképességet. Az alacsony hőmérséklet okozhat például mechanikai sérülést a sejten belüli jégkristályok megjelenésével, vagy ozmotikus stresszt a folyékony víz hozzáférhetetlensége miatt, azonban a túl nagy meleg már a fehérjék denaturációját és funkcióvesztését idézheti elő. A növényeknek szüksége van az éltető fényre, de a túl erős besugárzás, különösen az ultrabolya és más ionizáló sugárzások a makromolekulák (fehérjék, lipidek, nukleinsavak) közvetlen károsodását, vagy reaktív oxigén formák keletkezését okozzák. A talajban előforduló ásványi anyagok hiánya anyagcsere problémákat okoz, túl nagy koncentrációjuk azonban sóstresszhez, ozmotikus stresszhez vezet. A kémiai stresszorok közé tartoznak a nehézfémek. Közülük a leginkább mérgezőek az ólom, a kadmium és a higany. A nehézfémek az anyagcsere folyamatok és a növekedés gátlóságát idézik elő, valamint oxidatív stresszt is kiválthatnak (Gasic és Korban 2006). Az ember által kifejlesztett gyomirtó szerek szintén kémiai ágensek, hatásuk igen erőteljes és gyors lehet, köszönhetően az általuk nagy mennyiségben felszabadított reaktív oxigén fajtáknak (Szigeti 2005). A növények helyváltoztató mozgásra való képtelenségük miatt fokozottan ki vannak téve a mechanikai stresszorok (szél, talajmozgások, áradások) támadásának, melyek ellen különféle szilárdító szövetekkel védekeznek.

Bár ez a felosztás nem tér ki külön az oxidatív stresszre, nagy jelentősége miatt szót kell ejtenünk róla. Az oxidatív stressz tulajdonképpen az összes stresszhatás kísérőjelensége, hiszen a sejtek integritásának megszűnése szinte minden esetben oxidáló molekulák, gyökök megjelenéséhez vezet.

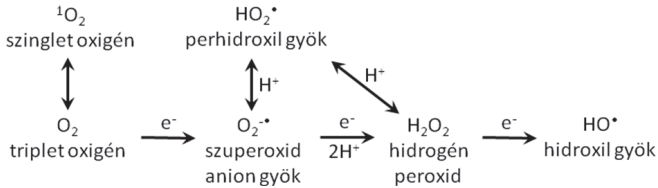
2.3.2. A szárazságstressz általános hatásai

A vízhiány negatív hatást gyakorol a gabonanövényekre, befolyásolva fejlődésüket, morfológiájukat és fiziológiai folyamataikat, ezáltal termésmennyiségüket (Saini és Westgate 2000). A talaj víztartalmának csökkenése elsőként a gyökerek számára rendelkezésre álló vízmennyiség korlátozásával fejt ki hatását. A szárazság érzékelése tehát a gyökérben történik. Az itt termelődő abszizinsav (ABS) lokálisan a gyökér növekedését serkenti, a hajtásba transzportálódva (Schachtman és Goodger 2008) pedig kiváltja a növények által

mutatott leghamarabb megjelenő és legáltalánosabban előforduló stresszválaszt, a sztómák záródását, melynek segítségével csökkenthető a párolgás okozta vízvesztés mértéke (Henson és mtsi 1989). Az ABS hatásai között tartják számon emellett az oldalgyökér képződés serkentését, a gyökér vízfelvételének növekedését, és a levél növekedésének csökkentését. Stresszhormonként egy sor védekezéssel kapcsolatos folyamatot szabályoz: ozmotikumok termelése, védő fehérjék és csatornafehérjék szintézise, az oxidatív stresszt elhárító rendszerek aktiválása (Barnabás és mtsi 2008). A növényi anyagcserében a szárazság hatására bekövetkező változások érintik a szén és a nitrogén metabolizmusának folyamatait is. Az oldható szénhidrátok mennyisége megemelkedik, különös tekintettel a diszacharidokra (Ford és Wilson 1981). A levelek oldható nitrogén tartalma szintén megnő, melynek oka a lebontó folyamatok térnyerése, a csökkent fehérje szintézis és az újonnan szintetizálódó aminosavak mennyiségének megemelkedése (Barnett és Naylor 1966). Erősebb, vagy hosszabb ideig tartó szárazság esetén a stressz a fotoszintetikus folyamatokra is hatást gyakorol (Chaves és mtsi 2009). Ennek következménye a termelt asszimilátumok mennyiségének csökkenése, mely a jelentős turgorvesztéssel együtt a növényben a sejtek osztódásának, valamint megnyúlásos növekedésének megszűnését okozhatja.

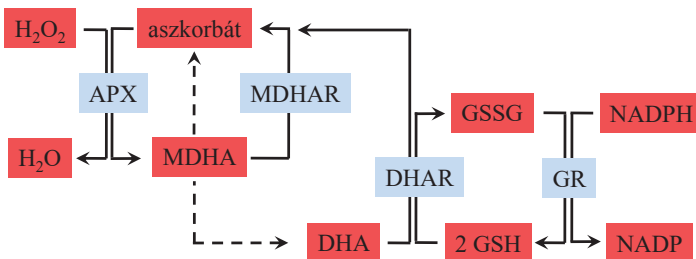
A jelentős vízhiány nem csupán a felépítő anyagcsere folyamatokat gátolja, hanem ezzel egy időben, másodlagos hatásként oxidatív stresszt is indukál (összefoglaló Mittler 2002). Becslések szerint a növények által felhasznált oxigén egy százaléka alakul át károsító molekulákká (Asada és Takahasi 1987), ennek mértéke azonban stresszkörülmények között jóval nagyobbra tehető. A szárazság által okozott oxidatív stressz elsődleges forrásai a nagy mennyiségben keletkező reaktív oxigénformák (ROF) (Ort 2001). Az elsőként megjelenő ROF a szinglet oxigén (1O_2) és a szuperoxid anion gyök ($O_2^{\cdot-}$). Előbbi az oxigénmolekula két párosítatlan elektronjának párosítottá válása révén jön létre a reakciócentrumokban a klorofill molekulák gerjesztése során. Az $O_2^{\cdot-}$ a fotoszintézishez kapcsolódó elektron transzportlánc rendszerben, valamint a mitokondriumokban található légzési elektron transzportláncban egy elektronnak a molekuláris oxigénre való átadásával keletkezik (Asada és Takahasi 1987). A további formák keletkezése az $O_2^{\cdot-}$ -ből levezethető (Mach és Greenberg 2004, 2. ábra). A szuperoxid anion gyök protonálódásával perhidroxil gyök (HO_2^{\cdot}) jön létre, míg vizes oldatokban spontán diszproporcióval vagy a szuperoxid diszmutázok (SOD, EC 1.15.1.1.) aktivitása során hidrogén peroxiddá (H_2O_2) alakul. Bár a H_2O_2 a legkevésbé reaktív oxigén forma, e tulajdonsága, valamint töltést nem hordozó volta miatt messzebbre juthat el, akár a biológiai membránokon keresztül is. A H_2O_2 -ből egy további elektron felvételével fémionok

(Fenton reakció) illetve szuperoxid gyök (Haber-Weiss reakció) közreműködésével hidroxil gyök (HO^\bullet) jön létre, amely a legagresszívabb oxigén forma. A felsorolt oxidatív ágensek egyaránt támadják a sejt membránjait, fehérjéit valamint nukleinsavait, ezzel nem csak a struktúra és a funkció, de az örökítőanyag károsodását is okozva.



2. ábra. A reaktív oxigén fajták keletkezése (Mach és Greenberg 2004 után)

Az oxidatív károsodások ellen a növények összetett védekező rendszert hoztak létre, amelynek fontos részei enzimek éppúgy, mint antioxidáns molekulák. Az enzimek közül kiemelhetjük a katalázt (CAT, EC 1.11.1.6.) amely a H_2O_2 bontását végzi vízre és oxigénre, tehát véglegesen ártalmatlanítja azt. Az enzim-antioxidáns rendszerek közül a legfontosabb az aszkorbát-glutation ciklus (Haliwell-Asada ciklus, 3. ábra). Az ciklus első lépéseként a H_2O_2 vízzé történő semlegesítése megy végbe, mely két aszkorbát molekula oxidációja segítségével történik, és az aszkorbát peroxidáz (APX, EC 1.11.1.11.) katalizálja. Az enzim jelen van a kloroplasztiszban a sztrómában és a tilakoidmembránhoz kötötten, valamint a sejtplazmában és a mikroszómákban is megtalálható (Shigeoka és mtsi 2002). A reakció során monodehidro-aszkorbát (MDHA) keletkezik, melyet a monodehidro-aszkorbát reduktáz (MDHAR, EC 1.6.5.4.) regenerál aszkorbáttá, a NADPH molekula oxidációja közben. Az MDHAR-ok kompartmentalizációja az APX-ekkel megegyező (Letierrier és mtsi 2005). Az MDHA spontán diszproporcióval is visszaalakulhat aszkorbáttá, dehidroaszkorbát (DHA) képződése mellett. A DHA redukcióját, a dehidroaszkorbát-reduktáz enzim (DHAR, EC 1.8.5.1.) katalizálja, a folyamat a redukált glutation (GSH) oxidációjával jár együtt, eredménye pedig ismét az aszkorbát regenerációja. A reakció során keletkező oxidált glutationt (GSSG) végül a glutation reduktáz (GR EC 1.6.4.2.) alakítja vissza GSH-vá, a NADPH oxidációjának terhére.



3. ábra. A Haliwell-Asada ciklus. A szaggatott vonal az MDHAR spontán diszproporcióját jelöli. A kék téglalapok a rendszer enzimatis, a pirosak pedig az egyéb molekuláris összetevőit jelölik. A rövidítések magyarázata a szövegben található.

Látható, hogy a növényi antioxidáns rendszer legfontosabb tagjai a sejt belső tereiben előforduló aszkorbát és glutation, emellett azonban meg kell említenünk a fenolos vegyületeket és a membránokhoz kapcsolódó, lipiddékony molekulákat (α -tokoferol, karotinoidek) is. Vízihiány esetén a növényekben nagy mennyiségben keletkező oxidatív ágensek sikeres eliminációját szolgáló rendszerek működése a stressztolerancia igen fontos eleme (Asada 2006, Loggini és mtsi 1999, Yordanov és mtsi 2000). A közelmúlt reaktív oxigénformákkal foglalkozó kutatásai feltárták, hogy e molekulák fontos szerepet töltenek be a stresszválasszal kapcsolatos jelátviteli folyamatokban, mint másodlagos jelátvivő anyagok (Brosché és mtsi 2010). Ezáltal a sejtekben való, kis mennyiségű és szigorúan szabályozott jelenlétük pozitívan befolyásolhatja a stresszválaszt, az abban részt vevő gének kifejeződésének erősítése révén. Ezen belül is a hidrogén peroxid szerepe emelhető ki, mivel viszonylag alacsony reaktivitása és hosszú féléletideje alkalmassá teszi a sejtekben a többi ROF-nál nagyobb távolságok megtételére.

2.3.3. A szárazság fotoszintetikus folyamatokra gyakorolt hatásai

A búza esetében a termés létrehozására fordított asszimilátumok legnagyobb része a hajtás felső részében kerül megtermelésre. Ezen belül kiemelkedő a zászlóslévélnék és a kalász klorofillt tartalmazó szöveteinek jelentősége (Austin és mtsi 1977, Morgan és Austin 1983, Loss és Siddique 1994). Ennek megfelelően a szárazság fotoszintézisre gyakorolt

hatását kevés kivételtől eltekintve (Inoue 2004) legtöbbször a zászlósleveleken tanulmányozzák. A zászlóslevelekben folyó fotoszintézis különösen fontos abban az esetben, amikor az idősebb levelek szeneszcenciája megkezdődik (Loss és Siddique 1994, Turner 1997), mely főként erős stressz hatására lép fel, valamint a növény életciklusának utolsó részében jellemző.

A vízhiánynak a fotoszintetikus folyamatokra gyakorolt legkorábbi hatása a sztómazáródás folyamatával párhuzamosan jelentkezik (Chaves és mtsi 2009). A gázcsere nyílások záródásával a sztómakonduktancia (g_s) egyre alacsonyabb, ennek eredményeként pedig a széndioxid intercelluláris térben mérhető koncentrációja csökkenni kezd. A jelenség magyarázata, hogy a továbbra is aktív fotoszintetikus folyamatok során a sejt közötti járatok széndioxid tartalma a sötétszakaszban megkötésre kerül, a zárt sztómákon át azonban a külvilágból nincs lehetőség annak pótlására. Ezt követően a széndioxidnak, mint szubsztrátnak a hiányában következik be az asszimiláció legenyhébb gátlási folyamata, az úgynevezett sztómális gátlás. Ez a reverzibilis folyamat felelős a gyenge és közepes erősségű szárazságból eredő asszimiláció csökkenés túlnyomó hányadéért (Cornic 2000). A széndioxid hiányának másik következménye az úgynevezett fotorespiráció (fénylégzés, glikolát ciklus) felerősödése. A jelenség hátterében a Rubisco (ribulóz-1,5-biszfoszfát karboxiláz/oxigenáz) enzim karboxiláz aktivitásának az oxigenáz aktivitás felé való eltolódása áll, ami a CO_2/O_2 arány sztómazáródás miatti megváltozására vezethető vissza. Ennek következményeként glikolsav keletkezik a kloroplasztisban, ami a peroxiszómában glicinné alakul, majd a mitokondriumba transzportálódik. Itt NAD^+ redukciója során szerinné alakul, közben széndioxid szabadul fel. A reakciósorozat eredménye tehát a léggzéssel egyezik meg: a rendszerbe O_2 kerül és ezzel párhuzamosan CO_2 szabadul fel, csökkentve a fotoszintézis hatékonyságát. A ciklus során lezajló reakciók a peroxiszómában H_2O_2 képződést, ezen kívül csökkent ATP szintézist, valamint nitrogénvesztéséget is okoznak. A folyamat normál körülmények között is végbemegy, azonban jelentősége csökkent CO_2 tartalom és túlságosan erős fény mellett nő meg, mivel a kloroplasztisban a $NADPH_2$ oxidációjával elvezeti a fényreakciókból ilyenkor felgyülemelő redukáló erőt. Ezzel bizonyos mértékig késlelteti az oxidatív stressz kialakulását, védve a fotoszintetikus apparátust (Kozaki és Takeba 1996).

Egy másik gátló tényező a kloroplasztisban végbemenő anyagcsere folyamatok menetében a vízhiány hatására bekövetkező zavar, mely gátló hatást fejthet ki magára a fotoszintézisre is (Reddy és mtsi 2004). Érintett folyamatok például a Rubisco aktivitás változása, a ribulóz-1,5-biszfoszfát (RuBP) regenerációja és az ATP szintézis is. A Rubisco

mennyisége és aktivitása csökken a szárazság hatására (Vu és mtsi 1999). Aktivitását emellett limitálja a szubsztrátul szolgáló RuBP mennyisége, melynek termelődését az ATP illetve a NADPH hiány csökkentheti (Tezara 1999). A fotofoszforiláció szárazság általi gátlását is leírták napraforgóban (Lawlor 2002). Ezen folyamatok fotoszintézisre kifejtett gátló hatását összefoglalóan metabolitikus gátlásnak nevezzük (Flexas és mtsi 2004, Parry és mtsi 2002).

A fotoszintetikus folyamatok eddigiekben bemutatott gátlása erős stresszhatás esetén a reaktív oxigénformák megnövekedett termelődését, illetve a második fotokémiai rendszer károsodását váltja ki a kloroplasztiszokban. Ennek oka, hogy az antenna komplexekben összegyűjtött energia biztonságos elvezetésére ezen körülmények között nincs mód (Demmig-Adams és Adams 1992). A megjelenő reaktív oxigénformák között említhetjük a szuperoxid anion gyököt ($O_2^{\cdot-}$), a hidrogén peroxidot (H_2O_2), valamint a hidroxil gyököt (OH^{\cdot}) (Asada 2006). Ezek az oxigénformák a lipidperoxidáción valamint a tilakoidokban található fehérjék károsításán keresztül strukturális sérüléseket okoznak a kloroplasztiszokban (Smirnov 1993).

2.3.4. A szárazság hatása az ivaros folyamatokra

A károsodás természete, mértéke, valamint a kedvezőtlen környezeti feltételek megszűnését követően a regenerációs képesség nem csupán a stressz intenzitásának és időtartamának függvénye, fontos szerepet játszik az is, hogy a növény mely egyedfejlődési időszakban, más szóval fenofázisban szembesül a vízhiánnyal (De Leonadis és mtsi 2007, Szira és mtsi 2008). Irodalmi adatok szerint a vegetatív életszakaszban bekövetkező vízhiány csökkenti a szemtelítődés folyamán fontos szerepet betöltő, szárban raktározott szénhidrátok mennyiségét, ezáltal pedig szemtömeg csökkenést okoz (Blum 1998). A reprodukív folyamatok idején ható szárazság közvetlenül is befolyásolja a szemtermések fejlődését. Ebből a szempontból jelentős fenofázisok a meiózis, az antézis, valamint a korai szemfejlődés időszaka (Barnabás és mtsi 2008).

A meiózis időszakában történik meg a mikro- és makrospóra anyasejtek számfelező osztódása, mely során minden anyasejtből négy, haploid leánysejt jön létre (McCormick 2004.). A folyamat során a sejt örökítő anyagának megkettőződését követően két kromoszóma osztódás megy végbe, lehetőséget teremtve a genetikai anyag, tehát a tovább örökített tulajdonságok rekombinációjára (Caryl és mtsi 2003). A folyamat elengedhetetlen a funkcióképes ivarsejtek létrejöttéhez, tehát az ebben az időszakban fellépő károsító hatások jelentősen csökkentik a fertilitást, ennek következtében pedig igen erőteljes negatív hatással

bírnak a termésmennyiségre. Korábbi kutatásokban a meiózis kori szárazság negatív hatását különösen a mikrosporogenezis, azaz a pollenfejlődés szempontjából találták jelentősnek (Lalonde és mtsi 1997, Saini 1997). Ezt a jelenséget a makrosporogenezis során nem figyelték meg, feltehetően a fejlődő makrospórák termőben való védettebb elhelyezkedése miatt.

A virágzás, más szóval antézis idején ható szárazság szintén csökkenti a szemkötést, ezáltal a kalászonkénti szemek számát, amely a búza termésmennyiségét meghatározó egyik legfontosabb tényező (Jamieson és mtsi 1995). A vízhiány mind a pollen, mind pedig a bibe károsításán keresztül kifejtheti negatív hatását, ezen felül irodalmi adatok szerint szántóföldi körülmények között a szárazságstressz 2-3 nappal le is rövidíti az antézis időszakát mind az érzékeny, mind pedig a toleráns búza genotípusok esetén (Khanna-Chopra és Selote 2007). Az antézis idején jelentkező szárazság hatását főként rizs (Ekanayake és mtsi 1989) és kukorica (Herrero és Johnson 1981) esetében tanulmányozták.

A korai szemfejlődés során fellépő vízhiány a fejlődő szemtermések abortálására okozza, amely alacsony szemkötést valamint aszott szemtermések kialakulását vonhatja maga után, ami termés-csökkenéshez vezet (Blum 1998). Irodalmi adatok szerint kedvező környezeti feltételek mellett a szemtermésbe beépülő tartalék tápanyagoknak mindössze 10%-a származik a korábban megtermelt és elraktározott asszimilátumokból, azonban a szemfejlődés során jelentkező szárazság hatására ez az arány a 24%-ot is elérheti (Austin és mtsi 1977, Bidinger és mtsi 1977). A gabonafélék esetében a szárban raktározott, mobilizálható szénhidrát raktárak főként fruktánok formájában vannak jelen (Winter és Huber 2000, Wardlaw és Willenbrink 2000, Willenbrink és mtsi 1998). A kialakuló szemtermések kisebb tömege befolyásolja a belőlük fejlődő csíranövények méretét és későbbi fejlődési erélyét (Aparicio és mtsi 2002), ezáltal hatást gyakorol az utódgenerációra is.

2.3.5. Szárazságtűrési stratégiák

A szárazság hatásainak ellensúlyozására a növények körében többféle stratégia alkalmazására találunk példát (Barnabás és mtsi 2008). A menekülés stratégiáját (escape) követő fajok a stressz észlelésekor felgyorsítják egyedfejlődési programjukat annak érdekében, hogy biztosítsák a sikeres szaporodást, mielőtt a túl erős stresszhatás meggátolhatná tulajdonságaik továbbörökítését. A stratégiát követő fajok életciklusuk fiziológiai szempontból szinte teljesen inaktív, mag stádiumában igyekeznek átvészelni a szárazságot.

A dehidratáció elkerülésének stratégiája (avoidance) a növény fiziológiás víztartalmának fenntartását célozza meg. Ennek egyik módja a vízfelvétel fokozása, mely a szervek szintjén felgyorsult gyökérnövekedéssel érhető el (Chaudhuri és mtsi 1990, Davies és Zhang 1991). A makromolekulák szintjén a sejtmembránokban elhelyezkedő, a víz transzportjában részt vevő csatornafehérjék (aquaporinok) erőteljesebb expressziója járulhat hozzá a vízfelvétel növeléséhez (Alexandersson és mtsi 2005). A víz tartalékolása szukkulens növényekben víztartó szövetekben, módosult, raktározó gumókban, gyökerekben történhet. A növény által már felvett vízmennyiség megőrzését szolgálja a transzspiráció, azaz a párologtatás csökkentése. Ennek hatékony módja egyrészt a sztómák bezárása, másrészt a párologtató felszínek méretének csökkentése. Ez utóbbi megvalósulhat akár a levélfelület redukálása (például a levelek besodródása a Poaceae családban), akár a lombzat kiterjedésének szeneszcencia általi csökkentése révén. Hatékony védekezési mechanizmus az epidermiszt fedő kutikularéteg megvastagodása is (Jäger és mtsi 2011).

A harmadik lehetséges stratégia a fiziológiai folyamatok fenntartása a csökkent víztartalom ellenére, tehát az elviselés (tolerance) jelensége. A sejtek különféle metabolitok termelésével igyekeznek ellensúlyozni az alacsony víztartalom hatásait. Az ozmotikum adaptáció (osmotic adjustment) során különböző molekuláknak a sejt plazmában történő felhalmozásával tartják fenn annak alacsony vízpotenciálját, meggátolva a sejtben található vízmennyiség eltávozását (Blum és mtsi 1999, Chandrasekar és mtsi 2000). Az ozmotikumként alkalmazott molekulák között találunk cukrokat (raffinózos, szacharóz trehalóz, szorbitol), cukoralkoholokat (mannitol), aminosavakat (például a prolin), valamint aminokat (glicin betain, poliaminok) (Seki és mtsi 2007). A dehidratáció elviselésének érdekében különböző fehérjék expressziójának felerősödése is megfigyelhető. Ide tartoznak a LEA (Late Embryogenesis Abundant) fehérjecsald tagjai, köztük a dehidrinek, melyek molekulaszervezetüknek köszönhetően a rendelkezésre álló vizet megkötik, így védve a sejtben található makromolekulákat a károsodástól (Caruso és mtsi 2002, Labhili és mtsi 1995). Enzimaktivitással rendelkező proteinek termelődése is segíti a dehidratáció idején a fehérjék natív térszerkezetének fenntartását és annak javítását. Ilyen, úgynevezett chaperon aktivitású enzimek többek között a Rubisco aktiváz (RA) és a Rubisco kötő protein (RBP). A hő sokk fehérjék (HSP) családjának bizonyos tagjai is fokozott génexpressziót mutatnak szárazságstressz esetén, ami alátámasztja széleskörű felhasználhatóságukat a különböző stresszhatások leküzdésében (Demirevska és mtsi 2008).

A felsoroltakon kívül igen fontos tulajdonság a gabonanövények körében a stresszhatás megszűnését követően a károsodott struktúrák regenerációjára való képesség is (Chang és mtsi 1982).

3. Célkitűzés

Munkánk során törekedtünk a búzanövény egységes rendszerként történő vizsgálatára, annak érdekében, hogy a reprodukív életszakaszban fellépő szárazság hatásának, illetve a növények által az arra adott válaszoknak minél több aspektusa szem előtt tartható legyen. Ezen válaszmechanizmusoknak, valamint a szárazságra érzékeny és toleráns genotípusok eltérő stresszválaszának összehasonlítása, a különbségek jelentőségének jobb megértése segítséget nyújthat a jövő magasabb toleranciával rendelkező fajtáinak létrehozásában, valamint az eljövendő generációk élelmiszerrel való ellátásában.

A kísérletes munka kezdetén a következő célok kerültek kitűzésre:

1. A búza különböző generatív fejlődési fázisaiban (meiózis, antézis, korai szemfejlődés) alkalmazott vízmegvonás hatásának vizsgálata a termésképzést meghatározó folyamatokra, annak érdekében, hogy felmérhető legyen a vízhiány károsító hatásának fejlődési állapottól való függése.
2. A növényekben a szárazság hatására lezajló élettani folyamatok tanulmányozása fiziológiai és enzimológiai vizsgálatok segítségével, a szárazságtolerancia lehetséges elemeinek meghatározása érdekében.
3. A szárazságstressz hatására a fejlődő szemtermésekben lezajló sejt, illetve szöveti szintű strukturális változások meghatározása és kvantitatív vá tétele szövettani és statisztikai módszerek alkalmazásával.

4. Anyagok és módszerek

Az egyes fenofázisok esetében az elvégzett vizsgálatok nem egyeztek meg teljes mértékben. A meiózis idején történt a legtöbb mérés és mintavétel, hiszen ekkor a szemtermések strukturális változásai és a fotoszintetikus aktivitás változása mellett a gametogenezisre

gyakorolt hatásokat is szeretnénk volna feltárni. Ebben a fenofázisban a termőkre vonatkozó mérések mellett a porzók enzimaktivitási értékeit is mértük, valamint a kezelés végén a pollenfejlődés zavarait is vizsgáltuk. Az ozmotikus adaptáció vizsgálatát szintén a meiózis idején végeztük el. Ennek oka, hogy a későbbi fenofázisokban a zászlóslevelek növekvő szárazanyag tartalma miatt a sejtnedv hígítás nélküli kinyerése már nem volt lehetséges.

Mindhárom kezelés esetében folyamatosan követtük a talaj víztartalmának változását és mértük a fotoszintézissel összefüggő gázcseré, és fluoreszcencia indukciós paramétereket a visszaöntözést követő ötödik napig. A zászlóslevelek víztartalmához, az *in vitro* enzimaktivitás méréséhez és az enzimaktivitások szöveti lokalizálásához a kezelések végén és a visszaöntözés végén is vettünk mintát. A szemfejlődésre gyakorolt szövettani hatásokat a meiózis és antézis kori stressz esetében a megporzást követő 1. és 5. megporzást követő napok között, míg a korai szemfejlődés kori stressznél az 5. és 14. napok között követtük nyomon. Az egyes kezelések összehasonlíthatóságát a terméselemek és az érett szemtermések vizsgálatával igyekeztünk növelni.

4.1. Növényanyag és a növénynevelés körülményei

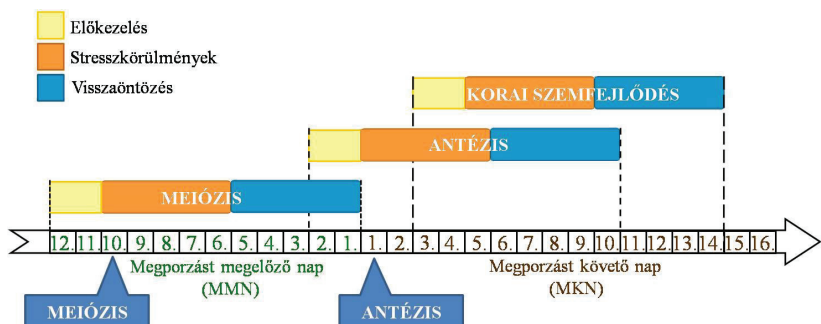
Kísérleteink során a szárazságra érzékeny Cappelle Desprez és a szárazság toleráns Plainsman V őszi búza genotípusokat (Guóth és mtsi 2009, Sečenji és mtsi 2010) vizsgáltuk annak érdekében, hogy jobban megértsük a szárazság hatására a szemtermésekben bekövetkező változásokat. A Plainsman V-öt, melyet az 1970-es évek elején az Egyesült Államokban nemesítettek (<http://genbank.vurv.cz/wheat/pedigree>), a közepes mennyiségű, kiváló minőségű termés jellemzi. A francia, 1946-os nemesítésű Cappelle Desprez intenzív termesztési feltételek között nagy mennyiségű termést ad.

A növényeket (n=112 genotípusonként) 7 hetes, 2 °C-on történő vernalizációt követően 2 liter űrtartalmú cserepekbe, szántóföldi talaj-homok-tőzeg keverékbe (3:1:1, v/v/v) ültettük, majd növénynevelő kamrákban a T1 tavaszi növénynevelő program (Tischner és mtsi 1997) alkalmazásával neveltük 250 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fényintenzitáson, a programban meghatározott nappalhossz mellett. A programnak megfelelően a maximális/minimális hőmérséklet az meiózis idejére 12,5/5,5 °C-ról 19/11 °C-ra, az antézis idejére 21/13,5 °C-ra, a korai szemfejlődés idejére pedig 23/14 °C-ra emelkedett. A növényeket a talaj vízkapacitás értékéig öntöttük az ültetéstől a kezelések kezdetéig a jó vízellátottság elérése érdekében. A

két genotípus egyedfejlődésének szinkronizálása érdekében a Cappelle Desprez fajta növényeit a Plainsman V-höz képest két héttel korábban ültették el. A megporzás idejének kontrollálása céljából a kezeletlen és a vízhiánynak kitett növények virágaiból a porzókat az antézis előtt öt nappal eltávolítottuk, a kalászokat celofán zacskókkal izoláltuk, majd azokat az antézis idején kézzel, pergetéssel poroztuk be. A terméselemek meghatározása céljából genotípusonként és kezelésként húsz-húsz növényt 23/14 °C-os végső nevelési hőmérséklet mellett teljes érésig neveltünk.

4.2. Stresszkörülmények

A szárazságstresszt hét napon át tartó, teljes vízmegvonással idéztük elő a reprodukzív életszakasz három fenofázisában: a meiózis, az antézis valamint a korai szemfejlődés idején. Méréseink szerint a vízmegvonás első két napján a stresszkörülmények még nem álltak fenn, tehát két napos előkezelésről és öt napos stresszkezelésről beszélhetünk. Az előkezelés kezdetének időpontját ennek megfelelően a meiózist illetve az antézist megelőző második napra időzítettük. A korai szemfejlődés idején az előkezelés első napja a virágzást követő harmadik napra esett. A többi növénynevelési paraméter megegyezett a kontroll növények esetében alkalmazottakkal. A kezeléseket után a növényeket újra öntözni kezdtük és a kontroll körülményeknek megfelelően teljes érettségig neveltük. Az alkalmazott kezelések időzítését és egymáshoz való viszonyát a 4. ábra mutatja be.



4. ábra. A különböző fenofázisokban alkalmazott stresszkezelések időzítése. (MMN: megporzást megelőző nap; MKN: megporzást követő nap)

4.3. A víztartalom meghatározása

A talaj térfogatarányos víztartalmát (TVT) HH2 típusú talajnedvesség-mérővel (Delta-T Devices Ltd., Cambridge, UK) mértük mind teljes víztelítettség mellett, mind pedig a szárazságkezelés végén. A méréseket mindkét módszer esetében kezelésként 15 cserépen végeztük el.

A talaj relatív víztartalmának meghatározását (RVT %) Augé és munkatársai (1998) módszerével végeztük. A cserepekben található talaj tömegét teljes víztelítettség (t_t , telített tömeg) mellett, majd a szárazságkezelés végén (t_f , friss tömeg) valamint 105°C-on történő, 24 órás szárítást követően (t_{sz} , száraz tömeg) is megmértük. A szárazságkezelés végére jellemző relatív víztartalmat a következő képlet segítségével számítottuk ki:

$$RVT(\%) = \frac{t_f - t_{sz}}{t_t - t_{sz}} \times 100$$

A zászóslevelek esetében szintén a fenti képletet alkalmaztuk, a teljes víztelítettséget egy éjszakán át történő nedves papírvattán, nedveskamrában való tartással értük el, a levelek szárítása 80°C-on, 48 órán keresztül történt.

4.4. Szövetteni vizsgálatok

A meiózis időszakában a vízmegvonás pollenfejlődésre gyakorolt hatásának vizsgálatához a mintavételt az antézis idején végeztük. A közvetlenül antézis előtt álló portokokat Carnoy fixálóval (3 rész 96%-os alkohol, 1 rész jégpecet) kezeltük, majd a dörzpreparátumokat 3%-os ecetsavas kárminnal festettük meg a vizsgálat előtt.

A szemfejlődés nyomon követéséhez szükséges mintavétel mindkét genotípusnál kezelésként három-három különböző növény főkalásának középső régiójából történt. A mintavétel a meiózis és az antézis idején alkalmazott stresszek esetében a megporzást követő első öt napon, míg a korai szemfejlődés idején kezelt növényeknél a megporzást követő 5., 7., 9., 12. és 14. napon történt. Kalászonként 10 darab, fejlődésben lévő, megtermékenyített termőt kémiai módszerrel, 2,5% (v/v) glutáraldehid és 4% (w/v) formaldehid tartalmú 50 mM-os Na-kakodilát pufferben (pH 7,2) fixáltunk. A mintákat 50 mM-os Na-kakodilát

pufferben (pH 7,2) való mosás után emelkedő koncentrációjú (25%, 50%, 70%, 90%, 96%, 100%, 100%) etilalkohol-sorban víztelenítettük. Ezt követően a minta epoxi gyantával való átitatása következett, mely több lépésben, a gyanta egyre emelkedő (30%, 60%, 90%) koncentrációjú etilalkoholos oldatában, végül pedig koncentrált gyantában történt, Spurr (1969) módszere szerint. A gyantát szárítószekrényben 65°C-on 48 órán át polimerzáltattuk. A termékből azok hosszanti szimmetriasíkjával párhuzamos félvékony (1 μ m vastagságú) metszeteket készítettünk az Ultracut-E mikrotom (Reichert-Jung, Heidelberg, Germany) segítségével. A szénhidrátok jelölésére 0,5% (w/v) perjódsvavas Schiff (PAS), a fehérjék jelölésére pedig 0,2% (w/v) Coomassie Brilliant Blue festést alkalmaztunk. A megfestett metszeteket Depex fedőanyaggal fedtük le (EMS, Fort Washington, PA, USA). A metszetek vizsgálata a BX51 típusú fénymikroszkóppal (Olympus, Tokyo, Japan) történt, a méréseket az Image-Pro Plus 5.1 képanalizáló szoftverrel (Media Cybernetics Inc., Bethesda, USA) végeztük. Az embriók méretét azok transzverzális középsíkjában készült metszetein határoztuk meg, az embrió átmetszeti területének mérésével. Az érett embriók méretének meghatározása a szemek szimmetriasíkjában történő szétvágása után Zeiss Stereo Discovery sztereomikroszkóp (Jena, Germany) és az említett képfeldolgozó szoftver használatával történt.

4.5. Sztereológiai analízis

A fejlődő szemtermések endospermium sejtjeiben található keményítőszemcsék, és fehérjetestek számának meghatározására sztereológiai analízist végeztünk. Mindkét genotípus fejlődő szemterméseiből mintákat gyűjtöttünk az egyes kezelések végén, és a visszaöntözést követő 5. napon. Az A és B típusú keményítőszemcsék, valamint a fehérjetestek és az endospermium sejtek egységnyi térfogatban előforduló számát Weibel és Gomez (1962) módszere alapján számítottuk ki, melyhez kezelésként és genotípusonként három különböző kalász középső régiójának virágaiból származó szemterméseit (n=3 genotípusonként és kezelésként) használtuk fel. A beágyazott szemtermésekből készített, véletlenszerűen kiválasztott félvékony metszeteken végeztük el a sejtek és a sejtalkotók egységnyi felületre eső számának, a térfogati denzitásoknak valamint a β koefficiens számításához szükséges sejtalkotó méretek meghatározását. A mérésekhez szükséges felvételeket a BX51 mikroszkóphoz (Olympus, Tokyo, Japan) kapcsolt C8484 kamera

(Hamamatsu Photonics Co., Hamamatsu, Japan) segítségével készítettük. A sejtek és sejtalkotók mennyiségének, valamint azok méretének meghatározása a Cell^P képanalizáló program (Olympus, Tokyo, Japan) segítségével történt.

4.6. Pásztázó elektronmikroszkópia

Az érett, légszáraz szemtermések endospermiumában található keményítőszemcsék eloszlását pásztázó elektronmikroszkóppal vizsgáltuk. Kontroll és szárazságkezelt növényekből származó érett szemterméseket (n=5 kezelésként) gyűjtöttünk genotípusonként három-három különböző kalászból. A szemterméseket megfeleztük, majd katódporlasztó berendezés (sputter coater) (SCD 005, BAL-TEC AG, Liechtenstein) segítségével a minta elektromos vezetőképességének és elektron-visszaverő képességének növelése céljából arannyal borítottuk. Ezt követően Zeiss EM 910 típusú elektronmikroszkóppal pásztázó üzemmódban, szekunder elektron (SE) detektor alkalmazásával 20 kV gyorsítófeszültség mellett vizsgáltuk.

4.7. A fotoszintetikus folyamatok vizsgálata

Az alkalmazott kezelések fotoszintetikus folyamatokra kifejett hatását LCi infravörös gázanalizátorral (ADC BioScientific Ltd., Hertfordshire, UK) végeztük. A fotoszintézissel összefüggő paraméterek közül a nettó széndioxid asszimilációs ráta (A_{net}), a sztómakonduktancia (g_s) valamint az intercelluláris széndioxid koncentráció (C_i) kerültek meghatározásra a nevelési fényintenzitáson (a fényintenzitás a mintakamrában $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ volt), átlagosan 400 vpm ($\text{cm}^3 \text{ m}^{-3}$) referencia CO_2 koncentráció mellett a vízmelegvonal kezdetét megelőző naptól a visszaöntözést követő ötödik napig. A méréseket minden esetben azonos napszakban végeztük a kamra fényviszonyainak állandósága érdekében, melyet a műszer fénymérőjével ellenőriztünk. A műszer mintakamrájának alapterülete $5,8 \text{ cm}^2$, amit mérésenként egyazon növényről származó két zászlóselevél átfedés nélküli behelyezésével töltöttünk meg. A behelyezés után a steady state állapot beállásáig vártunk (5-30 perc a növények állapotától függően), a mért adatokat csak ezt követően regisztráltuk. A közölt adatok három ismétlés átlagából származnak.

A fotokémiai folyamatokat klorofill fluoreszcencia-indukciós vizsgálatokkal jellemeztük. Ennek során a második fotokémiai rendszer (PS II) effektív kvantumhatásfokát határoztuk meg (quantum yield, Φ_{PSII}) a PAM-2000 (Walz, Németország) klorofill fluorométer segítségével. A méréseket a vízmegvonás kezdetét megelőző naptól a visszaöntözést követő ötödik napig végeztük. A mérések során a levelek fényadaptációjához folyamatos, közepes intenzitású aktinikus fényt használtunk (erőssége $250 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) (F_i). A fényadaptált minta maximális fluoreszcenciájának meghatározásához (F_m') telítési fényimpulzust alkalmaztunk (időtartama 0,7 s, erőssége körülbelül $3500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$). A PS II effektív kvantumhatásfokát a következő egyenlet alapján számoltuk ki:

$$(\Delta F/F_m') = (F_m' - F_i)/F_m'$$

A közölt adatok három ismétlés átlagából származnak.

4.8. Kolorimetriás enzimaktivitás mérés

A szénhidrát anyagcserében fontos szerepet játszó savas invertáz valamint szacharóz szintáz enzimek aktivitásának mérését kolorimetriás módszerekkel végeztük. A mintavétel mindhárom fenofázis esetén a stresszkezelés végén, valamint az öt napos visszaöntözési periódus végén történt. A meiózis idején alkalmazott kezelés során portokokból és megtermékenyítetlen magkezdeményekből, míg a másik két kezelés esetében a már megtermékenyített magkezdeményekből vettünk mintát.

Az oldható savas invertázok aktivitását Miller (1959) módszere szerint, kisebb változtatásokkal mértük meg. Az enzim kivonását kisméretű, előhűtött dörzsmozsárban, jégen, kvarchomokkal való eldörzsölés útján végeztük. A felhasznált kivonó puffert (100 mM Tris-HCl, 10 mM izoaszkorbát, 5 mM β -merkaptotanol, 1mM PMSF, pH 7,2) 3:1 arányban adtuk a növényi szövetekhez (3 ml/1g minta). A homogenizátum ultracentrifugálása után (26000 g, 30 perc) a felülúszót használtuk fel. A reakciópuffer (40 mM Na-acetát) 362,5 μl -éhez 25 μl felülúszót adtunk, majd 2 perces, 30°C -on történő inkubáció után az enzimreakciót 362,5 μl , 50 mM koncentrációban szacharózt is tartalmazó reakciópufferrel indítottuk el. Harminc perces, 30°C -on történő inkubáció után az elegyhez 250 μl dinitro-szalicilsav (DNSA) reagenst (30% kálium-nátrium tartarát, 16% NaOH, 1% 3,5-dinitro-szalicilsav)

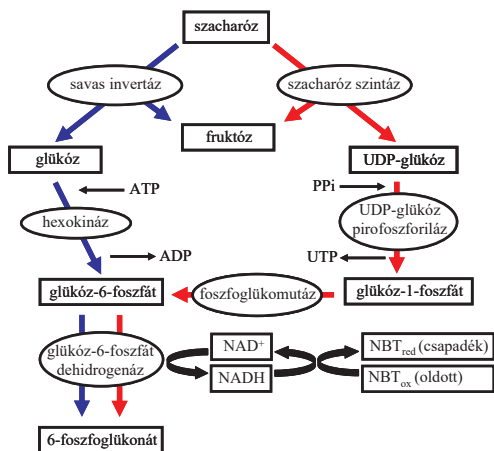
adtunk. Az elegyet 5 percig 100°C-on tartottuk, majd lehűtés után a minták extinkcióját fotométerrel 540 nm-es hullámhosszon mértük meg.

A szacharóz szintáz esetében eltérő kivonó puffert alkalmaztunk Ranwala és Miller (1998) módszerének megfelelően (100mM HEPES/NaOH puffer, 10 mM izoaszorbát, 3 mM MgCl₂, 25 mM DTT, 1 mM EDTA, 1% glicerol, 0,05% Triton X-100, pH 7,5). Az eldörzsölést 5:1 arányban végeztük. A reakciópuffer összetétele a következő volt: 4 ml reakcióterfogatban 50 mM MES/NaOH, 100 mM szacharóz, 3,75 mM UDP, valamint 50 µl enzim kivonat. Az invertáznál említett előinkubációt követően a reakciót az UDP hozzáadásával indítottuk el. Tizenöt perces 30°C-os inkubáció után a reakciót 90 másodperces, 100 °C-os vízfürdőbe helyezéssel állítottuk le. A keletkezett UDP-glükóz mennyiségét egy második enzimreakció segítségével határoztuk meg. Ennek során az első reakcióból származó reakcióelegy 200 µl-ét 0,5 M glicin/NaOH pufferben (pH 8,7), 2,5 mM NAD⁺ és 20 mU UDP-glükóz dehidrogenáz (Sigma) jelenlétében, 25 °C-on, 20 percig inkubáltuk. A NAD⁺ molekulák NADH molekulákká történő konverzióját fotométer segítségével, 340 nm hullámhosszon történt méréssel mértük. Az aktivitás intenzitásának meghatározása a keletkezett UDP-glükóz molekulák mennyisége alapján történt.

Az enzimaktivitás hatására kialakuló extinkcióváltozást mindkét enzim esetében úgy kaptuk meg, hogy az inkubáció után mért extinkciókból kivontuk az előzőleg 5 perces forralással inaktivált minta („vak”) extinkciós értékeit, így a minta szénhidrát tartalma nem okozhatott eltéréseket a mért értékekben. A mérések statisztikai elemzését a három ismétlésből származó adatok átlagán végeztük el.

4.9. Az enzimaktivitások *in situ* szöveti lokalizációja

A vizsgált enzimek aktivitásának fejlődő szemtermésekben történő *in situ* szöveti lokalizációját Sergeeva és Vrugdenhil (2002) módszerének megfelelően végeztük, az invertáz és a szacharóz szintáz aktivitását különböző segítő enzimeken keresztül a NADH molekula termeléséhez kapcsolva. A keletkező NADH molekulák a reakcióelegyben jelen lévő nitrokék-tetrazólium redukciójával oldhatatlan csapadékot hoznak létre az aktivitás helyén, ezzel lokalizálva azt. Az alkalmazott reakcióutak az 5. ábrán láthatóak.



5. ábra. Az enzimaktivitások szöveti lokalizációja során alkalmazott reakciók összefoglalása Sergeeva és Vrugdenhil (2002) alapján. A kék nyilak a savas invertáz, míg a pirosak a szacharóz szintáz lokalizációja során alkalmazott enzimreakciókat jelölik.

Mindhárom stresszkezelés esetében mintát vettünk a kezelés végén illetve a visszaöntözést követő ötödik napon. A szemterméseket pengével azok középvonalában kettévágtuk, majd 4°C-on történő 1 órás kémiai fixálásnak vetettük alá (2% paraformaldehid, 2% PVP-40, 1 mM DTT, pH 7,0). Ezt követően a mintákat MilliQ vízben ötszöri vízcserevel áztattuk egy éjszakán keresztül az oldható szénhidrátok és anyagcsere termékek kimosása érdekében.

Az aktivitások festése 30°C-on 30 percig történő inkubációval 1 ml reakcióelegyben történt (1. táblázat). A festés negatív kontrolljának előállítására érdekében a reakcióelegyekből mindkét enzim esetében a szacharóz került megvonásra. A reakciót desztillált vízben történő mosással állítottuk le, majd a kialakult festődést az SZH-ILLD típusú sztereomikroszkóppal (Olympus, Tokyo, Japan) és PowerShot G6 (Canon, Japan) kamerával detektáltuk.

1. táblázat. Az enzimaktivitások *in situ* szöveti lokalizációjánál alkalmazott reakcióelegyek összetétele.

Savas invertáz		Szacharóz szintáz	
Összetevő	Végkoncentráció	Összetevő	Végkoncentráció
Na-foszfát puffer pH 6,0	38 mM	HEPES/NaOH puffer pH 7,4	50 mM
glükóz oxidáz	25 U/ ml	MgCl ₂	5 mM
fenazin metosulfát	0,014 %	EDTA	1 mM
NBT	0,024 %	BSA	0.1 %
		EGTA	1 mM
		NAD ⁺	1 mM
		foszfofólkómutáz	1 U/ ml
		glükóz-6 foszfát dehidrogenáz	1 U/ ml
		UDPGase	1 U/ ml
		glükóz 1,6 biszfoszfát	20 µM
		NBT	0,03%
Szubsztrát oldat		Szubsztrát oldat	
szacharóz	1 %	szacharóz	3,6 mM
		UDP	71 µM
		PPi	71 µM

4.10. Ozmotikus adaptáció meghatározása

A fajták ozmotikus adaptációs (OA) képességét a zászloslevelek sejtnedvének ozmotikus potenciálja alapján állapítottuk meg (Moinuddin és mtsi 2005). A kontroll és kezelt növények zászlosleveleit a meiózis idején alkalmazott stresszkezelés végén gyűjtöttük be, desztillált vízben 4 órán keresztül rehidratáltuk, majd -20°C-on lefagyasztottuk. A felolvasztást követően a sejtnedvet kézi préseléssel nyertük ki, majd annak ozmotikus potenciálját (OP) Osmomat 030 típusú fagyáspont-mérő ozmométerrel (Gonotec GmbH, Berlin, Németország) mértük meg. A mért mmol kg⁻¹ értékeket ozmotikus nyomás értékekre váltottuk át a következő egyenletnek megfelelően:

$$OP(MPa) = -R \times T \times molkg^{-1}$$

Az egyenletben az R a gázállandót, a T pedig a Kelvin skálán kifejezett hőmérsékleti értéket jelöli. A kapott ozmotikus potenciál értéket korrigáltuk az apoplasztban található víz 10%-ra becsült hígító hatásának megfelelően (Kramer 1983). Az ozmotikus adaptációt a rehidratált kontroll és kezelt zászloslevelek sejtnedvének ozmotikus potenciálkülönbségeként adtuk meg.

4.11. A termés elemek meghatározása

A kezelések termésre gyakorolt hatásának meghatározása érdekében a fajták kontroll és kezelt növényeinek főkalászeit (n=20 genotípusonként és kezelésként) a teljes érés állapotában gyűjtöttük be, majd meghatároztuk a kalászkaszámot, kalászonkénti szemszámot valamint a kalászonkénti szemtömeget. Ezen adatokból kiszámítottuk a fertilitási illetve szemkötési és ezerszemtömeg értékeket.

4.12. A csírázó képesség vizsgálata

A szemterméseket felületi sterilizálást követően nedves szűrőpapíron Petri csészékben, steril körülmények között 8°C-os hőmérsékleten 7 napon át csíráztattuk. Ezt követően meghatároztuk a csírázó szemek arányát, majd azon belül a három, kettő illetve mindössze egy csíragyökérrel rendelkező csíranövények arányát.

4.13. Statisztikai analízis

Az adatok statisztikai értékelését varianciaanalízis (SSPS for Windows, version 10.0) segítségével végeztük.

5. Eredmények

5.1. A szárazság hatása a vegetatív szövetekre és a termésre

A búza generatív fejlődési fázisának eltérő időpontjaiban (meiózis, virágzás, korai szemfejlődés) alkalmazott, megegyező időtartamú vízmegvonás fajtától függetlenül hasonló mértékben csökkentették a talaj víztartalmát (2. táblázat). Ennek ellenére a különböző kezelések során a növények eltérő mértékben mutattak a szárazságstresszre jellemző fenotípusos változásokat, ami arra utalt, hogy az azonos mértékű vízmegvonás a különböző egyedfejlődési fázisokban eltérő mértékű stresszhatást okozott (6. ábra). Ezt a zászlóslevelek eltérő relatív víztartalma is megerősítette (3. táblázat).

A meiózis idején alkalmazott vízmegvonás hatására az érzékeny genotípus leveleinek relatív víztartalma csökkent, ami az alsó levelek tömeges leszáradásában, a magasabban elhelyezkedő levelek sárgulásában és a levélvégek száradásában nyilvánult meg (3. táblázat, 6. ábra). Meg kell említenünk, hogy Cappelle Desprez fajtára kontroll körülmények között is jellemző volt a levelek kismértékű sárgulása és száradása. A meiózis során vízmegvonásnak kitett Plainsman V zászlósleveleinek relatív nedvességtartalma nem csökkent a kontrollhoz képest (3. táblázat) és a vegetatív szövetekben sem volt változás megfigyelhető (6.B ábra).

Az antézis idején fellépő szárazságstresszre mindkét fajta hasonló mértékű vízvesztéssel reagált (3. táblázat), de a levelek sárgulása és száradása ismételen az érzékeny fajtára volt jellemző (6.C, 6.D ábra). Az érzékeny fajta esetében megfigyeltük a kalászkok csúcsi részének sárgulását majd száradását is, mely az ott található szemtermések abortálódásához vezetett. A visszaöntözést követően a Plainsman V teljes, míg a Cappelle Desprez részleges regenerációt mutatott.

2. táblázat. A talaj vízmegvonás előtt és után mért víztartalma (\pm standard eltérés) RVT: relatív víztartalom, TVT: térfogatarányos víztartalom

Fenofázis	Genotípus	Talaj víztartalom (%)			
		Kezelés előtt		Kezelés után	
		RVT %	TVT %	RVT %	TVT %
Meiózis	Cappelle Desprez	87,24 \pm 16,22	38,34 \pm 3,95	28,04 \pm 11,24	10,85 \pm 0,76
	Plainsman V	80,92 \pm 10,69	35,77 \pm 3,72	33,76 \pm 7,50	11,32 \pm 0,95
Antézis	Cappelle Desprez	81,38 \pm 16,16	34,79 \pm 6,37	26,13 \pm 3,04	10,46 \pm 0,97
	Plainsman V	87,19 \pm 8,54	36,28 \pm 2,14	26,00 \pm 3,62	9,76 \pm 0,99
Korai szemfejlődés	Cappelle Desprez	89,25 \pm 13,31	38,39 \pm 5,82	27,88 \pm 2,31	11,24 \pm 0,81
	Plainsman V	86,15 \pm 15,73	32,44 \pm 7,38	22,42 \pm 3,28	9,34 \pm 1,16

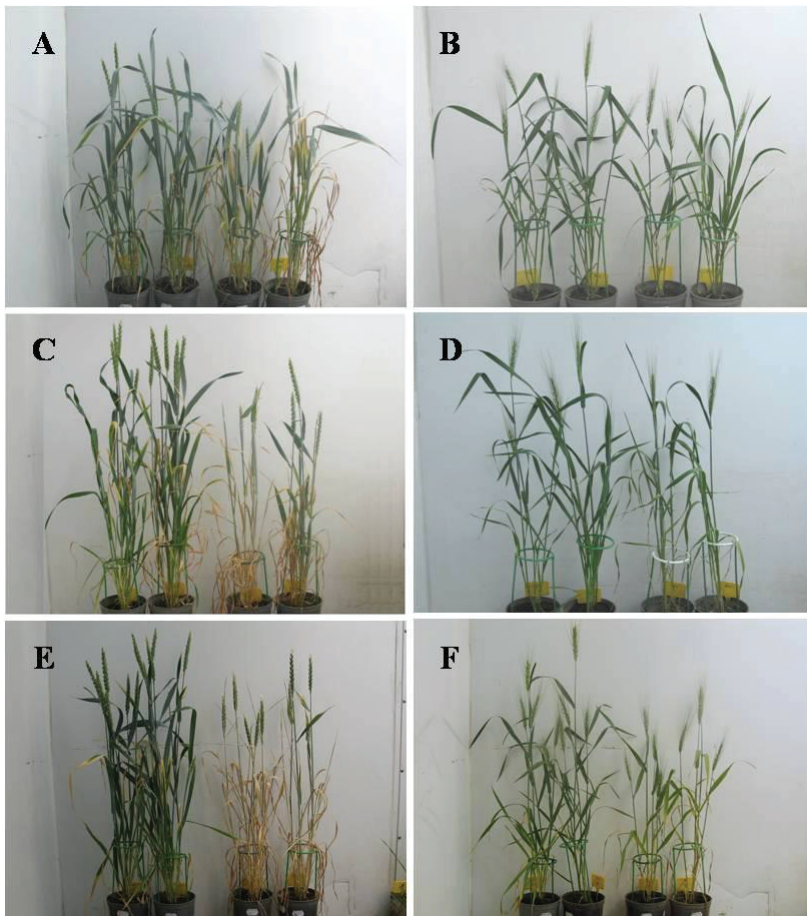
A korai szemfejlődés idején alkalmazott stressz hatására a levelek hervadása a kezelés harmadik napjától volt megfigyelhető, majd az ötödik napra a levelek besodródtak. Mindkét fajta esetén sárgulást figyeltünk meg, a visszaöntözést követően azonban csupán a Plainsman V fajta levelei rehidratálódtak (3. táblázat) és regenerálódtak. A vegetatív szervek regenerációja az érzékeny Cappelle Desprez genotípus esetén a növények többségénél elmaradt (3. táblázat; 6. E, 6. F. ábra).

3. táblázat. A fajtákra jellemző, a kezelések végén és az öt napos visszaöntözési periódust követően mért zászlóslével víztartalom értékek (\pm standard eltérés).

Fenofázis	Genotípus	Zászlóslével víztartalom (RVT %)		
		Kontroll	Kezelés végén	Visszaöntözés végén
Meiózis	Cappelle Desprez	84,68 ^a ±4,22	55,11 ^{bc} ±8,70	84,65 ^b ±0,31
	Plainsman V	87,31 ^a ±4,74	82,19 ^a ±3,40	78,56 ^c ±1,14
Antézis	Cappelle Desprez	79,41 ^a ±4,65	56,95 ^{bc} ±10,29	85,25 ^{ab} ±0,73
	Plainsman V	85,97 ^a ±7,88	64,21 ^b ±5,47	87,22 ^a ±1,29
Korai szemfejlődés	Cappelle Desprez	80,55 ^a ±2,46	36,95 ^c ±15,28	31,03 ^d ±27,62
	Plainsman V	82,41 ^a ±4,23	48,58 ^c ±2,65	59,58 ^{cd} ±21,81

Az oszlopokon belül az eltérő betűk az átlagértékek szignifikáns eltérését jelölik a $P \leq 0,05$ valószínűségi szinten.

A szárazságstressznek kitett növények szemfeltöltődési és érési időszaka a kontroll növényekhez viszonyítva genotípustól függetlenül tíz nappal lerövidült. A kezelés hatására az érett szemtermések zsugorodottak voltak és a szárazságra érzékeny Cappelle Desprez kalászainak felső harmadában a magkezdemények jelentős része abortálódott. A meiózis és az antézis idején fellépő vízhiány hatására mindkét genotípus növénymagassága szignifikánsan lecsökkent (4. táblázat). Ezzel szemben a korai szemfejlődés alatti stressz hatására a hajtások hossza nem különbözött a kontrolltól (4. táblázat). A különböző egyedfejlődési fázisokban alkalmazott kezelések eltérő mértékben csökkentették az egyes fajták fertilitását, illetve szemkötését (4. táblázat). A meiózis és virágzás idején alkalmazott vízmegvonás hatására a Plainsman V fertilitása, illetve szemkötése nem változott szignifikánsan, ugyanakkor a fajta korai szemfejlődés idején kezelt növényeinek szemkötése 18%-kal csökkent. Ezzel szemben az érzékeny Cappelle Desprez fertilitása a meiózis idején fellépő vízmegvonás hatására 16%-kal, szemkötése az antézis idején és a korai szemfejlődés idején ható stressz következtében 43%-kal, illetve 53%-al csökkent (4. táblázat).



6. ábra. Az eltérő fenofázisban alkalmazott vízmegvonás hatására kialakult változások a Cappelle Desprez (A, C, E) és a Plainsman V (B, D, F) hajtásának vegetatív szerveiben. A-B: meiózisz; C-D: antézisz; E-F: korai szemfejlődés. A képek az öt napos visszaöntözési periódust követően készültek. A képek bal oldalán 2-2 kontroll növény, jobb oldalán 2-2 vízmegvonásnak kitett növény látható.

A szárazság által kiváltott ezerszemtömeg (ESZT) csökkenés a meiózisz idején kezelt Plainsman V kivételével mindkét fajta és minden kezelés érett szemterméseinél megfigyelhető volt (4. táblázat). Mindkét genotípus esetén a korai szemfejlődés idején adott stressz okozta a legnagyobb károsodást. A Plainsman V esetében megjelenő nagyobb mértékű ESZT csökkenés a jobb szemkötés, tehát a magasabb szemszám következménye volt.

A kezelések hatására a kalászonkénti termés mindkét genotípusnál szignifikánsan csökkent, de a Plainsman V valamennyi kezelésre szignifikánsan ($P \leq 0,05$) alacsonyabb termésveszteséggel reagált, mint a Cappelle Desprez (4. táblázat). A szemtermések tömege fajtától függetlenül különösen a kalászok felső harmadában mutatott jelentős csökkenést.

4. táblázat. A kontroll és kezelt Cappelle Desprez és Plainsman V növényekre jellemző növénymagasság, fertilitás/szemkötés, ezerszem-tömeg, valamint kalászonkénti termés értékek (\pm standard eltérés).

Fajta	Kezelés	Növénymagasság (%)	Fertilitás/szemkötés(%)	Ezerszemtömeg (g)	Kalászonkénti termés (mg)
Cappelle Desprez	kontroll	70,5 ^a \pm 3,4	69,9 ^a \pm 7,5	27,7 ^c \pm 5,6	1115,3 ^b \pm 232,9
	meiózisz	58,4 ^b \pm 4,1	58,4 ^b \pm 9,3	22,3 ^d \pm 4,0	715,0 ^d \pm 70,0
	antézisz	61,2 ^c \pm 5,4	40,1 ^c \pm 17,8	19,6 ^d \pm 9,0	494,9 ^e \pm 249,6
	korai szemfejlődés	70,2 ^a \pm 3,5	32,6 ^c \pm 12,1	13,5 ^e \pm 5,2	252,0 ^f \pm 132,8
Plainsman V	kontroll	72,2 ^a \pm 3,5	70,0 ^a \pm 4,8	42,4 ^a \pm 6,2	1421,6 ^a \pm 267,0
	meiózisz	59,8 ^b \pm 5,6	65,0 ^b \pm 7,2	36,2 ^{ab} \pm 8,1	956,4 ^c \pm 240,7
	antézisz	63,3 ^c \pm 3,1	74,4 ^a \pm 7,6	30,1 ^{bc} \pm 10,9	927,8 ^{bc} \pm 316,1
	korai szemfejlődés	73,1 ^a \pm 3,0	57,3 ^b \pm 7,8	16,1 ^c \pm 5,5	420,5 ^f \pm 166,9

Az oszlopokon belül az eltérő betűk az átlagértékek szignifikáns eltérését jelölik a $P \leq 0,005$ valószínűségi szinten.

5. táblázat. A különböző időpontban alkalmazott vízmegvonás hatása a fejlődésben lévő, valamint az érett szemtermésekben található embriók méretére. Az adatok a kezelt szemterméskből származó embriók méretének a kontrollhoz viszonyított százalékos arányát jelölik.

Kezelés	Fajta	Az embriók mérete a kontroll arányában (%)					Érett szemtermés
		Megtermékenyítést követő nap					
		1	2	3	4	5	
Meiózisz	Cappelle Desprez	92,7 ns	92,2 ns	89,1 ns	75,3 *	54,4 ***	87,6 **
	Plainsman V	92,8 ns	85,7 ns	101,4 ns	98,1 ns	105,6 ns	95,6 ns
Antézisz	Cappelle Desprez	103,9 ns	91,6 ns	83,9 *	80,9 **	94,7 ns	79,0 ***
	Plainsman V	103,8 ns	78,7 *	77,0 **	61,9 **	94,9 ns	87,9 **
		Megtermékenyítést követő nap					Érett szemtermés
		5	7	9	12	14	
Korai szemfejlődés	Cappelle Desprez	99,3 ns	117,2 ns	193,6 **	119,6 *	130,7 **	57,8 ***
	Plainsman V	101,5 ns	130,0 ns	151,7 *	157,9**	126,5 **	74,2 ***

*** $p \leq 0,0005$, ** $p \leq 0,005$, * $p \leq 0,05$ valószínűségi szinten szignifikáns; ns nem szignifikáns

5.2. Szövetteni vizsgálatok

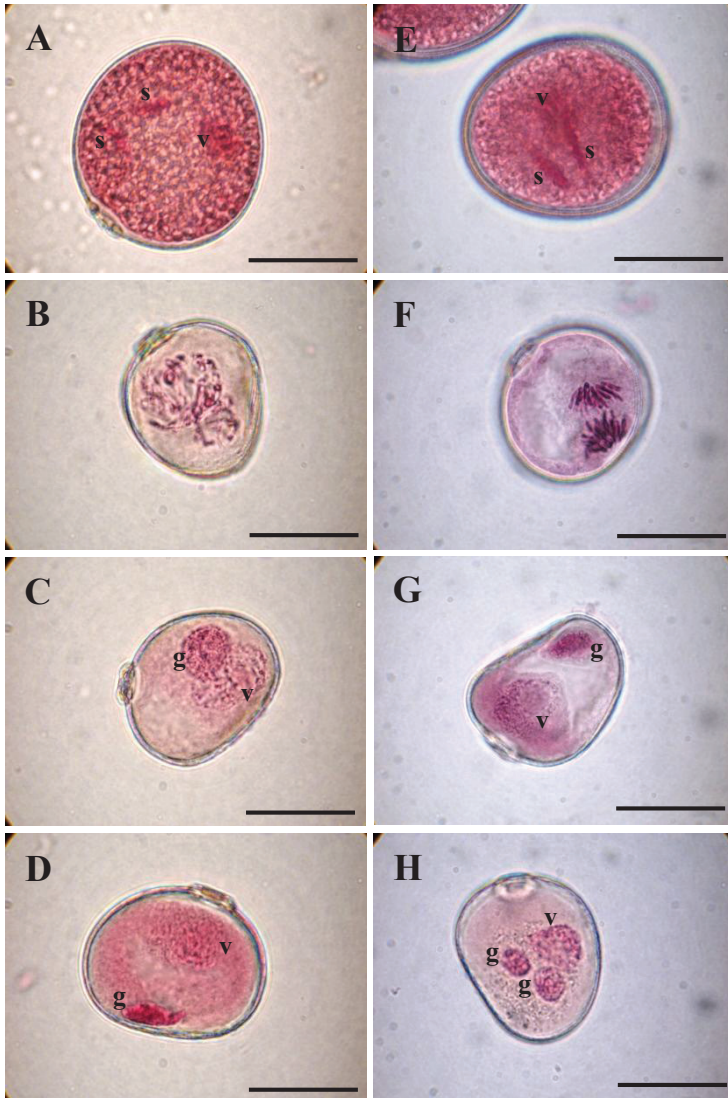
5.2.1. A gametogenezisre gyakorolt hatások

5.2.1.1. A pollenfejlődésben bekövetkezett változások

A meiózis idején alkalmazott vízmegvonás negatív hatást gyakorolt a pollenszemek fejlődésére (7. ábra). A szárazság hatására a Cappelle Desprez portokjainak mérete lecsökkent és a virágokon belül a portokok mérete heterogénné vált. A Plainsman V virágaiban a kontrollal összehasonlítva nem volt eltérés az antérák méretében. A kontroll növények portokjaiban a normális fejlődésű, azaz három sejtmagvas, nagy mennyiségű keményítőt tartalmazó pollenek aránya mindkét genotípusnál meghaladta a 97%-ot. A kezelt növények portokjaiban a normálisan fejlődött pollenszemek gyakorisága szignifikánsan ($P \leq 0,005$) magasabb volt a Plainsman V ($86,7 \pm 9,8\%$), mint a Cappelle Desprez esetében ($63,5 \pm 16,2\%$). A citológiai vizsgálatok alapján megállapítottuk, hogy a vízmegvonás hatására a pollenszemek egy részének fejlődési üteme elmaradt a kontrolltól. A hárommagvas, nagy mennyiségű keményítőt felhalmozó pollenformák (7. A, E ábrák) mellett mindkét genotípus portokjaiban megfigyelhetők voltak a fejlődés korábbi szakaszaiban megrekedt, az első mitózis folyamatában levő mikroszporák (7. B, F ábrák), korai (7. C ábra) és kései állapotú kétmagvas pollenek (7. D, G ábrák). Emellett három sejtmagvas, ám a sikeres pollentömlő hajtáshoz nélkülözhetetlen tartalék keményítőt felhalmozni képtelen pollenszemeket is találtunk (7. H ábra).

5.2.1.2. A petekészülék fejlődése

A szövetteni vizsgálatok alapján megállapítottuk, hogy a meiózis idején szárazságstresszt elszenvedett termőkben sem a petesejt, sem pedig a mellette elhelyezkedő szinergida sejtek szerkezetében nem volt a kontrolltól eltérő morfológiai változás kimutatható.



7. ábra. A Cappelle Desprez (A-D) és Plainsman V (E-H) portokjaiban víziányos körülmények között fejlődő pollensejtek és mikrspórák fénymikroszkópos felvételei. Normális fejlődésű pollenformák (A, E), a fejlődés korábbi szakaszaiban megrekedt mikrspórák (B, F), korai kétmagvas pollen (C), kései kétmagvas pollen (D, G), három sejtmagvas, keményítőt nem tartalmazó pollen (H). g: generatív sejtmag; s: spermasejt; v: vegetatív sejtmag. Bar: 20 μ m.

5.2.2. Az embrió fejlődésére gyakorolt hatások

Az embriófejlődés folyamata eltérő reakciót mutatott a különböző fenofázisban alkalmazott kezelések hatására. A meiózis idején ható stressz a Cappelle Desprez embriók méretbeli növekedésében már a fejlődés korai fázisában (negyedik és ötödik nap) lemaradást okozott és az érett szemtermések mérete 12,4%-kal elmaradt a kontrolltól. Ezzel szemben a kezelt Plainsman V embriók mérete a szemtermés fejlődésének kezdetén nem különbözött szignifikáns mértékben a kontrolltól, és az érett szemtermésekből izolált embriók mérete is csupán 4,4%-kal csökkent (5. táblázat).

Az antézis idején a Cappelle Desprez kezelt embrióinak mérete a harmadik és negyedik napon, míg a Plainsman V a második és negyedik napok között különbözött szignifikáns mértékben a kontrolltól (5. táblázat). Bár az ötödik napon sem a Cappelle Desprez, sem a Plainsman V esetén nem figyeltünk meg különbséget a kontroll és a kezelt embriók mérete között, az érett szemtermésekben fejlődő embriók mérete 21%-kal, illetve 12,1%-kal maradt el saját kontrolljától (5. táblázat, Függelék Kiegészítő ábra 1-10A, B).

A korai szemfejlődés időszakában ezzel ellentétes módon a kezelt embriók mérete meghaladta a megegyező korú kontroll embriókra jellemző értéket (5. táblázat, Kieg. ábra 11-18A, B). Ez a különbség mindkét fajta esetében szignifikáns volt a megporzást követő kilencedik és tizennegyedik napok között. Az embriók növekedési intenzitásának fokozódása azonban a későbbi fejlődés során lecsökkent, így a szárazságstressznek kitett növényekben fejlődő embriók végső mérete a Cappelle Desprez esetén 44,2%-kal, a Plainsman V esetén 25,8%-kal maradt el saját kontrolljától (5. táblázat). Az eredmények alapján megállapítható, hogy a legnagyobb mértékű növekedésbeli csökkenést mindkét genotípus embrióinál a korai szemfejlődés időszakában fellépő vízhiány okozta.

A Plainsman V szárazságkezelt embrióiban már a fejlődés hetedik napján elkezdődött a differenciálódás, melynek következtében megkülönböztethetővé vált az embrió hajtáspólusa és a szkutellum (Kieg. ábra 12B). A fajta kontroll embriói valamint a Cappelle Desprez kontroll és kezelt embriói is gömbstádiumúak voltak ebben a korban (Kieg. ábra 11A, B; 12A, B). Ez utóbbi embrióknál a hajtás, illetve a gyökérpólus a Plainsman V kezelt embrióihoz képest két nappal később, a megporzást követő kilencedik napon vált megkülönböztethetővé (Kieg. ábra 13A, B; 14A). A kezelt embriók a fejlődés kilencedik, tizenkettedik és tizennegyedik napján a kontrollokhoz képest szignifikánsan nagyobbak és differenciáltabbak voltak (5. táblázat, Kieg. ábra 13-18A, B). A két genotípust összehasonlítva elmondható, hogy a Plainsman V embriók növekedési üteme és differenciáltsága meghaladta a Cappelle

Despreznél megfigyelteket. A 14 napos Plainsman V embriók vizsgálata során világosan elkülöníthető volt a rügyhüvely, a levélkezdemények, a mezokotil, a gyökércsúcs és a gyökérhüvely, szemben az azonos korú Cappelle Desprez embriókkal, melyeknél nem volt ilyen mértékű differenciáltság megfigyelhető (Kieg. ábra 17B, 18B). A keményítőszemcsék jelenléte a tizennegyedik napon valamennyi embrióra jellemző volt, a szárazságstressz nem volt hatással a szemcsék megjelenési idejére vagy számára.

5.2.3. Az endospermium fejlődését érintő változások

A meiózis idején alkalmazott szárazság egyik fajta esetében sem befolyásolta a fejlődő endospermium szövettani jellemzőit a megporzást követő 1-5 nap folyamán. Az embrióközeli endospermium sejtesedése genotípustól és kezeléstől függetlenül a megporzást követő 3. napon, a perifériás endospermium sejtesedése az 5. napon következett be.

A virágzás idején alkalmazott vízmegvonást követően a perifériális endospermium szinciciális magosztódása fajtától és kezeléstől függetlenül azonos ütemben zajlott (Kieg. ábra 1-7C-F) és a 3. napra bekövetkezett az embrióközeli endospermium sejtesedése (Kieg. ábra 1-10C, D). Az ovulum üregének egy rétegben való kibélelése után a perifériális endospermium sejtfalainak szintézise a Plainsman V esetében a kontrollt egy nappal megelőzve már a negyedik napon elkezdődött (Kieg. ábra 8E, F). Ez a folyamat a szárazságstressznek kitett Cappelle Desprez szemtermésekben a kontroll körülmények között kialakuló endospermiummal azonos módon, a megporzás utáni ötödik napon ment végbe (Kieg. ábra 9E, F). A perifériás endospermium sejtfalainak szintézisével egy időben elkezdődött a keményítő felhalmozása a raktározó sejtekben (Kieg. ábra 8E, F; 9E, F). A két fajta fejlődési aszinkronitásából eredően az 5 napos Plainsman V endospermium sejtek a Cappelle Desprez-vel összehasonlítva nagyobb mennyiségű keményítőszemcsét halmoztak fel (Kieg. ábra 9E, F; 10 E. F).

A korai szemfejlődés idején ható szárazság az endospermium és az aleuron réteg fejlődésére is jelentős hatást gyakorolt. Az embrióközeli endospermium sűrű citoplazmával rendelkező sejtjei mindkét genotípusnál a megporzást követő hetedik napig támogatták az embriók fejlődését (Kieg. ábra 11C, D; 12C, D), majd a 9. naptól kezdődően fokozatosan vakuolizálódtak és degradálódtak. A folyamat a kezelt szemtermésekben mindkét fajtánál gyorsabban játszódott le (Kieg. ábra 13C, D; 14C, D). A szkutellummal szomszédos endospermium kiürült sejttrégei a kezelt magkezdeményekben a fejlődés tizenkettedik

napjára jelentősen összetömörödtek, mivel a rétegek egyik oldalán a keményítős endospermium, a másikon pedig az embrió ment át jelentős méretnövekedésen (Kieg. ábra 15C, D; 16C, D). Míg a kezelt szemtermésekben a megporzást követő tizennegyedik napra a kiürült endospermium sejtek falainak tömege mindössze egy összeroppant réteg formájában volt jelen, a kontroll termőkben a folyamat csupán néhány sejszori endospermiumot érintett (Kieg. ábra 17C, D; 18C, D).

A kezelt szemterméseknél a periklinárisan osztódó aleuron és szubaleuron rétegek már a fejlődés 9. napján megkülönböztethetőek voltak a keményítős endospermium sejtektől (Kieg. ábra 13G, H; 14G, H). Ezek az egy sejsor vastagságú rétegek a fejlődő endospermium külső rétegét alkotják, centrálisan elhelyezkedő, nagy sejtmagjukat körülvevő számos vezikulumuk pedig egyértelműen megkülönbözteti őket a keményítős endospermium sejteitől. Az aleuron és szubaleuron sejtek elkülönülése a kontroll szemtermésekben csak három nappal később, a tizenkettedik napon volt megfigyelhető (Kieg. ábra 15G, H; 16G, H). Ez a fejlődésbeli különbség a kontroll és kezelt magkezdemények között a 14 napos szemtermések esetén is megfigyelhető volt (Kieg. ábra 17G, H; 18G, H). A tizenkettedik napra a kezelt szemtermések aleuron sejtjeiben található vakuólumok a kontrolltól eltérően már protein mátrixba ágyazott zárványokat is tartalmaztak (Kieg. ábra 15G, H; 16G, H). A réteg fejlődése során ezek a struktúrák végül érett aleuron szemcsékké differenciálódtak. A szubaleuron sejtekben az említett raktározó vakuólumok nem voltak megfigyelhetőek, ehelyett a bennük felhalmozódó keményítőszemcsék és nagy fehérjetestek jeleztek keményítős endospermium sejtekké való redifferenciációjukat. Az aleuron sejtek sejtfalai a megporzást követő tizennegyedik napra a kezelt szemtermésekben genotípustól függetlenül nagymértékben megvastagodtak és a sejteket sűrűn elhelyezkedő aleuron szemcsék töltötték ki (Kieg. ábra 17H, 18H).

5.2.4. Az embrió és az endospermiumot körülvevő sejtrétegek változásai

A perikarpium és a megtermékenyítést követően létrejött szövetek között elhelyezkedő sejtrétegek változásait félvékony metszeteken vizsgáltuk. Ennek során nyomon követtük a harántsejtek (cross cells) és a tömlősejtek (tube cells) rétegeinek, a külső és belső integumentum két-két sejtrétegének, és a nucellusz epidermiszének vízmegvonás hatására bekövetkezett változásait (Kieg. ábra 1-17 G-H).

A meiózis illetve a korai szemfejlődés idején alkalmazott szárazság az általunk vizsgált periódusban egyik fajta esetében sem okozott változást a sejtrétegek fejlődésében. A két fajta között kizárólag a külső integumentum tekintetében volt eltérés kimutatható. A Cappelle Desprez esetében a külső integumentum két sejtrétege a megtermékenyítést követő második napig tartotta meg változatlan struktúráját (Kieg. ábra 3 G-H), majd ettől a naptól kezdődően a sejtek degenerálódtak, az negyedik napra pedig össztömörödtek és eltűntek (Kieg. ábra 5 G-H). A Plainsman V termőiben ez a folyamat egy nappal korábban zajlott le. A megporzás utáni második napon a külső integumentum két rétegének sejtei már elvesztették citoplazmájukat, a harmadik napon fehérjében gazdag, nem sejtes réteggé váltak jelen, majd a negyedik naptól nem voltak észlelhetőek (Kieg. ábra 4, 6, 8 G-H). A többi sejtrétegben nem volt a kontrollhoz képest változás megfigyelhető.

A korai szemfejlődés idején vízmegvonásnak kitett növények kalászaiban fejlődő szemterméseknél a harántsejtekből található kloroplasztiszok keményítő felhalmozását figyeltük meg genotípustól függetlenül a megporzást követő hetedik napig, majd a megporzást követő tizennegyedik napra a keményítőszemcsék csaknem teljesen eltűntek ebből a sejtrétegből (Kieg. ábra 17H, 18H). Ezzel szemben a kontroll szemtermések harántsejtjeiben a keményítőszemcsék erőteljes PAS festődést mutattak (Kieg. ábra 17G, 18G). A tömlősejtek rétege a kezelt szemtermésekben a tizennegyedik napon is megfigyelhető volt, a kezelés hatására azonban már korábban, a tizenkettedik napon degradálódni kezdett (Kieg. ábra 15G, H, 16G, H).

A belső integumentum (a későbbi teszta) belső sejtsorában a gyantaszertű komponensek felszaporodása a kezelt Plainsman V növények esetében a kezelt Cappelle Desprez-vel és a kontrollokkal összehasonlítva két nappal korábban, hét napos korban volt megfigyelhető (Kieg. ábra 12H). Bár a kontroll szemeknél a megporzást követő tizennegyedik napon az ovulum belső integumentumának mindkét sejtrétege megtalálható volt, a kezelt szemtermésekben a belső réteg citoplazmája lebomlott. A Plainsman V esetében ez a tizenkettedik, a Cappelle Desprez szemtermésekben pedig a tizennegyedik napra következett be. A nucellusz epidermisze (a majdani hialin réteg) az aleuron réteg megjelenéséig sértetlen maradt. Ez a kontroll növényeknél tizenkét napos (Kieg. ábra 15G, 16G), míg kezelt esetben kilenc napos korban következett be (Kieg. ábra 13H, 14H). A szemfejlődés tizennegyedik napjára a kezelt Plainsman V szemtermésekben a belső integumentum belső rétegének, valamint a nucellusz epidermiszének sejtfalai az aleuron réteg és a tömlősejtek sejtsorai között összenyomódtak és belőlük a teszta és a hialin rétegek jöttek létre (Kieg. ábra 18H).

Ebben az időpontban a kezelt Cappelle Desprez szemtermésekben csupán a hialin réteg volt megfigyelhető (Kieg. ábra 17H).

5.3. Sztereológiai analízis

Vizsgálataink során megállapítottuk, hogy az alkalmazott kezelések közül a meiózis és az antézis idején ható szárazság egyik fajta esetében sem váltott ki szignifikáns eltéréseket az általunk vizsgált paraméterek (térfogategységre vonatkoztatott endospermium sejtszám, az A és B típusú keményítőszemcsék száma, a fehérjetestek sejtenkénti száma) tekintetében. Ezzel szemben a korai szemfejlődés idején szignifikáns mértékű különbség volt kimutatható a kontroll és a szárazságkezelte szemtermések sztereológiai jellemzői között, ennek megfelelően a továbbiakban az ezen stressz által kiváltott eltérések kerülnek tárgyalásra. Mintavételi időpontjaink a szárazságkezelés végére (9. MKN) és az öt napos visszaöntözési periódus végére (14. MKN) estek.

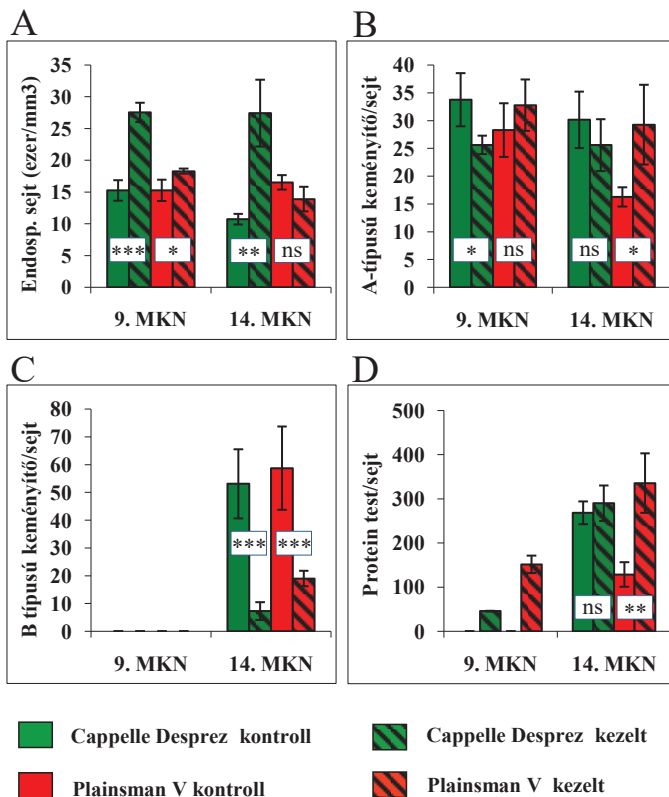
5.3.1. A korai szemfejlődés idején alkalmazott stressz endospermium sejtszámra gyakorolt hatása

A Cappelle Desprez esetében a vízmevonas hatására több mint kétszeres, szignifikáns ($P \leq 0,0005$) emelkedés volt megfigyelhető az egységnyi térfogatra eső endospermium sejtek számában a kezelés végén, tehát a megporzást követő kilencedik napon (9. MKN). Ez a különbség a visszaöntözés ötödik napján (14. MKN) is detektálható volt (8. A ábra).

5.3.2. A korai szemfejlődés idején alkalmazott stressz keményítő felhalmozódásra gyakorolt hatása

A kilencedik és tizennegyedik napon gyűjtött szemtermések félvékony metszetein végzett sztereológiai analízis különbségeket tárt fel a toleráns és az érzékeny genotípusok stresszreakciói között. A Cappelle Desprez-ből származó szárazságkezelte szemek endospermiuma a kontrollhoz viszonyítva szignifikánsan ($P \leq 0,05$) kevesebb lencse alakú, A

típusú keményítőszemcsét tartalmazott a kezelés végén, ám ez a különbség a visszaöntözést követően (14. MKN) már nem volt szignifikáns (8. B ábra).



8. ábra. A korai szemfejlődés idején alkalmazott szárazság hatása az egységnyi térfogatra eső endospermium sejtek számára (A), az A típusú keményítőszemcsék sejtenkénti számára (B), a B típusú keményítőszemcsék sejtenkénti számára (C), valamint a proteintestek sejtenkénti számára (D). MKN: megtermékenyítést követő nap; *** $p \leq 0,0005$, ** $p \leq 0,005$, * $p \leq 0,05$ valószínűségi szinten szignifikáns; ns nem szignifikáns

Ezzel ellentétben a Plainsman V kezelt endospermium sejtjeiben az A típusú szemcsék száma a kezelés végén nem különbözött a kontrolltól, azonban az 5 napos visszaöntözés végén már szignifikánsan ($P \leq 0,05$) több szemcsét figyeltünk meg (8. B ábra). A kisebb méretű, gömb alakú B típusú keményítőszemcsék megjelenése a kezelt szemtermések

esetében a tizenkettedik, míg a kontrollok esetében a tizennegyedik napon történt meg. A szárazság hatására a B típusú szemcsék térfogatarányos és sejtenkénti száma mindkét fajtánál szignifikánsan ($P \leq 0,005$) elmaradt a kontrolltól (8. C ábra). Ez a csökkenés az érzékeny fajtánál 86,3%-os, míg a toleránsnál 67,7%-os volt. A megporzást követő tizennegyedik napon az endospermium sejtek a toleráns Plainsman V szárazságkezelte magkezdeményeiben a Cappelle Desprez-hez viszonyítva szignifikánsan több B típusú szemcsét tartalmaztak (8. C ábra). Az érett endospermium sejtekről készült pásztázó elektronmikroszkópos felvételek (9. ábra) kiértékelését követően megállapítottuk, hogy a szárazságnak kitett növények érett szemterméseiben található sejtek a kontrollhoz viszonyítva kevesebb B típusú keményítőszemcsét tartalmaztak.

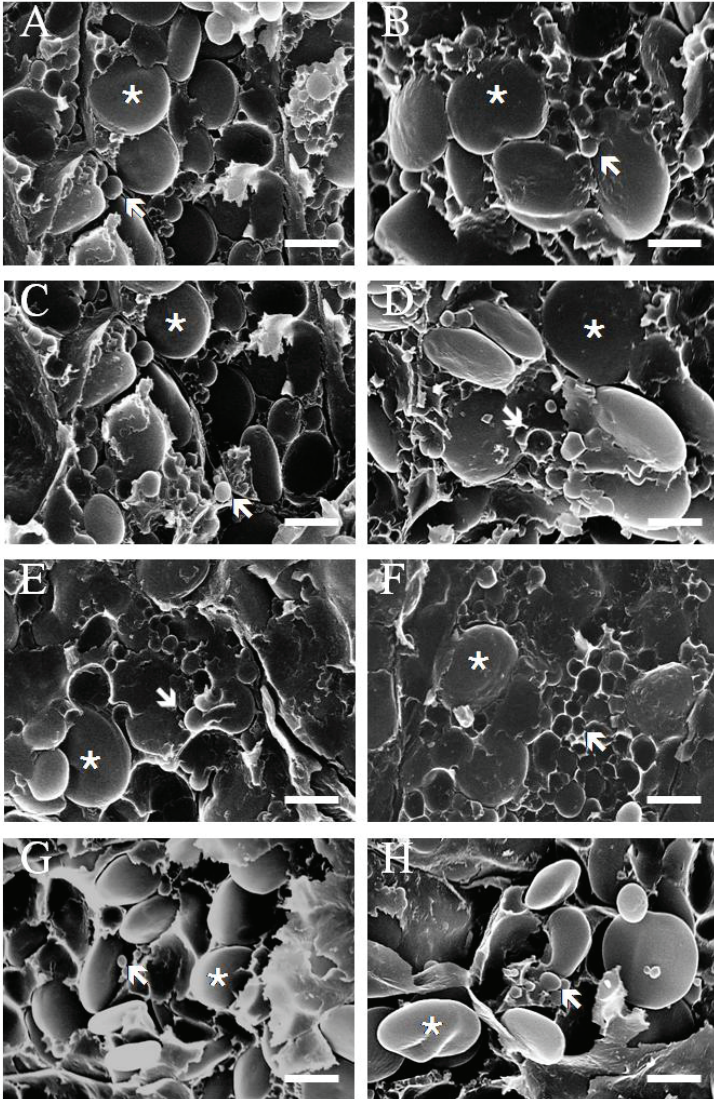
5.3.3. A korai szemfejlődés idején alkalmazott stressz fehérje felhalmozódásra gyakorolt hatása

A szárazságstressz hatására mindkét genotípus endospermiumaiban megnőtt a fehérjetestek mennyisége és mérete (8. D ábra; Kieg. ábra 17 E-F, 18 E-F). A kontrollhoz viszonyítva a kezelt szemtermésekben a fehérjetestek megjelenése két nappal korábban következett be. A megporzást követő kilencedik napon mindkét fajtánál fehérjetestek voltak megfigyelhetők az endospermium kalazális régiójában. A tizennégy napos szárazságkezelte Plainsman V szemtermések szignifikánsan ($P \leq 0,005$) több fehérjetestet tartalmaztak a kezeletlen kontrollhoz képest (8. D ábra). Ez a megnövekedett fehérjetartalom a szárazságstresszre érzékeny Cappelle Desprez fajtára nem volt jellemző.

5.4. A szárazság hatása a fotoszintetikus folyamatokra

5.4.1. A sztómakonduktancia (g_s)

Az általunk vizsgált, a fotoszintetikus rendszer működésével összefüggő paraméterek közül leggyorsabban a sztómakonduktancia (g_s) reagált a vízhiányra (10. ábra). Általánosságban elmondhatjuk, hogy mindhárom kezelés során ez a paraméter követte



9. ábra. Az érett szemtermésekből származó Cappelle Desprez (A, C, E, G) és Plainsman V (B, D, F, H) endospermium szövetek pásztázó elektronmikroszkópos felvételei. A-B: kontroll; C-D: meiózis; E-F: antézis; G-H: korai szemfejlődés. Csillag: A típusú keményítőszemcse; nyíl: B típusú keményítőszemcse. Bar: 20 μ m.

legérzékenyebben a növényekben lezajló vízpoteenciál változásokat, alakulása pedig fajta- és kezelésfüggő is volt.

A meiózis idején alkalmazott vízmegvonás hatására a toleráns Plainsman V gázcserenyílásai a szenzitív genotípussal összehasonlítva később és szignifikánsan kisebb mértékben záródtak be, majd a rehidratáció során gyorsabban nyíltak ki (10. A ábra). Az antézis idején is megfigyelhető volt ez a jelenség, azonban a legnagyobb mértékű zártág idején mindkét fajta g_s értéke a nullához közelített, közöttük pedig szignifikáns különbség nem volt kimutatható (10. C ábra).

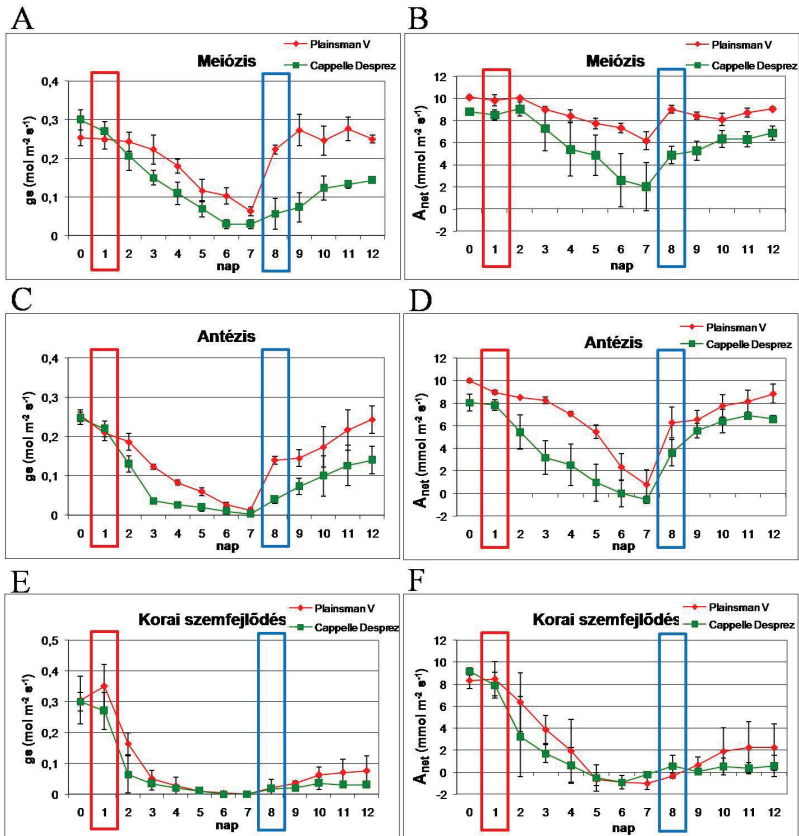
A korai szemfejlődés idején alkalmazott vízmegvonás okozta mindkét fajtánál a leggyorsabb és legnagyobb mértékű sztómakonduktancia csökkenést, az azt követő öt napos visszaöntözés pedig csupán kismértékű újbóli sztómanyitást eredményezett. A kezelés második napját kivéve a toleráns Plainsman V nem mutatott szignifikánsan magasabb g_s értéket az érzékeny fajtához képest (10. E ábra).

5.4.2. A nettó fotoszintetikus ráta (A_{net})

A nettó fotoszintetikus ráta értékei a kezelések során a sztómakonduktanciához hasonlóan alakultak. A meiózis idején a vízmegvonás hatására a toleráns Plainsman V széndioxid fixáló képessége körülbelül 40%-kal csökkent a stressz előtti illetve a kontroll növények értékéhez képest, míg a Cappelle Desprez esetében a csökkenés mértéke elérte a 70%-ot (10. B ábra). A kezelés negyedik napjától kezdve a Plainsman V szignifikánsan magasabb A_{net} értékeket produkált, mind a stressz, mind pedig az azt követő visszaöntözés folyamán.

Az antézis idején a kezelés első öt napja során, valamint a visszaöntözési periódus ötödik napján a Plainsman V szignifikánsan magasabb nettó fotoszintetikus rátát volt képes fenntartani. A kezelés végén, illetve a visszaöntözési folyamat első négy napján nem volt szignifikáns különbség a két fajta értékei között (10. D ábra), azonban a mérések utolsó napján a toleráns Plainsman V ismét szignifikánsan magasabb széndioxid fixáló képességet mutatott, ezzel ismét alátámasztva jobb regenerációs képességét.

A korai szemfejlődés idején sem a kezelés, sem pedig a rehidratáció során sem figyeltünk meg szignifikáns különbséget a kezelt Plainsman V és Cappelle Desprez zászlóslevelek nettó széndioxid fixációs képessége között (10. F ábra).



10. ábra. A sztómakonduktancia (A, C, E) és a nettó széndioxid fixációs ráta (B, D, F) alakulása a különböző fenofázisokban alkalmazott vízmegvonások hatására. A piros keret a vízmegvonás első napját, míg a kék keret a visszaöntözési periódus első napját jelöli.

5.4.3. Az intercelluláris tér széndioxid koncentrációja (C_i)

Vizsgálataink során szeretnénk volna megbecsülni a nem a sztómazárásból eredő, fotoszintézist gátló folyamatok jelentőségét az általunk alkalmazott kezeléseknél. Ennek becslése érdekében nyomon követtük a levelekben lévő intercelluláris terek CO_2 koncentráció (C_i) változásának időbeli kinetikáját. A két fajta esetében mért értékek között szignifikáns

különbség nem volt kimutatható, ám a legalacsonyabb széndioxid koncentráció elérésének napja, azaz a C_i inflexiós pont bekövetkezésének ideje fajtától és kezeléstől függően változó volt.

A meiózis idején alkalmazott stressz esetén a C_i paraméter a Cappelle Desprez zászlósleveleiben a kezelés ötödik, míg a Plainsman V leveleiben a hetedik napján érte el legalacsonyabb értékét (11. A ábra).

A C_i értékének fordulópontja az antézis kori stressz esetén előbb következett be: a szárazságra érzékeny fajtánál a vízmegvonás harmadik napján, a toleráns fajta esetén pedig a hatodikon (11. C ábra).

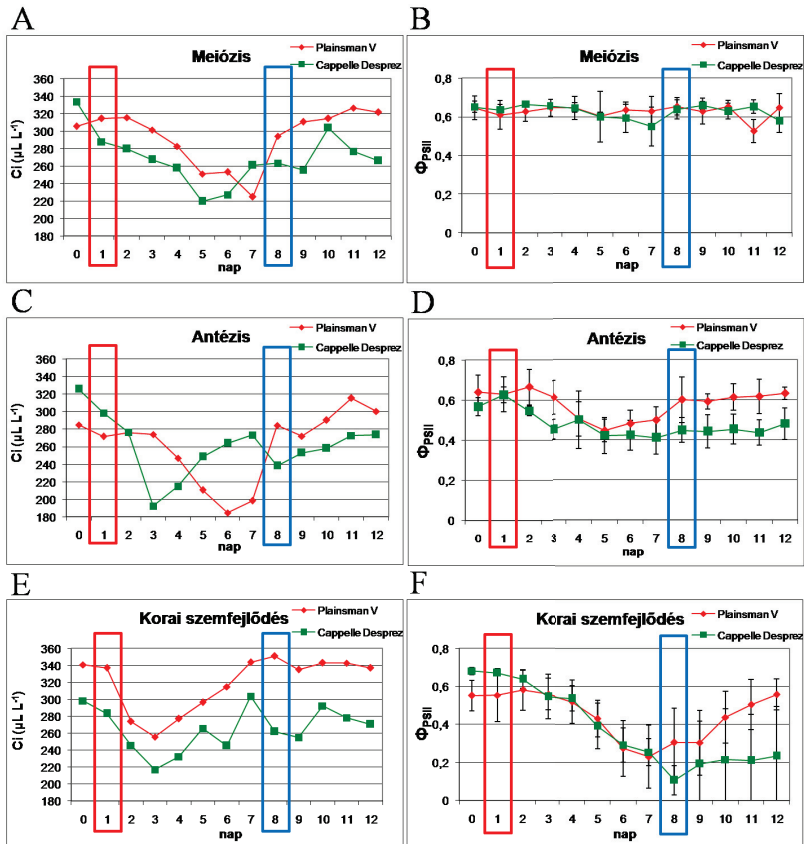
A korai szemfejlődés idején a C_i fordulópontja mindkét fajta esetében korán, már a vízmegvonás harmadik napján bekövetkezett, a fajtákra jellemző C_i értékek között nem volt szignifikáns eltérés (11. E ábra).

5.4.4. A második fotoszintetikus rendszer kvantumhatásfoka (Φ_{PSII})

A második fotokémiai rendszer hatékonyságát mérő paraméter értékében a három kezelés közül csupán az antézis idején jelent meg a két fajta között szignifikáns különbség. A meiózis idején adott stressz egyik genotípus esetében sem okozott kvantumhatásfok csökkenést a kezelés előtti értékekhez illetve a kontrollokhöz képest (11. B ábra).

Az antézis idején az alkalmazott vízmegvonás hatására a kezelés végére mindkét fajta Φ_{PSII} értéke 0,4 körüli értékre esett vissza (11. D ábra), a paraméter csökkenése a Cappelle Desprez-nél a kezelés második napján, míg a Plainsman V növényekben később, csupán a harmadik napon indult meg. A toleráns fajta a visszaöntözést követően a Cappelle Desprez-re nem jellemző regenerációt is mutatott (11. D ábra). A toleráns Plainsman V genotípus Φ_{PSII} értékei a kezelés harmadik napján, valamint a visszaöntözési periódus során szignifikánsan magasabbak voltak az érzékeny Cappelle Desprez-hez viszonyítva.

A korai szemfejlődés idején mindkét fajta kvantumhatásfok értéke a korábbiaknál gyorsabban és nagyobb mértékben csökkent (11. F ábra). Megállapítottuk, hogy a Plainsman V Φ_{PSII} értéke a visszaöntözés ideje alatt átlagosan magasabb volt a Cappelle Desprez-nél mért értékhez képest, azonban ez a különbség nem volt szignifikáns.



11. ábra. Az intercelluláris széndioxid koncentráció (A, C, E) és a második fotorendszer kvantumhatásfokának (B, D, F) alakulása a különböző fenofázisokban alkalmazott vízmegvonások hatására. A piros keret a vízmegvonás első napját, míg a kék keret a visszaöntözési periódus első napját jelöli. Az A, C és E ábrákon az átláthatóság megőrzésének céljából, valamint azok információtartalmának hiánya miatt a szórás értékek nem kerültek bemutatásra.

5.5. A szárazság hatása a transzportált szacharózt bontó enzimek aktivitására

5.5.1. A portokokban jelentkező hatások

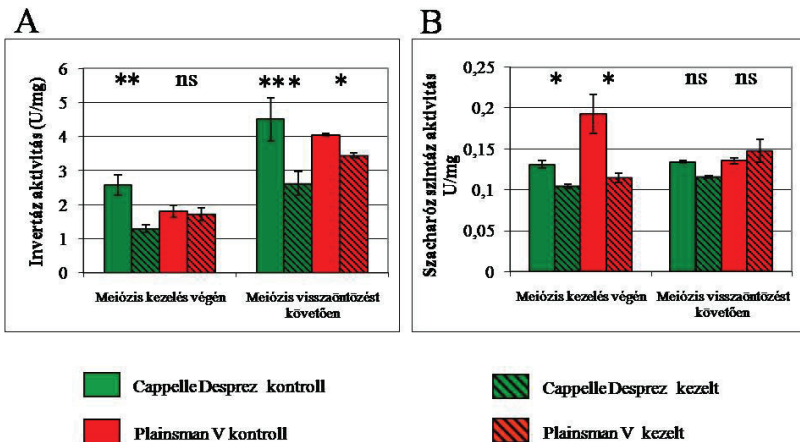
A szacharóz bontását végző enzimek közül a savas invertázok mutattak magasabb szintű aktivitást a meiózis időszakában vízhiányos körülmények között fejlődő növények portokjaiban, mely mintegy tízszere-húszszorosa volt a szacharóz szintáz aktivitás értékeinek. Ez a különbség valószínűsíti, hogy a mikrospórák fejlődése során a transzportált szacharóznak a felhasználás helyén, azaz az antérákban történő hexozokra bontásáért a savas invertázok a felelősek, jelentős szerepet töltve be ezzel a pollensejtek fejlődésében.

5.5.1.1. A savas invertázok aktivitása

A savas invertázok aktivitását a szacharóz szintázéhoz viszonyítva nagyobb mértékben változtatta meg a meiózis idején alkalmazott vízmegvonás. Különösen jelentős, szignifikáns eltérés volt megfigyelhető a Cappelle Desprez esetében, melynek aktivitása a kontrollhoz viszonyítva a kezelés végén 50%-kal, ($P \leq 0,005$) a visszaöntözést követően pedig 42%-kal ($P \leq 0,0005$) volt alacsonyabb. A Plainsman V esetében a kezelés végén nem volt szignifikáns eltérés kimutatható a kontrollhoz képest, míg a visszaöntözés végén szignifikáns ($P \leq 0,05$), ám csupán 15%-os csökkenés volt jellemző (12. A ábra).

5.5.1.2. A szacharóz szintáz aktivitása

A szacharóz szintáz aktivitásáról elmondható, hogy a kezelés végén a fajtákra jellemző aktivitás értékek a kontrollokhoz képest szignifikánsan ($P \leq 0,05$) a Cappelle Desprez esetében 24%-os, míg a Plainsman V-nél 43%-os mértékben csökkentek. Ugyanakkor a visszaöntözési periódus végén egyik genotípus értékeiben sem volt megfigyelhető szignifikáns különbség a kontrollokhoz képest (12. B ábra).



12. ábra. A meiózis idején alkalmazott vízmegvonás hatása a portokok savas invertáz (A) és szacharóz szintáz (B) aktivitására a kezelés végén, illetve öt napos visszaöntözési periódust követően. ** $p \leq 0,005$, * $p \leq 0,05$ valószínűségi szinten szignifikáns; ns nem szignifikáns

5.5.2. A fejlődő szemtermésekben jelentkező hatások

A fejlődő szemtermésekben kezeléstől függetlenül a szacharóz szintáz enzim mutatott magasabb aktivitás értékeket. Fehérje tömegre vonatkoztatott aktivitása többszörösen felülmúlta a savas invertázét (13. ábra). Az invertáz enzim aktivitása mindhárom fenofázis esetén közel azonos értéket mutatott. A szacharóz szintáz enzim aktivitása a korai szemfejlődés idején a meiózishoz és az antézishoz viszonyítva magasabb értéket ért el (13. B, D, F ábrák).

5.5.2.1. A savas invertázok aktivitása

A meiózis idején alkalmazott kezelés egyik genotípus termőiben sem okozott szignifikáns aktivitás csökkenést a kezelés végén. A visszaöntözést követően a Plainsman V esetében bizonyult szignifikánsnak ($P \leq 0,05$) a kimutatott 22%-os mértékű csökkenés (13. A ábra).

Az antézis idején ható szárazság sem idézett elő szignifikáns aktivitás csökkenést a kezelés végén. Az öt napos visszaöntözés után kizárólag a Cappelle Desprez termőkben volt a kontrollhoz képest szignifikáns ($P \leq 0,05$), 13%-os csökkenés kimutatható (13. C ábra).

A korai szemfejlődés fenofázisában a kezelés végén csak a Cappelle Desprez mutatott a kontrollhoz képest szignifikánsan alacsonyabb savas invertáz aktivitást ($P \leq 0,05$), de ez öt nappal a visszaöntözést követően már nem volt kimutatható (13. E ábra).

5.5.2.2. A szacharóz szintáz aktivitása

A meiózis és a korai szemfejlődés idején alkalmazott vízmegvonás sem a kezelés végén, sem pedig a visszaöntözést követően nem okozott szignifikáns eltérést a kontroll szemtermésekben mért értékektől (13. B, F ábrák).

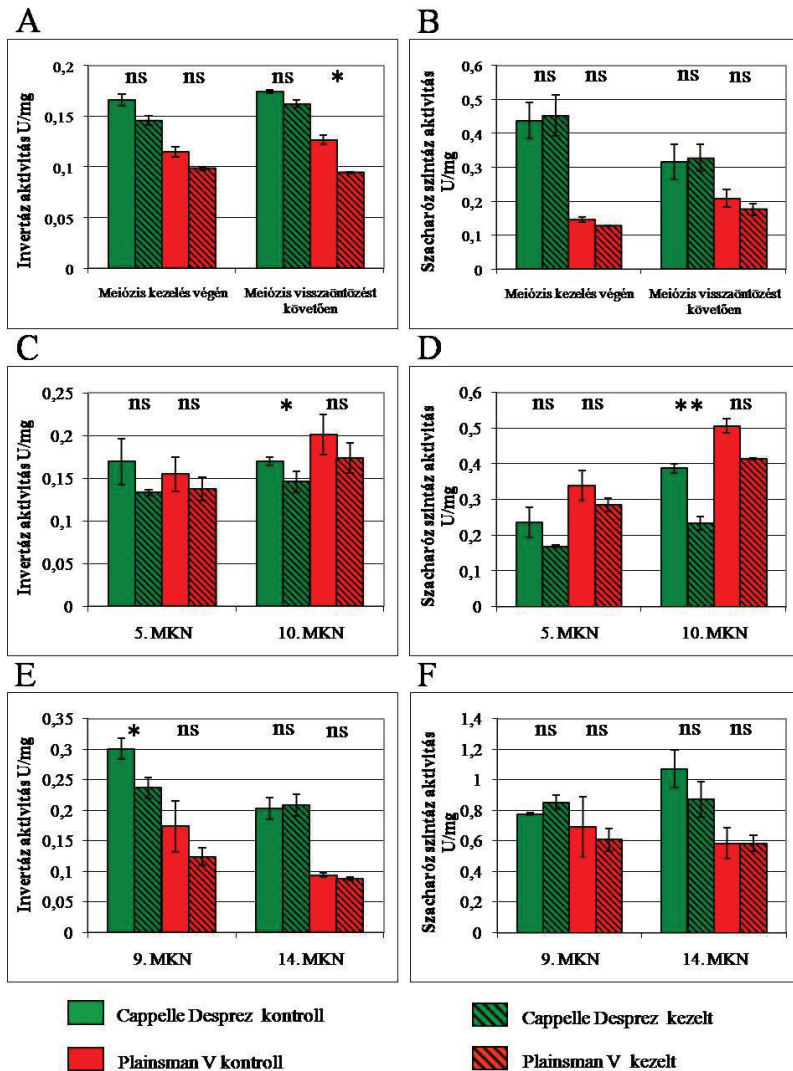
Az antézis idején alkalmazott vízmegvonást követően szignifikáns ($P \leq 0,005$), 40%-os szacharóz szintáz aktivitás csökkenést mutattunk ki a Cappelle Desprez esetében, mely nem a kezelés végén, hanem az öt napos visszaöntözési periódust követően (13. D ábra) jelentkezett.

5.6. Az enzimaktivitások termőn belüli *in situ* szöveti lokalizációja

Az egyes enzimaktivitások vizsgálata során nem volt fajta-, illetve kezelésfüggő eltérés kimutatható a megfigyelt lokalizációs mintázatokban, ezért az alábbiakban az egyes enzimekre jellemző aktivitás mintázatok általánosan, nem pedig fajtákra illetve kezelésekre lebontva kerülnek ismertetésre.

5.6.1. A savas invertázok lokalizációja

A savas invertázok aktivitása a termők, illetve a fejlődő fiatal szemtermések esetén két elkülönült területen volt megfigyelhető. Aktivitást mutattunk ki a szemtermések alapi részén, valamint a szemtermések hasi barázdájában húzódó szállítószöveti elemekkel párhuzamosan a transzfer sejtek területén. Ezzel egyidejűleg az anyai perikarpium szöveteiben is

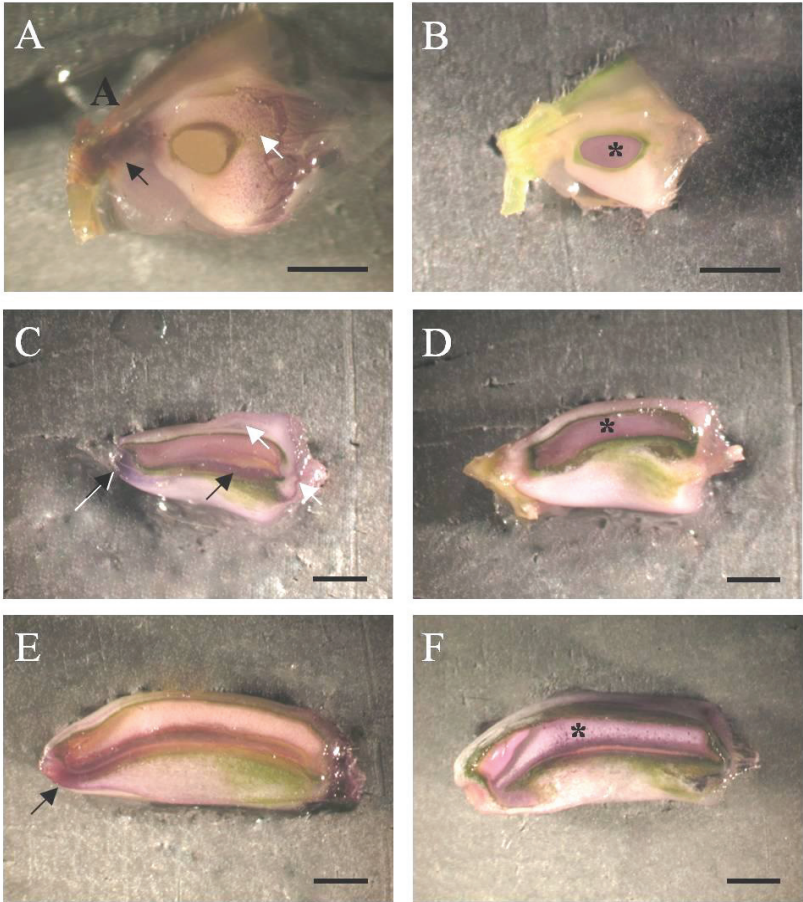


13. ábra. A különböző fenofázisok idején alkalmazott vízmegvonás hatása a szemtermések savas invertáz (A, C, E) és szacharóz szintáz (B, D, F) aktivitására a kezelés végén (9. MKN), illetve öt napos visszaöntözési periódust követően (14. MKN). ** $P \leq 0,005$, * $P \leq 0,05$ valószínűségi szinten szignifikáns; ns nem szignifikáns

megfigyelhető volt az aktivitást jelző formazán lerakódás, mely főként a meiózis idején volt jellemző, azonban az antézis során is detektálható volt (14. A, C, E ábrák).

5.6.2. A szacharóz szintáz lokalizációja

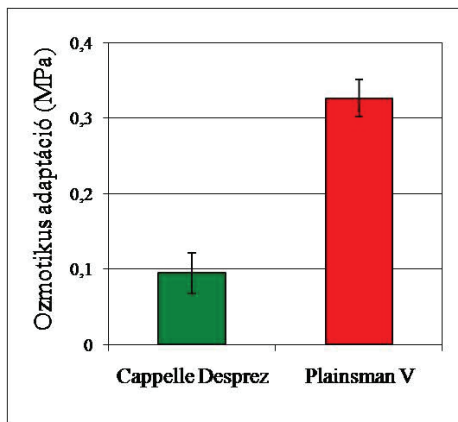
A szacharóz szintáz enzim aktivitása a meiózis időszakában az ovulum, majd a későbbiekben, a megtermékenyítést követően a fejlődésnek induló endospermium területén volt jellemző (14. B, D, F ábrák). A korai szemfejlődés idején az előzőekkel szemben nem a diffúz aktivitás volt a jellemző. Intenzív jelölődést figyeltünk meg az endospermium egyes sejtjeiben (pontoszerűen sötétebb festődés), valamint az endospermium külső részén, az ebben az időszakban már differenciálódott aleuron réteg területén.



14. ábra. A savas invertázok és a szacharóz szintáz aktivitásának *in situ* lokalizációja búza termőkben. A, C, E: a savas invertáz aktivitása a meiózis, az antézis illetve a korai szemfejlődés időszakában. B, D, F: a szacharóz szintáz aktivitása a meiózis, antézis és a korai szemfejlődés fenofázisában. Fekete nyíl: az invertáz enzim szállítószövetekhez illetve transzfer sejtekhez kapcsolható aktivitása. Fehér nyíl: az invertáz enzim perikarpiumra jellemző aktivitása. Csillag: a szacharóz szintáz ovulumba (B) illetve endospermiumra (D és F) specifikus aktivitása. Bar: 1 mm.

5.7. A fajtákra jellemző ozmotikus adaptációs képesség

Az ozmotikus adaptáció (OA) vizsgálata jelentős különbségeket tárt fel a két fajta között. A szenitív Cappelle Desprez zászlóslevelének sejtjei szignifikánsan ($P \leq 0,005$) kisebb mértékben ($OA = 0,09 \pm 0,02$ MPa) voltak képesek ozmotikus potenciáljukat megnövelni a meiózis idején alkalmazott szárazságstressz hatására, mint a toleráns Plainsman V sejtjei ($OA = 0,32 \pm 0,02$ MPa) (15. ábra).

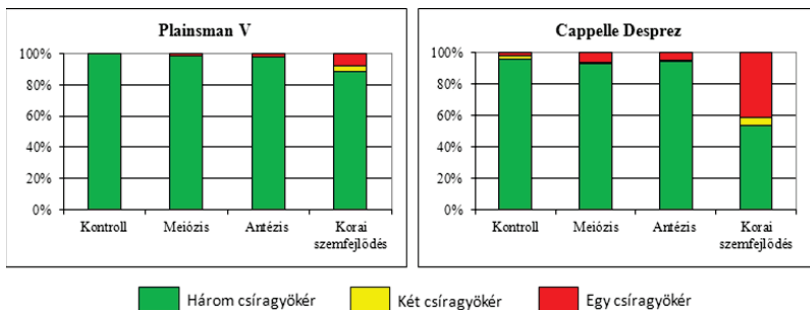


15. ábra. Az egyes fajtákra jellemző ozmotikus adaptáció értékek.

5.8. A szárazság hatása a csírázó képességre és a csíragyökerek számára

Csíráztatási kísérleteink eredményei alapján megállapítottuk, hogy egyik fenofázisban alkalmazott kezelés sem okozott szignifikáns eltérést a szemek csírázási gyakoriságában a kontrollhoz viszonyítva. A csíranövények gyökérszámát vizsgálva ettől eltérő eredményt kaptunk (16. ábra). A különböző fenofázisok közül a korai szemfejlődés idején alkalmazott vízmegvonás hatására figyeltük meg a legnagyobb számú egy csíragyökérrel rendelkező

csíranövényt, melyek aránya a Cappelle Desprez esetében 41,8%, míg a toleráns Plainsman V esetében csupán 7,7% volt. Az egy illetve két csíragyökerez csíranövények aránya mindhárom stresszkezelés esetében az érzékeny Cappelle Desprez fajtánál volt a magasabb.



16. ábra. A vízmegvonás hatása a különböző fenofázisokban kezelt növényekből származó szemtermések hét napos csíranövényeinek gyökérszámára.

A fejezetben bemutatott eredményeket egyszerűsítve a 6. táblázatban foglaltuk össze.

6. táblázat. Az eltérő fenofázisban alkalmazott vízmegvonások hatása a vizsgált fajtákra.

Kezelés	Paraméter	Fajta		
		Cappelle Desprez	Plainsman V	
Meiózis	Zászlóslével RVT	-	n.v.	
	Fertilitás	-	n.v.	
	Sérült pollen aránya	++	+	
	Kalászonkénti termés	-	-	
	A típusú keményítő száma	n.v.	n.v.	
	B típusú keményítő száma	n.v.	n.v.	
	Fehérjetestek száma	n.v.	n.v.	
	g_s	--	-	
	A_{net}	--	-	
	Φ_{PSII}	n.v.	n.v.	
	Invertáz aktivitás (portok)	--	-	
	Susy aktivitás (portok)	n.v.	n.v.	
	Invertáz aktivitás (termő)	n.v.	-	
	Susy aktivitás (termő)	n.v.	n.v.	
	Ozmotikus adaptáció	+	+++	
Csírázó képesség	n.v.	n.v.		
Csíragyökér szám	-	n.v.		
Antézis	Zászlóslével RVT	-	-	
	Szemkötés	--	n.v.	
	Kalászonkénti termés	--	-	
	A típusú keményítő száma	n.v.	n.v.	
	B típusú keményítő száma	n.v.	n.v.	
	Fehérjetestek száma	n.v.	n.v.	
	g_s	---	--	
	A_{net}	---	--	
	Φ_{PSII}	--	-	
	Invertáz aktivitás (termő)	-	n.v.	
	Susy aktivitás (termő)	-	n.v.	
	Csírázó képesség	n.v.	n.v.	
	Csíragyökér szám	-	n.v.	
	Korai szemfejlődés	Zászlóslével RVT	-	-
		Szemkötés	--	-
Kalászonkénti termés		---	--	
A típusú keményítő száma		n.v.	-	
B típusú keményítő száma		--	--	
Fehérjetestek száma		n.v.	++	
g_s		---	---	
A_{net}		---	---	
Φ_{PSII}		---	--	
Invertáz aktivitás (termő)		n.v.	n.v.	
Susy aktivitás (termő)		n.v.	n.v.	
Csírázó képesség		n.v.	n.v.	
Csíragyökér szám		--	-	

--: a paraméter a kontrollal összehasonlítva csökkent, +: a paraméter nőtt, n.v.: az érték nem változott meg

6. Az eredmények értékelése

6.1. A szárazság hatása a gametogenezisre, a fertilitásra és a szemkötésre

Az meiózis idején alkalmazott vízmegvonás gyakorolta a legenyhébb hatást a növények fenotípusára, hervadás vagy a levelek besodródása nem volt megfigyelhető. Ebben a fenofázisban vizsgáltuk a stressz hatását a gametogenezisre, hiszen a meiózis folyamata mind a hím- mind pedig a női ivarsejt képződés egyik sarokköve. Citológiai vizsgálataink igazolták, hogy Lalonde és mtsi (1997), valamint Saini (1997) megfigyeléseikhez hasonlóan a mikrosporogenezis folyamata nagyfokú érzékenységet mutatott a vízhiányra. A pollenszemek jelentős részének fejlődése megállt (Jäger és mtsi 2008). A normális fejlődést mutató pollensejtek szignifikánsan magasabb aránya a Plainsman V esetében együtt járt a savas invertáznak a szenzitív genotípuséhoz képest magasabb aktivitásával, amely alátámasztja az irodalomban fellelhető, az invertáz enzim mikrosporogenezisben betöltött jelentős szerepére utaló adatokat (Dorion és mtsi 1996, Sheoran és Saini 1996). Az ugyanebben a fenofázisban kezelt termőkben a petesejtek, illetve az ovulumon belül található egyéb sejtek elváltozását a kontrollhoz képest nem figyeltük meg. Ezért valószínűsíthető, hogy az ebben az időszakban megfigyelhető fertilitásbeli csökkenésért egyedül a mikropórák és pollenszemek fejlődésének már említett, jelentős mértékű defektusa a felelős. Bár a fejlődő portokok esetében csupán az enzimaktivitási adatok állnak rendelkezésünkre, a szakirodalmi adatok következtetni engednek a mikrogametogenezis károsodásának sejt- illetve szövetszintű okaira is. Lalonde és mtsi (1997) a meiózis kori stressz hatására a mikropórák és a portokok e tápláló szövetében (tapétum) jelentős fejlődési zavarokat és korai sejtpusztulást figyeltek meg. Más kutatók a paradicsom (Proels és mtsi 2006) és rizs (Oliver és mtsi 2005) növényekben mutatták ki, hogy a portokokon belül csupán a tapétumban és a mikropórákban jelen lévő invertáz izoenzimek működése elengedhetetlen a pollenfejlődés zavartalanságához. Saját eredményeinket alapján arra következtethetünk, hogy a meiózis idején alkalmazott szárazság a tapétum réteg degenerációján keresztül vezetett az invertáz enzim aktivitásának csökkenéséhez és ezen keresztül a mikrogametogenezis defektusához.

A szemszám a gabonafélék termését befolyásoló egyik legfontosabb tényező (Dolferus és mtsi 2011), így a fertilitás illetve magkötés értékek a fajták stressztűrő képessége mellett azok terméshibiztonságáról is tanúskodnak. A virágzás időszakában ható szárazság a Plainsman V fertilitását nem befolyásolta, a Cappelle Desprez viszont jelentős érzékenységet mutatott

ebben a tekintetben. Vizsgálataink során a virágzás folyamatában szerv szinten (lodikulák duzzadása, a porzószalak megnyúlása) a kezelés hatására egyik fajtánál sem figyeltünk meg változásokat. Mivel a citológiai megfigyelések sem jelezték a pollen illetve a termő abnormális struktúráját, a két fajta között fennálló különbséget a megporzás illetve a megtermékenyítés zavarai helyett a Cappelle Desprez-re jellemző, a szemterméseknek a kalászok csúcsi részén, a vízmegvonás hatására bekövetkező jelentős mértékű abortíójával magyarázhatjuk. Ugyanebben az időszakban a Cappelle Desprez termőiben a savas invertáz és a szacharóz szintáz enzimek aktivitása a kontrollokban mért értékekhez viszonyítva szignifikáns csökkenést mutatott. Korábbi kutatások kukorica esetében bizonyították, hogy a fejlődő szemtermés glükóz tartalmának csökkenése abortióhoz vezet (McLaughlin és Boyer 2004a, McLaughlin és Boyer 2004b). Ebből adódóan a szacharózt hasító enzimeknek a Cappelle Desprezben kimutatott csökkent aktivitása, valamint a fajtára a stressz hatására jellemző alacsonyabb széndioxid asszimilációs ráta is hozzájárulhatott a szemtermések tápanyagellátásának csökkenéséhez, majd ennek következményeként az szemtermések elhalásához. A három fenofázis közül a korai szemfejlődés idején elszenvedett szárazság okozta a szemszám legnagyobb mértékű csökkenését. A két fajta közül ebben az esetben is a Plainsman V mutatott magasabb szemkötési értékeket. A szacharózt bontó enzimek esetében a kezelés végén egyik fajta enzimaktivitása sem különbözött szignifikáns mértékben a kontrolltól. A nettó széndioxid asszimilációs ráta értéke sem mutatott szignifikánsan magasabb értékeket a kezelés során a Plainsman V fajtánál, azonban a visszaöntözés során az érzékeny genotípushoz viszonyítva egyértelmű, ám nem szignifikáns regenerációt figyeltünk meg. Elképzelhető, hogy a további fejlődés során a két fajta közötti különbség tovább nőtt, lehetővé téve a Plainsman V számára több szemtermés megtartását. Ezt a lehetőséget alátámasztja, hogy a visszaöntözést követően a Plainsman V levelei visszazöldültek, míg a Cappelle Despreznél azok leszáradását figyeltük meg.

6.2. A szárazság hatása a fotoszintetikus folyamatokra és a sejtek ozmotikus viszonyaira

Az infravörös gázanalizátor segítségével mért paraméterek közül a sztómakonduktancia és a nettó fotoszintetikus ráta alakulása hasonló kinetikát mutatott az egyes kezelések során. Ezek szerint a meiózis idején ható szárazság nem okozott jelentős stresszhatást a Plainsman V számára, míg a Cappelle Desprez széndioxid fixációs képessége

nagymértékben csökkent. Az antézis idején mindkét fajta asszimilációs rátája csökkent, ám a Plainsman V esetében a CO₂ beépülése szignifikánsan kisebb mértékben gátolódott, majd a visszaöntözés végére szignifikánsan jobban regenerálódott. A korai szemfejlődés idején a toleráns fajta sem volt képes magasabb asszimilációs rátát fenntartani, stressztoleranciáját meghaladta a kezelés erősege. Az első két fenofázis esetében a toleráns Plainsman V sztómakonduktancia értéke magasabb volt az érzékeny genotípusénál, ugyanakkor a mérések alapján zászlósleveleinek víztartalma az antézis kori stressz idején megegyezett, a meiózis idején pedig szignifikánsan meghaladta a Cappelle Desprez-re jellemző értékeket. Ez arra utalt, hogy a Plainsman V képes volt a nagyobb mértékű sztómanyitottság mellett is megakadályozni a víz elpárolgását a levelekből, hiszen talaj víztartalom méréseink indirekt módon igazolták, hogy a két fajta vízfelvétele között nem volt szignifikáns különbség. A víztartalom megőrzésének hatékony módja az ozmotikus adaptáció, azaz ozmotikusan aktív anyagoknak a sejtekben történő felhalmozása. Ennek révén a sejtekben magas ozmotikus potenciált fenntartva csökkenthető a vízvesztés mértéke (Morgan és Austin 1983, Arnau és mtsi 1997, El-Hafid és mtsi 1998, Rekika és mtsi 1998, Shangguan és mtsi 1999). Méréseink szerint a Plainsman V ozmotikus adaptációs képessége többszörösen meghaladta a Cappelle Desprez-re jellemző értéket, ez által lehetővé téve a növények számára a nagyobb mértékű sztómanyitottságot gyenge és közepes erősségű stressz esetén, melynek következménye a toleráns genotípus magasabb fotoszintetikus potenciálja és jobb termése.

A fotoszintetikus folyamatok nem sztómazáródás által történő gátlásáról tájékoztat az intercelluláris CO₂ koncentráció (C_i) alakulásának kinetikája. A vízhiány kialakulásakor a sztómák záródnak, azonban a fotoszintézis tovább folyik, ezért a C_i értéke egyre csökken (Dubbe és mtsi 1978, Flexas és Medrano 2002). A széndioxid koncentráció ismételt növekedése csak a sztómák újbóli nyitásával vagy a fotoszintézis intenzitásának csökkenésével történhet meg. Ha tehát a C_i értéke a visszaöntözést megelőzően, zárt sztómák mellett ismét növekedni kezd (C_i inflexiós pont), az arra utal, hogy a fotoszintetikus apparátus működésének gátlása túlsúlyba került a sztómális gátláshoz képest. A fotoszintetikus folyamatok említett gátlása visszavezethető metabolikus folyamatokra, mint a Rubisco regenerációjának csökkenése, a fotorespiráció megnövekedése, ATP vagy NADPH hiány, illetve strukturális károsodásokra, mint a Rubisco enzim vagy a PS II inaktivációja.

A C_i inflexiós pont megjelenése főként jelentős szárazságstressz esetén jellemző (Flexas és Medrano 2002). Az előzőekből következően a C_i inflexiós pont bekövetkeztének ideje egyben egyik indikátora a különböző fajták fotoszintetikus folyamatai által mutatott szárazság rezisztencia mértékének is, mivel a később bekövetkező inflexiós pont, a fajta

fotoszintetikus apparátusának jobb szárazságtűrő képességére utal. A mért adatok alapján egyértelmű, hogy a meiózis idején csak a Cappelle Desprez esetében került túlsúlyba a fotoszintézis metabolitikus folyamatokból eredő gátlása. Az antézis alatt ható szárazság esetében ez a folyamat a Cappelle Desprez növényekben a Plainsman V fajtához képest három nappal korábban történt meg. Az igen jelentősnek bizonyuló korai szemfejlődés kori stressz esetében az inflexió pont mindkét fajtánál a vízmegvonás harmadik napjára esett. Ezt azzal magyarázhatjuk, hogy ezen körülmények között a toleránsnak tekintett Plainsman V fotoszintetikus folyamatai a korábban említett metabolikus gátlás miatt az érzékeny Cappelle Desprez fajtáéval megegyező mértékben gátlódtak, tehát ez a stresszhatás meghaladta a fajta stressztűrő képességét.

A második fotorendszer kvantumhatásfoka (Φ_{PSII}), mely klorofill *a* fluoreszcencia segítségével mérhető paraméter (Krause és Weis 1991), jól tükrözi egy adott fényintenzitáson a fotoszintetikus elektrontranszport folyamatok egyensúlyi állapotban működő PS II aktuális (effektív) kvantumhatásfokát, illetve hogy a fotoszintetikus rendszerrel asszociált fénybegyűjtő komplexek által abszorbeált energia mekkora hányada fordítódik fotokémiai folyamatokra (Genty és mtsi 1989, Maxwell és Johnson 2000). E paraméter csökkenése jelzi a fotoszintetikus elektrontranszport folyamatok lassulását. Ez bekövetkezhet akár a CO₂ asszimiláció csökkenése miatt (úgynevezett „feedback control/down regulation” mechanizmuson keresztül), vagy akár a PS II inaktivációja miatt. Ez utóbbi azonban irodalmi adatok alapján csupán erőteljes stressz esetén következik be, és megjelenése a kettes fotokémiai rendszer (PSII) strukturális károsodásának tudható be (He és mtsi 1995, Tambussi és mtsi 2000). Mérési adataink szerint a Φ_{PSII} értéke a meiózis időszakában fellépő stressz hatására egyik fajta esetében sem mutatott szignifikáns változást, jelezve, hogy a fotoszintetikus elektrontranszport folyamatok nem felelősek a CO₂ fixálás hatékonyságának csökkenéséért. Az antézis idején a Φ_{PSII} paraméter értéke a Plainsman V növényekben később kezdett csökkenni, majd a visszaöntözés után teljes mértékben regenerálódott, és szignifikánsan eltért a regenerációt nem mutató Cappelle Desprez-től. Ez arra utal, hogy a Plainsman V esetében a fotoszintetikus elektrontranszport folyamatok lassulása csupán átmeneti feedback gátlás miatt következhetett be, ezzel is csökkentve a PS II túlgerjesztésének, így károsodásának esélyét. A korai szemfejlődés idején a fajtákra jellemző Φ_{PSII} érték nem különbözött szignifikánsan, bár a visszaöntözés ötödik napján a Plainsman V levelek kvantumhatásfoka szignifikáns regenerációt mutatott a stresszkezelés utolsó napján mért értékhez képest. Elmondható tehát, hogy a Plainsman V fajta alacsony, illetve közepes erősségű stressz esetén is képes volt fotoszintetikus aktivitását megőrizni, illetve az érzékeny

fajtára jellemzőnél magasabban tartani, valamint mindhárom időszakban alkalmazott stressz esetén szignifikánsan magasabb szintű regenerációs képességet mutatott. Ezzel szemben az érzékeny Cappelle Desprez által az antézis és a korai szemfejlődés idején mutatott csökkent regenerációs képesség arra utal, hogy ennél a fajtánál a PS II inaktivációja is bekövetkezett.

6.3. A szárazság hatása a szemtermécek fejlődésére

A szemfeltöltődés a szemfejlődés igen fontos részfolyamata, melynek során a tartalék tápanyagok a megtermékenyült magkezdeményekbe szállítódnak és a folyamat során kialakulnak a szemtermécek. Ezen periódus hossza jelentősen befolyásolja a végső szemtömeget, amely a termésmennyiség fontos összetevője. Shah és Paulsen (2003) eredményei arra utaltak, hogy a szárazságstressz lerövidíti a szemfeltöltődés hosszát alacsony és közepes termesztési hőmérsékletek alkalmazása esetén. Kísérleteinkben a korai szemfejlődés idején alkalmazott szárazságstressz megnövelte a szemfeltöltődés sebességét, ugyanakkor más kutatók eredményeihez hasonlóan (Altenbach és mtsi 2003, Borrás és mtsi 2003, Nicolas és mtsi 1985, Plaut és mtsi 2004, Westgate 1994) mindkét genotípus esetében jelentősen, 10 nappal le is rövidítette annak folyamatát. Bár a szemfeltöltődés sebességének növekedése önmagában a nagyobb termésmennyiség kialakulását segíthetné elő, a szemfeltöltődési időszak drasztikus lerövidülése és a tíz nappal korábban bekövetkező teljesérés végül a termés csökkenését okozta.

A korai szemfejlődés idején alkalmazott vízmegvonás hatására az általunk elvégzett legkésőbbi mintavételig (14 MKN) az embriók mérete mindkét fajtánál meghaladta a kontrollra jellemző értékeket. Ennek oka, hogy a kezelt szemekben az embriók fejlődése a szemtermés általános fejlődési folyamataihoz hasonlóan felgyorsult, ennek megfelelően az embriók nagyobb mérete az előrehaladottabb fejlődési állapot következménye. A vízmegvonás azonban végső soron negatív hatással volt annak fejlődésére, mivel lerövidítette a fejlődés időtartamát, csökkentette a rendelkezésre álló tápanyagok méretét és ezzel korlátozta az érett embriók végső méretét (Fábián és mtsi 2011). Ennek hatására kisebb, bár funkcióképes embriók fejlődtek. A kezelés hatására a szárazságtűrő Plainsman V genotípus szemterméseiben fejlődő 14 napos embriók nagyobbak voltak és fejlődésük során a szemtermésen belül korábban kezdtek differenciálódni, mint a szárazságra érzékeny fajta embriói.

A szemtermésekben raktározódó keményítő és fehérje mennyisége egyrészt a korai fejlődés során determinálódó endospermium sejtszám (Cochrane és Duffus 1983), másrészt a sejtek végső méretének függvénye, melyet a szemfeltöltődés hossza és sebessége is befolyásol (Egli 1998). A sejtesedést követően az endospermium sejtek mitotikus aktivitása genotípustól függően a nyolcadik-tizenhatodik napig folytatódik (Evers 1970, Gao és mtsi 1992, Gleadow és mtsi 1982), ezáltal növelve a szemtermés tápanyag befogadó képességét. Leszögezhetjük tehát, hogy ezen sejtek osztódási és méretnövekedési folyamatainak zavartalansága igen jelentős tényező a szemtermés mérete és a végső termés mennyisége szempontjából. Kísérleteinkben a korai szemfejlődés idején a kezelés hatására a genotípusok eltérően reagáltak az egységnyi térfogatra eső endospermium sejtek számát tekintve. A szárazságra érzékeny Cappelle Desprez endospermium szövetei a kontrollhoz képest adott térfogatra vonatkoztatva szignifikánsan magasabb számú, kisebb méretű raktározó sejtet tartalmaztak. Ez arra utal, hogy ezen sejteknek az osztódást követő térfogatnövekedése csupán korlátozott mértékben következett be. A jelenségre magyarázatul szolgálhat a sejtfalak rigidde válása, illetve a csökkent víztartalom miatt kialakuló turgor csökkenés is, mely a sejtek kiterjedésének növekedését lehetetlenné teszi. A kisebb méret következtében a sejtek tartalék tápanyag raktározó kapacitása, valamint a szemtermések mérete is korlátozott volt, ami végső soron a termés jelentős mértékű csökkenését idézte elő. A Plainsman V esetében a korai szemfejlődés idején kezelt szemtermések endospermium sejtjei sem méretükben, sem pedig számukban nem tértek el a kontrolltól. A fentiekben vázolt, csupán az érzékeny genotípusra jellemző szövettani eltérések közrejátszhattak abban, hogy a korai szemfejlődés idején a Cappelle Desprez terméscsökkenése (77,4%) szignifikáns mértékben meghaladta a toleráns Plainsman V-nél megfigyelt mértéket (70,8%).

A szárazság nem volt hatással az embrióközeli, denz citoplazmával rendelkező endospermium sejtesedésére. A folyamat a megporzást követő hetedik napon kezeléstől függetlenül befejeződött, megerősítve Smart és O'Brian (1983) megfigyeléseit. A fejlődő aleuron sejtek a kontroll magkezdeményekben a tizenkettedik napon voltak megkülönböztethetőek a keményítős endospermium sejtektől, megegyezően a Morrison és mtsi (1975, 1978) által leírtakkal. A kezelt szemtermésekben az aleuron réteg differenciációja mindkét fajta esetében korábban, már a kilencedik napon megindult, alátámasztva ezzel a szemtermés fejlődésének felgyorsulását.

Kísérleteinkben a vízmegvonás nem volt szignifikáns hatással a Cappelle Desprez endospermiumában található A típusú keményítőszemcsék számára a megtermékenyítést követő tizennegyedik napon. Ezzel szemben szignifikánsan megnövelte a Plainsman V

endospermiumában lévő A típusú szemcsék mennyiségét, azonban a berakódás intenzitása a termésadatok és az érett szemtermések csökkent keményítőtartalmának tanúsága szerint a későbbiekben lelassult. Korábbi szövettani vizsgálatok (Evers 1970, Briarty és mtsi 1979) igazolták, hogy a B típusú keményítőszemcsék berakódása a fejlődés során csak az endospermium sejtek osztódásainak végleges befejeződését követően indul meg. Megfigyeléseink szerint a kezelt termőkben a B típusú keményítőszemcsék a kontrollhoz képest két nappal korábban jelentek meg. Ebből arra következtethetünk, hogy a kezelés hatására az endospermium sejtek osztódása mindkét vizsgált genotípus esetében már a megporzást követő tizenkettedik napon leállt, jelentősen korlátozva ezzel a sejtszámot és így a szemtermések raktározó kapacitását. Adataink megegyeznek Nicolas és munkatársainak (1985) eredményeivel, akik vízhiánynak kitett termők esetében kisebb mennyiségű adott térfogatra eső endospermium sejtről és kevesebb B típusú keményítőszemcséről számoltak be. Az érett szemtermések endospermiumáról készült pásztázó elektronmikroszkópos felvételek, a szemtermések keményítő tartalma és a termésadatok arról tanúskodnak, hogy a szárazságkezelte növények a visszaöntözés után sem voltak képesek kompenzálni a tizenenny napos korban megfigyelt károsodást, és ezen szemtermések endospermiuma a kontrollhoz viszonyítva érett állapotban is kevesebb B típusú keményítőszemcsét tartalmazott.

Kísérleteinkben a szárazság hatására jelentős, genotípustól függő változásokat figyeltünk meg a fehérjetestek sejtenkénti számában. Míg a kezelt Cappelle Desprez szemtermések endospermiumaiban a fehérjetestek száma nem különbözött szignifikánsan a kontrolltól a megporzást követő tizenegyedik napon, a Plainsman V esetében a kezelés végén (9 MKN) fennálló különbség tovább nőtt, végül a tizenegyedik napra a kontrollhoz képest több mint kétszeres mennyiségű fehérjetestet eredményezve. A két fajta közötti különbséget a kis molekulatömegű glutenin alegységek tekintetében kisebb, ám szignifikáns mértékben Guóth és mtsi (2009) is kimutatták. A Plainsman V által mutatott válasz egybevág Ozturk és Aydin (2004) valamint Kimball és munkatársainak (2001) eredményeivel, akik az alacsony talajnedvesség hatására szintén az endospermium sejtek megnövekedett fehérjetartalmát figyelték meg. A raktározott fehérjék mennyiségének növekedésével összefüggésben állhat az ismert jelenség, miszerint szárazság illetve ozmotikus stressz hatására a levelekben az oldható nitrogén, azaz főként a szabad aminosavak mennyisége megnő (Lawlor és Cornic 2002). A rendelkezésre álló nagyobb mennyiségű aminosav felveti a fehérjék szemtermésbe való nagyobb mértékű beépítésének lehetőségét. A megnőtt aminosav tartalom okai lehetnek a *de novo* szintézis mellett a stressz hatására csökkenő mértékű fehérjeszintézis és a megnövekedett fehérje lebontás is. Galiba és mtsi (1989) *in vitro*

kallusz tenyészeteken, a Plainsman V és a Cappelle Desprez bevonásával végzett vizsgálatai szerint ozmotikus (PEG) kezelés hatására Cappelle Desprez csökkenő fehérjetartalom mellett egy általános, nagymértékű aminosav tartalom emelkedést mutatott, míg a Plainsman V sejteiben állandó fehérjetartalom mellett csupán a prolin és az arginin mennyisége nőtt meg. A szerzők az érzékeny fajta választát a stressz által kiváltott fehérje lebomlás, tehát a károsodások számlájára írják, ezzel szemben a Plainsman V aminosav-szelektív válasza az adaptáció részeként fogható fel, azaz inkább *de novo* szintézist feltételez. Szécsényi és mtsi (2010) ugyanakkor szárazságstressz hatására a fiatal Cappelle Despreznél növényeknél a prolin tartalom csökkenését, míg a Plainsman V-nél annak növekedését írták le. Bár a kallusz kultúrák és a néhány hetes növények esetében kapott eredmények felnőtt, kalászó növényekre való alkalmazhatósága kérdéses, jól példázzák a két fajta között a biokémiai folyamatok szintjén fennálló különbségeket. Ennek megfelelően a fajták eltérő fehérjefelhalmozó képességének háttérben több ok is meghúzódhat, például az aminosavak hajtásból magkezdeménybe való transzportjának eltérő mértéke, vagy a Cappelle Desprez esetében a stresszkörülmények hatására a fehérje anyagcsere felépítő folyamatainak gátoltsága és a lebontó folyamatok előtérbe kerülése. A Plainsman V által mutatott ozmotikus adaptáció is hozzájárulhat a prolaminok megemelkedett mennyiségéhez, hiszen az ennek során felhalmozott ozmotikumok közül a prolin mennyiségileg a legjelentősebb tényező (Szegletes és mtsi 2000, Keyvan 2010), mely a prolamin tartalékfehérjékben szintén igen nagy mennyiségben fordul elő (Shewry és Tatham 1990). Így a már a levelekben készen álló prolin szemtermésbe való transzportjával a Plainsman V akkor is több tartalék fehérjét építhetne be jelentős stressz esetén, amikor felépítő anyagcseréje már nem haladja meg jelentősen a Cappelle Desprez-ét.

Eredményeink, melyek szerint a tartalék fehérjék felhalmozódása korábban indult meg a szárazságstressznek kitett szemtermések endospermiumában, megegyeznek a Daniel és munkatársai (2002) által megfigyeltekkel, akik az oldható és oldhatatlan fehérjék megemelkedett mennyisége mellett a szemfejlődés időtartamának lerövidülését is megfigyelték az öntözött kontrollhoz képest. A szakirodalomból ismert, hogy a szemfeltöltődés idején a fehérjetestekbe beépülő glutenin és gliadin fehérjék mennyisége és összetétele jelentősen befolyásolja a liszt sütőipari tulajdonságait (Shewry és mtsi 2002). Az endospermiumban található keményítőszemcsék közül feltehetően a kisebb, B típusú szemcsék számának van jelentősebb hatása a sütőipari tulajdonságokra (Gan és mtsi 1995), melynek oka A típusú szemcsékhez képest jóval nagyobb fajlagos felületük és ezáltal nagyobb vízmegkötő képességük (Park és mtsi 2005). Ez a tulajdonságuk nagyban hozzájárul

a tézstában a fehérje-keményítő mátrix felületén létrejövő folyamatos folyadékréteg létrejöttéhez, amely meggátolja a gázbuborékok eltávozását és ezáltal a teszta összeesését (Gan és mtsi 1995). Park és mtsi (2009) szerint a jó sütőipari tulajdonságok feltételeznek egy optimális B típusú keményítőszemcse-tartalmat, azonban ez a paraméter a fehérjetartalom függvényében változó érték. Tehát a B típusú szemcsék és a fehérjék mennyiségének aránya lehet a felelős a teszta tulajdonságaiért. A keményítő/fehérje arány minőségre gyakorolt hatását Dai és mtsi (2008) is leírták. Kísérleteinkben ez az arány mindkét fajtánál lecsökkent, hiszen mindkét fajtánál csökkent a B típusú szemcsék aránya, ugyanakkor a Plainsman V esetében a fehérjemennyiség is megemelkedett, tovább csökkentve az arányt. Tehát a fajták reakciója összességében hasonló volt, azonban a Plainsman V-nél kifejezettebben jelentkezett. Ezen tényezők pontos hatásának felmérése a sütőipari tulajdonságokra csak minőségvizsgálatokkal lenne lehetséges. Eredményeinkből arra utalnak, hogy az egyes fajtákban a sejtek, sőt sejtalkotók szintjén megjelenő stresszválaszbeli különbségek olyan fontos tulajdonságot is befolyásolhatnak, mint a minőség.

Az aleuron réteg, a szkutellummal határos összeroppant sejt réteg, valamint a teszta és a hialin réteg korai megjelenése a kezelt szemtermésekben mind az érési folyamatok szárazság hatására történő felgyorsulását támasztják alá. A Plainsman V esetében ezek a változások minden esetben az érzékeny Cappelle Desprez genotípushoz képest korábban következtek be. Percival (1921) szerint a belső integumentum két rétege a szemtermés maximális méretének eléréséig megőrzi életképességét és sértetlen marad. A belső réteg citoplazmájának korai lebomlása és a teszta létrejötte a kezelt szemek esetében azt jelzi, hogy a kezelések hatására a Plainsman V szemtermések már a tizenkettedik, míg az érzékeny Cappelle Desprez szemtermései csak két nappal később, a megporzást követő tizennegyedik napon elérték maximális méretüket, azaz fejlődésük drasztikus módon felgyorsult.

6.4. A szárazság hatása a szemfeltöltődésre és a termésre

Irodalmi adatok szerint a szemfeltöltődés egyik legfontosabb ellenőrző pontja gabonafélékben a levelekből, illetve a szárból transzportált szacharóz hasítása egyszerű cukrokra, melyek a fejlődő szemtermések szöveteinek kialakításához szolgáltatnak tápanyagokat, valamint a keményítősintézis prekurzoraiként szolgálnak (Dale és Housley 1986, Koch 2004). A reakciót katalizálni képes két enzimsalád, az invertázok, valamint a szacharóz szintázok ennél fogva jelentős szerepet töltenek be a gabonafélékben a forrás- és

célszervek közötti transzportfolyamatok kontrollálásában. Vizsgálatainkban az irodalmi adatokkal összhangban (Dale és Housley 1986) a szacharóz szintáz aktivitása a magkezdeményekben többszörösen meghaladta a savas invertázét, ami arra utal, hogy a kukoricával ellentétben a búza esetében a két enzim közül a szacharóz szintáz játszik főszerepet a szemtermés endospermiumának feltöltődésében. Ugyanakkor nem mértünk a Yang és mtsi (2004) által leírt vízhiány indukált szacharóz szintáz aktivitás emelkedést a fejlődő szemtermésekben. Eredményeinkkel ellentétben esetünkben a szemtermésekre az enzimek aktivitásának kismértékű csökkenése illetve stagnálása volt a jellemző (13. ábra). Ennek oka az eltérő fenofázisból és növénynevelési körülményekből származhat, mivel az említett szerzők a vízmegvonást egy későbbi fejlődési stádiumban, 9 MKN-tól a teljes érésig alkalmazták szabadföldi körülmények között, ami a konténeres növényneveléshez képest a talaj víztartalmának elnyújtott csökkenését eredményezte. Az általuk vizsgált fejlődési stádiumban a szemfeltöltődés folyamatai már intenzíven zajlanak, és a szárazság hatására jelentősen fel is gyorsulnak. Bár a korai szemfejlődés idején (5-9 MKN) alkalmazott vízmegvonást követően mi is megfigyeltük a szemtermés szöveti fejlődésének felgyorsulását, a jelek szerint ez a kezelés még nem esett egybe a szemfeltöltődés biokémiai folyamatainak felerősödésével ezért nem is növelte meg a szemfeltöltődésben jelentős szerepet betöltő szacharóz szintáz aktivitását. Az egyes kezelések hatására feltehetően emiatt nem volt megfigyelhető olyan, mindhárom kezelésre jellemző, szignifikáns tendencia az enzimaktivitások alakulásában, mely arra utalt volna, hogy a szárazság hatást fejt ki a vizsgált enzimek, különösen pedig a szacharóz szintáz aktivitására a fejlődő szemtermésekben. Saeedipour és Moradi (2011) a szárazság hatására az antézist követő hetedik napon a savas invertáz nagymértékű aktivitáscsökkenését figyelték meg. Kísérleti körülményeiknek leginkább az általunk alkalmazott antézis kori stressz felel meg. Ebben az időszakban eredményeink szintén mutatták az enzim aktivitásának csökkenését, ám jóval kisebb mértékben, mely csak a Cappelle Despreznél volt szignifikáns. A fent említett szerzők megfigyelései és saját eredményeink alapján ugyanakkor ezen enzimek aktivitásának kontroll növényekre jellemző szintje és azok stresszkezelés hatására mutatott reakciója erősen fajtafüggő jelleg, mely akár izoenzimek szintjén is eltérhet (Saeedipour és Moradi 2011), Eredményeink arra engednek következtetni, hogy az általunk vizsgált három fenofázisban a Cappelle Desprez és a Plainsman V fajták vízhiány hatására bekövetkező terméscsökkenésben a szacharózt bontó enzimek aktivitása nem játszik fontos szerepet, nem limitáló faktor.

A savas invertáz és a szacharóz szintáz enzimek lokalizációja a búza termőben első ízben tette láthatóvá ezen enzimek aktivitásának eddig csak kolorimetriás vizsgálatok által

jelzett elkülönülését (Chevalier és Lingle 1982), igazolva, hogy a savas invertáz aktivitása főként a perikarpiumra jellemző a fejlődés korai szakaszában, segítve az ott folyó anyagcsere folyamatokat (14. ábra). Emellett a floém elemekben szállított szacharóz apoplasztikus transzportját és szemtermésbeli beépülését is segítheti (Sturm és Tang 1999). Ennek során a rostaelemkből kikerülő szacharóz bontásával valószínűleg egy állandó koncentráció gradienst tart fenn a szállítóelemek és a szemtermés anyai eredetű szövetei között, hajtóerőt biztosítva a különböző transzporterek és a diffúzió számára. Erre utal, hogy kísérleteinkben a savas invertáz aktivitása megfigyelhető volt a magkezdemények alapi részén valamint a ventrális oldalon annak hosszában, tehát a szállítószöveti elemekkel asszociált területeken. A Sturm és Tang (1999) által vázolt elképzelés szerint a szénhidrátok apoplasztikus transzportja az anyai szövetek és az endospermium között hexózok formájában történik, majd a célszövetben újra szacharózá alakulva dől el sorsuk (további, immár szimplasztikus transzport, raktározás vagy a sejtek anyagcseréjének fedezése). A szacharóz szintáz aktivitása kizárólag a fejlődő endospermiumban volt megfigyelhető, mely alátámasztja az enzim elsődleges szerepét az endospermiumban folyó keményítőszintézis számára történő szubsztrát biztosításában (Dale és Housley 1986). Egyik stresszkezelés sem okozott észlelhető különbséget a vizsgált enzimek aktivitásának szöveti előfordulásában.

A termés vizsgálata során az ezerszemtömeg és a kalászonkénti szemtömeg közül megbízhatóbb értéként tekintettük a kalászonkénti szemtömeget, hiszen a szemszám, pontosabban a fertilitás illetve a szemkötés jelentős hatással bír az ezerszemtömegre. Ennél fogva, ha a fajták szárazanyag beépítő kapacitását szeretnénk vizsgálni a fertilitásban, illetve szemkötésben mutatkozó különbségek zavaró hatása nélkül, ajánlott a teljes kalászra vonatkozó termést figyelembe venni. A stresszkezelések hatására bekövetkezett termésnövekedés mértéke és fenofázistól való függése jól tükrözi a két genotípus vizsgálata során észlelt általános megfigyeléseket. A három különböző fenofázisban alkalmazott vízmegvonás különböző mértékű károsodást eredményezett a két fajtánál, melyek közül a legkisebb mértékben a meiózis, míg a legnagyobb mértékben a korai szemfejlődés idején alkalmazott kezelésnek volt termésnövekedést gátló hatása. Elmondható, hogy a termés növekedésének mértékét feltételezhetően több tényező befolyásolta, melyek erősítették egymás hatását. A fotoszintetikus folyamatok eltérő szárazságérzékenysége felelőssé tehető a meiózis és az antézis idején alkalmazott vízmegvonásnál a két fajta között megjelenő különbségekért. A korai szemfejlődés idején mindkét fajta széndioxid asszimilációja jelentősen korlátozott volt, ráadásul a mindkét fajtára jellemző, jelentősen lerövidült szemfejlődési és szemfeltöltődési időszak tovább csökkentette a termés mennyiségét.

Valószínűleg a Plainsman V jó regenerációs képessége valamint a Cappelle Desprez endospermiumának az előzőekben tárgyalt sejtnövekedési zavara vezetett a két fajta eltérő kalászonkénti termésmennyiségének és szignifikánsan eltérő keményítő tartalmának kialakulásához.

6.5. A szárazság hatása a kezelt szemek csírázására és a csíranövények gyökérszámára

Az embriók csírázóképesége valamint a magoncok életrevalósága különösen fontos tényező a növények további fejlődése szempontjából. Vizsgálataink során tanulmányoztuk a kísérletekből származó szárazságkezelt szemtermések csírázóképeségét (Fábián és mtsi 2008). Eredményeink szerint annak ellenére, hogy az endospermium keményítőtartalma jelentősen csökkent, egyik fajta esetén sem volt szignifikáns különbség kimutatható a kontroll és a szárazságstressznek kitett szemtermések csírázási gyakorisága között. Ez arra utal, hogy a kezelt szemtermésekben fejlődött, kisebb méretű embriók teljesen funkcióképesek voltak. Bár a fejlődő embriókban a laterális csíragyökerek merisztémái minden esetben jelen voltak, a csíranövények esetében a csíragyökerek száma a kezelés hatására a kontrollhoz viszonyítva lecsökkent, ami az érzékeny Cappelle Desprez fajtánál jóval nagyobb mértéket ért el. A csíragyökerek alacsonyabb számának valószínű oka az endospermiumban raktározott csökkent mennyiségű keményítő (Fábián és mtsi 2011), amely nem volt képes fedezni a mindhárom csíragyökér kifejlődéséhez szükséges tápanyagmennyiséget. Mivel a csíragyökerek látják el vízzel és ásványi anyagokkal a csíranövényeket a csírázástól a bokrosodásig, számuk befolyásolja a bokrosodás mértékét, ezáltal pedig hatással lehet a későbbi termésre is. Más szerzők (Bremner 1963, López-Castañeda és mtsi 1996, Peterson és mtsi 1989) rámutatnak, hogy az embrió mérete és az endospermium mennyisége fontos tényezők a csíranövények korai életképessége szempontjából. Ennek megfelelően a szárazságstressz által indukált, a szemtermések fejlődési folyamataiban megfigyelhető változások hatással lehetnek a következő generáció fejlődésére is.

6.6. Következtetések

A dolgozat elején kitűzött célok négy fő pontban kerültek meghatározásra. Ennek tükrében a munka során elért eredmények alapján az alábbi következtetések vonhatók le:

1. A strukturális és fiziológiai hatások elemzése alapján megállapítható, hogy az őszai búza esetében a vízhiány által kiváltott stresszhatás fejlődési állapot függőséget mutat. Mindkét fajta esetében bizonyítható volt, hogy mind a fiziológiai, mind pedig a termést érintő negatív hatások a meiózis idején jelentkeztek a leggyengébben, míg a korai szemfejlődés idején hatványozottan érvényesültek. Az eltérően időzített ám azonos ideig alkalmazott vízmegvonások hatása eltérő volt a szemtermések korai fejlődésére. Eredményeink szerint a meiózis és az antézis idején ható szárazság mind az embrió, mind pedig a szemtermés fejlődési folyamataiban a kontrollhoz képest lemaradást okozott, ezzel szemben a korai szemfejlődés idején a kezelés hatására a szemtermések fejlődésének felgyorsulása következett be.
2. A toleráns és érzékeny fajta fiziológiai válaszáának összehasonlítása alapján a Plainsman V magasabb szintű toleranciájának egyik kulcseleme az ozmotikus adaptáció képessége, mely bizonyos határokon belül lehetővé teszi a felvett víz megtartását, és így a nagyobb sztómanytottságnak köszönhetően a fotoszintézis fenntartását. Jelentős tényező a toleráns fajta által mutatott, a lombzat és a fiziológiai folyamatok esetében is megfigyelt magasabb szintű regenerációs képesség. Ez a tulajdonság különösen fontos erős stressz esetén, amikor a fajtákra jellemző, nagy mértékben eltérő ozmotikus adaptációs képesség ellenére a toleráns és az érzékeny fajta fiziológiai paraméterei között a vízmegvonás idején nem volt szignifikáns különbség.
3. Megállapítottuk, hogy a szövetek szintjén csak a jelentős stressz okoz változásokat, azonban ezek a változások kiterjednek a B típusú keményítőszemcsék valamint a fehérjetestek számára, befolyásolva ezzel a termés minőségét. Jelentőséggel bír az érzékeny fajta esetében megfigyelt, az endospermiumra jellemző sejtnövekedési zavar, mely vélhetően csökkenti a szemtermés szénhidrát raktározó képességét, ezzel tovább redukálva a termést.

A termésbiztonság szempontjából fontos a két fajta által a szárazság hatásainak csökkentése érdekében választott eltérő stratégia. A Cappelle Desprez a vízhiányra sztómazárással reagál, viszont jelen munka során a károsodásokat csökkentő mechanizmust a fajtánál nem figyeltünk meg, csupán a szemtermés fejlődésének bizonyos fokú felgyorsítása, tehát a menekülés stratégiája volt kimutatható. A Plainsman V tolerancia stratégiája az irodalmi áttekintésben említett felosztás szerint nem határozható meg egyértelműen, inkább a menekülés, elkerülés és elviselés ötvözetének bizonyult. A fajta szintén felgyorsítja életciklusát, ám ezen kívül a magas relatív víztartalom megőrzésével nyitott sztómak mellett a Cappelle Desprez-hez képest magasabb fotoszintetikus aktivitást tart fenn, amit jelentős ozmotikus adaptációs képessége tesz lehetővé. Ezek a tulajdonságok hozzájárulnak a magasabb biomassza produkcióhoz és így a nagyobb terméshez. Jelentős stressz esetén a fajta ugyan nem képes az érzékeny genotípusénál magasabb szinten tartani felépítő anyagcseréjét, azonban jobb regenerációs képességével ekkor is nagyobb termésbiztonságot képes felmutatni, mint a szárazságra érzékeny Cappelle Desprez. Összességében kijelenthetjük, hogy a Plainsman V fajta szárazságstresszre mutatott reakciója gyorsabban következett be, és minden általunk vizsgált paraméter esetében jobban teljesített, mint a Cappelle Desprez.

7. Az eredmények összefoglalása

A dolgozatban szereplő, legfontosabbnak tartott tudományos eredmények az alábbiakban foglalhatók össze:

- Első ízben végeztük el a vízhiány szemfejlődésre gyakorolt hatásainak kvantitatív meghatározását hisztológiai és statisztikai módszerek segítségével. Bizonyítottuk, hogy a korai szemfejlődés idején a termőkben olyan szövettani változások zajlanak le, melyek hatással vannak a termés minőségére illetve annak mennyiségére is.
- A fajták stresszválaszának összehasonlításával kimutattuk, hogy a Plainsman V magasabb szintű toleranciájának legfontosabb elemei a szárazság során fenntartott magas fotoszintetikus aktivitás, valamint az ozmotikus adaptáció képessége, melyek a fajtára jellemző regenerációval párosulva mindhárom kezelés esetén biztosították a fajta jobb termésbiztonságát.

- Kimutattuk, hogy a transzportált szacharóz felhasználását lehetővé tevő, azt hasító invertáz és szacharóz szintáz enzimek aktivitását a búza fejlődő szemterméseiben a szárazság lényegében nem befolyásolta.
- *In situ* hisztokémiai módszer segítségével lokalizáltuk az invertáz és szacharóz szintáz enzimek aktivitását a fejlődő szemterméseken belül.

Összegzés

A termesztett búza hazánk legfontosabb étkezési célú gabonanövénye, melynek termését jelentősen csökkentik a globális klímaváltozás hatására egyre gyakoribbá váló száraz időszakok. Munkánk során célul tűztük ki a búza reprodukív életszakaszának különböző fázisaiban, azaz a gametogenezis, a virágzás és a korai szemfejlődés idején jelentkező szárazság hatásának feltérképezését, a lehetséges tolerancia stratégiák megismerésének érdekében. Vizsgálatainkat fiziológiai és enzimológiai, valamint szövettani módszerekkel végeztük. A szárazságtűrő Plainsman V és az érzékeny Cappelle Desprez stresszválaszának összehasonlításával szerettük volna meghatározni a stressztolerancia lehetséges elemeit.

A strukturális és fiziológiai hatások elemzése során megállapítottuk, hogy az őszi búza esetében a vízhiány által kiváltott stresszhatás fejlődési állapot függőséget mutat. A szárazság negatív hatásai mindkét fajta esetében a gametogenezis idején jelentkeztek a leggyengébben, míg a korai szemfejlődés idején fejtették ki a legerősebb negatív hatást. A fotoszintetikus folyamatok vizsgálata felfedte, hogy a szárazságtűrő Plainsman V a meiózis és az antézis kori stressz idején magasabb sztómányitottság mellett magasabb fotoszintetikus potenciált képes fenn tartani. Ennek alapján magasabb szintű toleranciájának kulcselemei az ozmotikus adaptációra való képesség, valamint a stressz megszűnte után megfigyelt magasabb szintű regeneráció, mely az erős stresszhatás esetén is magasabb terméshozadékot ad. Első ízben végeztük el hisztológiai és statisztikai módszerek segítségével a vízhiány szemfejlődésre gyakorolt hatásainak kvantitatív meghatározását. A szövetek szintjén csak a jelentős mértékű, korai szemfejlődés kori szárazság okozott változásokat. A kisebb, B típusú keményítőszemcsék száma mindkét fajtánál lecsökkent, ugyanakkor a Plainsman V esetében a fehérjetestek számának nagy mértékű emelkedését figyeltük meg. Ezek az eltérések a keményítő- illetve fehérjeteralom megváltoztatása révén önmagukban is hatással lehetnek a termés minőségére. A transzportált szacharóz felhasználását lehetővé tevő invertáz és szacharóz szintáz enzimek aktivitásának erősségét és kifejeződésének mintázatát eredményeink szerint egyik kezelés sem változtatta meg jelentős mértékben. Vizsgálataink alapján a Cappelle Desprez csupán fejlődésének felgyorsítása révén próbálta elkerülni a károsodást, ugyanakkor a Plainsman V stresszválasza a menekülési, az elkerülési és az elviselési stratégiák ötvözetének bizonyult.

Summary

Bread wheat is the most important cereal used for human consumption in Hungary. The yield of wheat is significantly decreased by frequently appearing dry periods enhanced by the global climate change. The aim of this work was to assess the diverse effects of drought treatments used at various stages of reproductive development, such as the phase of gametogenesis, anthesis and early seed development, in order to shed light on the possible tolerance strategies of wheat varieties. Our studies were performed by physiological, enzymological and histological methods. Determination of possible elements of drought tolerance was completed by the comparison of stress reactions of drought tolerant Plainsman V and susceptible Cappelle Desprez genotypes.

The analysis of structural and physiological changes verified that stress reactions of treated plants are developmental stage-dependent. Effects of water withholding were the weakest, when applied at the time of gametogenesis in the case of both varieties, while drought at early seed development led to the most serious negative consequences. Study of the photosynthetic processes revealed that drought tolerant Plainsman V showed higher stomatal conductance during the meiosis timed and anthesis timed stress treatments, which led to higher photosynthetic potential. According to the comparison of physiological stress reactions of the varieties, key features of drought tolerance proven by Plainsman V are the ability to osmotic adjustment and high potential to the regeneration after drought stress ends. According to these results, key elements of higher drought tolerance of the genotype based on its higher osmotic adjustment ability and better regeneration, which contributes to better yield in serious stress conditions. According to our knowledge, quantitative analysis of the effects of drought stress on wheat kernel development was performed for the first time by histological and statistical methods. Only the strong, early seed development-timed drought caused changes in the endosperm at the histological level. Number of the smaller, B type starch granules decreased in both genotypes. Number of the protein bodies showed significant increase in the case of Plainsman V. These alterations may have influence on the quality of the yield by changing the starch/protein ratio. The patterns and degrees of the activity of sucrose cleaving enzymes, acidic invertase and sucrose synthase did not changed considerably after the treatments. According to our results, drought-sensitive Cappelle Desprez cope with the effects of drought stress only by accelerating its life cycle, while strategy of drought resistant Plainsman V included the elements of escape, avoidance and dehydration tolerance.

Köszönetnyilvánítás

Köszönetemet szeretném kifejezni a Magyar Tudományos Akadémia Agrártudományi Kutatóközpont Mezőgazdasági Intézet vezetőségének, hogy lehetővé tette számomra a disszertáció elkészítését.

Hálásan köszönöm Dr. Barnabás Beáta akadémikus asszonynak, a Növényi Sejtbiológiai Osztály vezetőjének, hogy elindított a szaporodásbiológiai kutatások útján és szakmai fejlődésemet figyelemmel kísérte.

Köszönöm témavezetőmnek, Dr. Jäger Katalinnak, hogy sok-sok türelemmel és odafigyeléssel irányította munkámat, formálta látásmódomat és segítette szakmai fejlődésemet.

Köszönöm a Növényi Sejtbiológiai Osztály kutatóinak a szakmai kérdések megvitatásában nyújtott segítségét és az asszisztenciának a lelkiismeretes technikai közreműködését.

Köszönöm szüleimnek, hogy mindig feltétel nélkül támogatták törekvésemet, hogy kutatóvá válhassak.

Köszönöm családomnak, hogy munkámhoz biztos háttérrel és sok-sok szeretettel adnak, ami nélkül a dolgozat nem készülhetett volna el.

Irodalomjegyzék

Alexandersson E, Fraysse L, Sjövall-Larsen S, Gustavsson S, Fellert M, Karlsson M, Johanson U, Kjellbom P (2005) Whole gene family expression and drought stress regulation of aquaporins. *Plant Mol Biol* 59: 469–484

Altenbach SB, DuPont F, Kothari K, Chan R, Johnson E, Lieu D (2003) Temperature, water and fertilizer influence the timing of key events during grain development in a US spring wheat. *J Cereal Sci* 37:9–20

Amor Y, Haigler CH, Johnson S, Wainscott M, Delmer DP (1995) A membrane-associated form of sucrose synthase and its potential role in synthesis of cellulose and callose in plants. *Plant Biol* 92:9353–9357

Ao Z, Jane J (2007) Characterization and modeling of the A- and B-granule starches of wheat, triticale, and barley. *Carbohydr Polym* 67:46–55

Aparicio N, Villegas D, Araus JL, Blanco R, Royo C (2002) Seedling development and biomass as affected by seed size and morphology in durum wheat. *J Agric Sci* 139:143–150

Arnau G, Monneveux P, This D, Alegre L (1997) Photosynthesis of six barley genotypes as affected by water stress. *Photosynthetica* 34:67–76

Arnell NW (1999) Climate change and global water resources. *Global Environ Change* 9:31–49

Asada K, Takahashi M (1987) Production and scavenging of active oxygen in photosynthesis. pp: 227–287 In: Kyle DJ, Osmond CB, Arntzen CJ (szerk.): *Topics in Photosynthesis: Photoinhibition* 9. Elsevier, Amsterdam

Asada K (2006) Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. *Plant Phys* 141:391–396

Augé RM, Duan X, Croker JL, Witte WT, Green CD (1998) Foliar dehydration tolerance of twelve deciduous tree species. *J Exp Bot* 49:753–759

- Austin RB, Edrich JA, Ford MA, Blackwell RD (1977) The fate of the dry matter, carbohydrates and ^{14}C lost from the leaves and stems of wheat during grain filling. *Ann Bot* 41:1309–1321
- Barnabás B, Jäger K, Fehér A (2008) The effect of drought and heat stress on reproductive processes in cereals. *Plant Cell Environ* 31:11–38
- Barnett NM, Naylor AW (1966) Amino acid and protein metabolism in Bermuda grass during water stress. *Plant Physiol* 41:1222–1230
- Bartholy J, Pongrácz R, Pieczka I, Kardos P, Hunyady A (2009) Analysis of expected climate change in the Carpathian Basin using a dynamical climate model. *Lect Notes Comput Sci* 5434:176–183
- Bechtel D, Zayas I, Kaleikau L, Pomeranz, Y (1990) Size distribution of wheat starch granules during endosperm development. *Cereal Chem* 67:59–63
- Bennett MD, Smith JB, Barclay I (1975) Early seed development in the Triticeae. *Philos Trans R Soc London, Ser B* 272:199–227
- Bewley DJ, Black M (1995): *Seeds: physiology of development and germination*. Plenum Press, New York. ISBN 0-306-44747-9
- Bidinger F, Musgrave RB, Fischer RA (1977) Contribution of stored pre-anthesis assimilate to grain yield in wheat and barley. *Nature* 270:431–433
- Blum A (1998) Improving wheat grain filling under stress by stem reserve mobilisation. *Euphytica* 100:77–83
- Blum A, Zhang J, Nguyen HT (1999) Consistent differences among wheat cultivars in osmotic adjustment and their relationship to plant production. *Field Crops Res* 64:287–291
- Boavida L, Becker JD, Feijó JA (2005) The making of gametes in higher plants. *Int J Dev Biol* 49: 595-614
- Borrás L, Westgate ME, Otegui ME (2003) Control of kernel weight and kernel water relations by post-flowering source-sink ratio in maize. *Ann Bot* 91:857–867

- Bremner PM, Eckersall RN, Scott RK (1963) The relative importance of embryo size and endosperm size in causing the effects associated with seed size in wheat. *J Agric Sci* 61:139–145
- Briarty LG, Hughes CE, Evers AD (1979) The developing endosperm of wheat – A stereological analysis. *Ann Bot* 44:641–658
- Brosché M, Overmyer K, Wrzaczek M, Kangasjärvi (2010) Stress signaling III: Reactive oxygen species (ROS). In: Pareek A, Sopory SK, Bohnert HJ, Govindjee (Szerk) Abiotic stress adaptation in plants. Springer, Dordrecht, The Netherlands pp 91-102.
- Brown RC, Lemmon BE, Olsen OA (1994) Endosperm development in barley: microtubule involvement in the morphogenetic pathway. *Plant Cell* 6:1241–1252
- Buleon A, Colonna P, Planchot V, Ball S (1998) Starch granules: structure and biosynthesis. *Int J Biol Macromol* 23:85–112
- Caruso A, Morabito D, Delmotte F, Kahlem G, Carpin S (2002) Dehydrin induction during drought and osmotic stress in *Populus*. *Plant Physiol Biochem* 40:1033–1042
- Caryl AP, Jones GH, Franklin CH (2003) Dissecting plant meiosis using *Arabidopsis thaliana* mutants. *J Exp Bot* 54: 25–38
- Chandrasekar V, Sairam RK, Srivastava GC (2000) Physiological and biochemical responses of hexaploid and tetraploid wheat to drought stress *J Agron Crop Sci* 185:219–227
- Chang TT, Loresto GC, O'Toole JC Armenta-Soto JL (1982) Strategy and methodology of breeding rice for drought-prone areas. In: Vega MR (Szerk) Drought resistance in crops with emphasis on rice. pp. 217-244
- Chaudhuri UN, Kirkham MB, Kanemasu ET (1990) Root growth of winter wheat under elevated carbon dioxide and drought. *Crop Sci* 30:853-857
- Chaves MM, Flexas J, Pinheiro C (2009) Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Ann Bot* 103:551–560
- Chevalier P, Lingle SE (1982) Sugar metabolism in developing kernels of wheat and barley. *Crop Sci* 23:272–277

- Chourey RS, Talircio WW, Carlson SJ, Ruan YL (1998) Genetic evidence that the two isozymes of sucrose syn-thase present in developing maize endosperm are critical, one for cell wall integrity and the other for starch biosynthesis. *Mol Gen Genet* 259:88–96
- Cochrane MP, Duffus CM (1983) Endosperm cell number in cultivars of barley differing in grain weight. *Ann Appl Biol* 102:177–181
- Collins R, Kristensen P, Thyssen N (2009) Water resources across Europe - confronting water scarcity and drought. European Environment Agency. EEA Report. No 2009/2. 60
- Copeland L (1990) Enzymes of sucrose metabolism. *Methods Plant Biochem* 3:73–85
- Cornic G (2000) Drought stress inhibits photosynthesis by decreasing stomatal aperture - not by affecting ATP synthesis. *Trends Plant Sci* 5:187–188
- Cosségal M, Vernoud V, Depège N, Rogowsky PM (2007) The embryo surrounding region In: Olsen OA (Szerk.) *Endosperm. Plant Cell Monographs* 8:57-71. Springer-Verlag Berlin, 2007
- Curtis BC (2002) Wheat in the world. In: Curtis BC, Rajaram S, Macpherson HG (Szerk.) *Bread wheat. Improvement and production. FAO Plant Production and Protection Series, No. 30. Rome, 2002.*
- Dai ZM, Yin YP, Zhang M, Li WY, Yan SH, Cai RG, Wang ZL (2008) Distribution of starch granule size in grains of wheat grown under irrigated and rainfed conditions. *Acta Agron Sin* 34:795–802
- Dale EM, Housley TL (1986) Sucrose synthase activity in developing wheat endosperms differing in maximum weight. *Plant Physiol* 82:7–10
- Daniel C, Tribot E (2002) Changes in wheat protein aggregation during grain development: effects of temperatures and water stress. *Eur J Agron* 16:1–12
- Davies WJ, Zhang J (1991) Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil. *Annu Rev Plant Phys Plant Mol Biol* 42:55–76
- De Leonadris AM, Marone D, Mazzucolletti E, Neffar F, Rizza F, Di Fonzo N, Cattivelli L, Mastrangelo AM (2007) Durum wheat genes up-regulated in the early phases of cold

stress are modulated by drought in developmental and genotype manner. *Plant Sci* 172:1005–1016

Demirevska K, Simova-Stoilova L, Vassileva V, Vaseva I, Grigorova B, Feller U (2008) Drought - induced leaf protein alterations in sensitive and tolerant varieties. *Gen Appl Plant Physiol* 34:79–102

Demmig-Adams B, Adams WW (1992) Photoprotection and other responses of plants to high light stress. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 43:599–626

Dolferus R, Ji X, Richards RA (2011) Abiotic stress and control of grain number in cereals. *Plant Sci* 181:331–341

Domínguez F, Moreno J, Cejudo FJ (2001) The nucellus degenerates by a process of programmed cell death during the early stages of wheat grain development. *Planta* 213:352–360

Dorion S, Lalonde S, Saini HS (1996) Induction of male sterility in wheat by meiotic-stage water deficit is preceded by a decline in invertase activity and changes in carbohydrate metabolism in anthers. *Plant Physiol* 111:137–145

Dubbe DR, Farquhar GD, Raschke K (1978) Effect of abscisic acid on the gain of the feedback loop involving carbon dioxide and stomata. *Plant Physiol* 62:413–417

Dudits D (2006) A Búzakonzorcium mint mérőföldkő a hazai búzafutásban. In: Dudits D (Szerk) *A búza nemesítésének tudománya*. pp. 11-17. MTA SZBK-Winter Fair Kft., Szeged. ISBN 978-963-87189-2-7

Dupont FM (2008) Metabolic pathways of the wheat (*Triticum aestivum*) endosperm amyloplast revealed by proteomics. *BMC Plant Biol* 2008:8–39

Egli D (1998) *Seed biology and the yield of grain crops*. CAB International, New York

El-Hafid R, Smith DH, Karrou M, Samir K (1998) Physiological attributes associated with early-season drought resistance in spring durum wheat cultivars. *Can J Plant Sci* 78:227–237

Ekanayake II, De Datta SK, Steponkus PL (1989) Spikelet sterility and flowering response of rice to water stress at anthesis. *Ann Bot* 63:257-264

- Evers AD (1970) Development of the endosperm of wheat. *Ann Bot* 34:547–555
- Evers T, Millar S. (2002) Cereal grain structure and development: some implications for quality. *J Cereal Sci* 36:261–284
- Fábián A, Jäger K, Barnabás B (2008) Effects of drought and combined drought and heat stress on germination ability and seminal root growth of wheat (*Triticum aestivum* L) seedlings. *Acta Biol Szeged* 52:157–159
- Fábián A, Jäger K, Rakszegi M, Barnabás B (2011) Embryo and endosperm development in wheat (*Triticum aestivum* L.) kernels subjected to drought stress. *Plant Cell Rep* 30:551–563
- Fisher DB, Gifford RM (1986) Accumulation and conversion of sugars by developing wheat grains. VI. Gradients along the transport pathway from the peduncle to the endosperm cavity during grain filling. *Plant Physiol* 82:1024-1030
- Flexas J, Bota J, Loreto F, Cornic G, Sharkey TD (2004) Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C₃ plants. *Plant Biol* 6:269–279
- Flexas J, Medrano H (2002) Drought-inhibition of photosynthesis in C₃ plants: stomatal and non-stomatal limitations revisited. *Ann Bot* 89:183–189
- Fodor N, Pásztor L (2010) The agro-ecological potential of Hungary and its prospective development due to climate change. *AEER* 8:177–190
- Ford CW, Wilson JR (1981) Changes in levels of solutes during osmotic adjustment to water stress in leaves of four tropical pasture species. *Aust J Plant Physiol* 8:77 –91
- Foulkes MJ, Sylvester-Bradley R, Weightman R, Snape JW (2007) Identifying physiological traits associated with improved drought resistance in winter wheat. *Field Crops Res* 103:11–24
- Galiba G, Simon-Sarkadi L, Salgo A, Kocsy G (1989) Genotype dependent adaptation of wheat varieties to water stress in vitro. *J Plant Physiol* 134:730–735
- Gan Z, Ellis PR, Schofield JD (1995) Mini review. Gas cell stabilization and gas retention in wheat bread dough. *J Cereal Sci* 21:215–230

- Gao X, Francis D, Ormrod JC, Bennett MD (1992) Changes in cell number and cell division activity during endosperm development in allohexaploid wheat, *Triticum aestivum* L. *J Exp Bot* 43:1603–1609
- Gasic K, Korban SS (2006) Heavy metal stress. In: Rao KVM, Raghavendra AS, Reddy KJ (szerk): *Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants*. Springer , Dordrecht
- Genty B, Briantais JM, Baker NR (1989) The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim Biophys Acta* 990:87–92
- Gleadow RM, Dalling MJ, Halloran GM (1982) Variation in endosperm characteristics and nitrogen contents in six wheat lines. *Aust J Bot* 9:539–551
- Guóth A, Tari I, Gallé Á, Csiszár J, Pécsváradi A, Cseuz L, Erdei L (2009) Comparison of the drought stress response of tolerant and sensitive wheat cultivars during grain filling: changes in flag leaf photosynthetic activity, ABA levels, and grain yield. *J Plant Growth Regul* 28:167–176
- He JX, Wang J, Liang HG (1995) Effects of water stress on photochemical function and protein metabolism of photosystem II in wheat leaves. *Physiol Plant* 93:771–777
- Henson IE, Jensen CR, Turner NC (1989) Leaf gas exchange and water relations of lupins and wheat. III. Abscisic acid and drought-induced stomatal closure. *Aust J Plant Phys* 16:429–442
- Herbers K, Sonniewald U (1998) Molecular determinants of sink strength. *Curr Opin Plant Biol* 3:207–216
- Herrero MP, Johnson RR (1981) Drought stress and its effects on maize reproductive systems. *Crop Sci* 21:105–110
- Hülskamp M, Schneitz K, Pruitt RE (1995) Genetic evidence for a long-range activity that directs pollen tube guidance in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 7:57–64
- Inoue T, Inanaga S, Sugimoto Y, An P, Eneji AE (2004) Effect of drought on ear and flag leaf photosynthesis of two wheat cultivars differing in drought resistance. *Photosynthetica* 42:559–565

Jamieson PD, Martin RJ, Francis GS (1995) Drought influences on grain yield of barley, wheat, and maize. *NZ J Crop Hort Sci* 23:55–66

Jäger K, Fábíán A, Barnabás B (2008) Effect of water deficit and elevated temperature on pollen development of drought sensitive and tolerant winter wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes. *Acta Biol Szeged* 52:67–71

Jäger K, Fábíán A, Tompa G, Deak C, Höhn M, Olmedila A, Barnabás B, Papp I (2011) New phenotypes of the drought-tolerant *cbp20* Arabidopsis thaliana mutant have changed epidermal morphology. *Plant Biol* 13:78–84

Khanna-Chopra R, Selote DS (2007) Acclimation to drought stress generates oxidative stress tolerance in drought-resistant than -susceptible wheat cultivar under field conditions. *Environ Exper Bot* 60:276–283

Keeling PL, Wood JR, Tyson RH, Bridges IG (1988) Starch biosynthesis in developing wheat grain. Evidence against the direct involvement of triosephosphates in the metabolic pathway. *Plant Physiol* 87:311–319

Keyvan S (2010) The effects of drought stress on yield, relative water content, proline, soluble carbohydrates and chlorophyll of bread wheat cultivars. *J Anim Plant Sci* 8:1051–1060

Kimball BA, Morris CF, Pinter PJ, Wall GW, Hunsaker DJ, Adamsen FJ, LaMorte RL, Leavitt SW, Thompson TL, Matthias AD, Brooks TJ (2001) Elevated CO₂, drought and soil nitrogen effects on wheat grain quality. *New Phytol* 150:295–303

Koch K (2004) Sucrose metabolism: regulatory mechanisms and pivotal roles in sugar sensing and plant development. *Curr Opin Plant Biol* 7:235–246

Koch KE, Zeng Y (2002) Molecular approaches to altered C partitioning: genes for sucrose metabolism. *J Am Soc Hort Sci* 127:474–483

Kozaki A, Takeba G (1996) Photorespiration protects C₃ plants from photooxidation. *Nature* 384:557–560

Kramer PJ (1983) Cell water relations. p. 25–26. In: Kramer PJ: Water relations of plants. Academic Press, Oxford.

- Krause GH, Weis E (1991) Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 42:313–349
- Labhili M, Joudrier P, Gautier MF (1995) Characterization of cDNAs encoding *Triticum durum* dehydrins and their expression patterns in cultivars that differ in drought tolerance. *Plant Sci* 112:219–230
- Lalonde S, Beebe DU, Saini HS (1997) Early signs of disruption of wheat anther development associated with the induction of male sterility by meiotic-stage water deficit. *Sex Plant Reprod* 10:40–48
- Lawlor DW (2002) Limitation to photosynthesis in water stressed leaves: stomata vs. metabolism and the role of ATP. *Ann Bot* 89:1–15
- Lawlor DW, Cornic G (2002) Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant Cell Environ* 25: 275–29
- Letierrier M, Corpas FJ, Barroso JB, Sandalio LM, Del Río LA (2005): Peroxisomal monodehydroascorbate reductase. Genomic clone characterization and functional analysis under environmental stress conditions. *Plant Phys* 138:2111–2123
- Liang J, Zhang J, Cao X (2001) Grain sink strength may be related to the poor grain filling of indica-japonica rice (*Oriza sativa* L.) hybrids. *Plant Physiol* 112:470–477
- Lim JD, Chob JI, Parkc YI, Hahn TR, Choia SB, Jeonb JS (2006) Sucrose transport from source to sink seeds in rice. *Physiol Plant* 126:572–584
- Loggini B, Scartazza A, Brugnoli E, Navari-Izzo F (1999) Antioxidative defense system, pigment composition, and photosynthetic efficiency in two wheat cultivars subjected to drought. *Plant Physiol* 119:1091–1099
- López-Castañeda C, Richards RA, Farquhar GD, Williamson RE (1996) Seed and seedling characteristics contributing to variation in early vigor among temperate cereals. *Crop Sci* 36:1257–1266
- Lord EM, Russell SD (2002) The mechanisms of pollination and fertilization in plants. *Annu Rev Cell Dev Biol* 18:81–105

- Loss SP, Siddique KHM (1994) Morphological and physiological traits associated with wheat yield increases in Mediterranean environments. *Adv Agron* 52:229–276
- Mach JM, Greenberg, JT (2004) Free radicals and oxidative stress. pp. 203–214. In: Noodén LD (szerk) *Plant Cell Death Processes*. Academic Press, San Diego
- Maheshwari P (1950) *An introduction to the embryology of angiosperms*. (New York: McGraw-Hill)
- Mares DJ, Stone BA, Jeffrey C, Norstog K (1977) Early stages in the development of wheat endosperm. II Ultrastructural observations on cell wall formation. *Aust J Bot* 25:599–613
- Maxwell K, Johnson GN (2000) Chlorophyll fluorescence - a practical guide. *J Exp Bot* 51:659–668
- McCormick S (2004) Control of male gametophyte development. *Plant Cell* 16:S142–S153
- McLaughlin JE, Boyer JS (2004a) Glucose localization in maize ovaries when kernel number decreases at low water potential and sucrose is fed to the stems. *Ann Bot* 94:75–86
- McLaughlin JE, Boyer JS (2004b) Sugar-responsive gene expression, invertase activity, and senescence in aborting maize ovaries at low water potentials. *Ann Bot* 94:675–689
- Miller GL (1959) Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal Chem* 31:426–428
- Mittler R (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci* 7:405–410
- Moinuddin F, Fischer RA, Sayre KD, Reynolds MP (2005) Osmotic adjustment in wheat in relation to grain yield under water deficit environments. *Agron J* 97:1062–1071
- Morgan CL, Austin RB (1983) Respiratory loss of recently assimilated carbon in wheat. *Ann Bot* 51:85–95
- Morrison IN, Kuo J, O'Brian IP (1975) Histochemistry and fine structure of developing wheat aleurone cells. *Planta* 123:105–116

- Morrison, IN, O'Brien, TP, Kuo, J (1978) Initial cellularization and differentiation of the aleurone cells in the ventral region of the developing wheat grain. *Planta* 140:19–30
- Nicolas ME, Gleadow RM, Dalling MJ (1985) Effect of post-anthesis drought on cell division and starch accumulation in developing wheat grains. *Ann Bot* 55:433–44
- Oliver SN, Van Dongen JT, Alfred SC, Mamun EA, Zhao X, Saini HS, Fernandes SF, Blanchard CL, Sutton BG, Geigenberger P, Dennis ES, Dolferus R (2005) Cold-induced repression of the rice anther-specific cell wall invertase gene *OSINV4* is correlated with sucrose accumulation and pollen sterility. *Plant Cell Environ* 28:1534–1551
- Olsen OA, Linnestad C, Nichols SE (1999) Developmental biology of the cereal endosperm. *Trends Plant Sci* 4:253–257
- Olsen OA (2004) Nuclear endosperm development in cereals and *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell* 16:S214–S227
- Ort DR (2001) When there is too much light. *Plant Physiol* 125:29–32
- Ozturk A, Aydin F (2004) Effect of water stress at various growth stages on some quality characteristics of winter wheat. *J Agron Crop Sci* 190:93–99
- Park SH, Wilson JD, Seabourn BW (2009) Starch granule size distribution of hard red winter and hard red spring wheat: Its effects on mixing and breadmaking quality. *J Cereal Sci* 49:98–105
- Park SH, Chung OK, Seib PA (2005) Effects of varying weight ratios of large and small wheat starch granules on experimental straight-dough bread. *Cereal Chem* 82:166–172
- Parry MAJ, Andralojc PJ, Khan S, Lea PJ, Keys AJ (2002) Rubisco activity: effects of drought stress. *Ann Bot* 89:833–839
- Patrick JW, Offler CE (2001) Compartmentation of transport and transfer events in developing seeds. *J Exp Bot* 52:551–564
- Peterson CM, Klepper B, Rickman RW (1989) Seed reserves and seedling development in winter wheat. *Agron J* 81:245–251
- Percival J (1921) *The wheat plant. A monograph.* Duckworth and Co, London

- Plaut Z, Butow BJ, Blumenthal CS, Wrigley CW (2004) Transport of dry matter into developing wheat kernels and its contribution to grain yield under post anthesis water deficit and elevated temperature. *Field Crop Res* 86:185–198
- Proels RK, González MC, Roitsch T (2006) Gibberellin-dependent induction of tomato extracellular invertase *Lin7* is required for pollen development. *Funct Plant Biol* 3: 547–554
- Raeker MÖ, Gaines CS, Finney PL, Donelson T (1998) Granule size distribution and chemical composition of starches from 12 soft wheat cultivars. *Cereal Chem* 75:721–728
- Ranwala AP, Miller WB (1998) Sucrose-cleaving enzymes and carbohydrate pools in *Lilium longiflorum* floral organs. *Physiol Plant* 103:541–550
- Reddy AR, Chaitanya KV, Vivekanandan M (2004) Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *J Plant Physiol* 161:1189–1202
- Rekika D, Nachit MM, Araus JL, Monneveux P (1998) Effects of water deficit on photosynthetic rate and osmotic adjustment in tetraploid wheats. *Photosynthetica* 35: 129–138
- Rogers SO, Quatrano RS (1983): Morphological staging of wheat caryopsis development. *Am J Bot* 70:308–311
- Saeedipour S, Moradi F (2011) Activities of sucrose-metabolizing enzymes in grains of two wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars subjected to water stress during grain filling. *J Plant Breed Crop Sci* 3:106–113
- Saini HS (1997) Effects of water stress on male gametophyte development in plants. *Sex Plant Reprod* 10:67–73
- Saini HS, Westgate ME (2000) Reproductive development in grain crops during droughts. *Adv Agron* 68:59–96
- Schachtman DP, Goodger JQD (2008) Chemical root to shoot signaling under drought. *Trends Plant Sci* 13:281–287
- Schulze ED, Beck E, Müller-Hohenstein K (2005) *Plant ecology*. Springer, Heidelberg

- Sečenji M, Hideg É, Bebes A, Györgyey J (2010) Transcriptional differences in gene families of the ascorbate-glutathione cycle in wheat during mild water deficit. *Plant Cell Rep* 29:37–50
- Seki M, Umezawa T, Urano K, Shinozaki K (2007) Regulatory metabolic networks in drought stress responses. *Curr Opin Plant Biol* 10:296–302
- Sergeeva LI, Vrugdenhil D (2002) *In situ* staining of activities of enzymes involved in carbohydrate metabolism in plant tissues. *J Exp Bot* 53:361–370
- Seropian C, Planchon C (1984) Physiological responses of six bread wheat and durum wheat genotypes to water stress. *Euphytica* 33:757–767
- Selye H (1936) A syndrome produced by various noxious agents. *Nature* 138: 32–34
- Shah NH, Paulsen GM (2003) Interaction of drought and high temperature on photosynthesis and grain-filling of wheat. *Plant Soil* 257:219–226
- Shangguan Z, Shao M, Dyckmans J (1999) Interaction of osmotic adjustment and photosynthesis in winter wheat under soil drought. *J Plant Physiol* 154:753–758
- Sheoran IS, Saini HS (1996) Drought-induced male sterility in rice: Changes in carbohydrate levels and enzyme activities associated with the inhibition of starch accumulation in pollen. *Sex Plant Reprod* 9:161–169
- Shewry PR, Halford NG (2002) Cereal grain storage proteins: structures, properties and role in grain utilization. *J Exp Bot* 53:947–95
- Shewry PR, Halford NG, Belton PS, Tatham AS (2002) The structure and properties of gluten: an elastic protein from wheat grain. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 357:133–142
- Shewry PR, Tatham AS (1990) The prolamin storage proteins of cereal seeds: structure and evolution. *Biochem J* 267:1–12
- Shewry PR, Tatham AS Halford NG (1999) The prolamins of the Triticeae. In: Pages Shewry PR Casey R (szerk) *Seed Proteins*. pp 35–78 Kluwer Academic Publishers: Dordrecht, The Netherlands

- Shigeoka S, Ishikawa T, Tamoi M, Miyagawa Y, Takeda T, Yabuta Y, Yoshimura K (2002) Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. *J Exp Bot* 53:1305–1319
- Simmonds DH (1989) *Wheat and wheat quality in Australia*. ISBN 0 643 04799 9. CSIRO Publishing, Collingwood, Australia
- Smart MG, O'Brien TP (1983) The development of the wheat embryo in relation to the neighbouring tissues. *Protoplasma* 114:1–13
- Smirnoff N (1993) The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *New Phytol* 125:27–58
- Spurr AR (1969) A low viscosity epoxy embedding medium for electron microscopy. *J Ultrastruct Res* 26:31–43
- Sturm A (1999) Invertases. Primary structures, functions, and roles in plant development and sucrose partitioning. *Plant Physiol* 121:1–8
- Sturm A, Tang GQ (1999) The sucrose-cleaving enzymes of plants are crucial for development, growth and carbon partitioning. *Trends Plant Sci* 4:401–407
- Sung SJS, Xu DP, Black CC (1989) Identification of actively filling sucrose sinks. *Plant Physiol* 89:1117–1121
- Szegletes Zs, Erdei L, Tari I, Cseuz L (2000) Accumulation of osmoprotectants in wheat cultivars of different drought tolerance. *Cereal Res Commun* 28:403–410
- Szécsényi M (2010) Fajtafügő életani és transzkriptszintű változások szárazságstressz hatására búzában. Doktori értekezés. SZTE TTIK Biológia Doktori Iskola 2010, Szeged
- Szigeti Z (2005) Mechanism of paraquat resistance – from the antioxidant enzymes to the transporters. *Acta Biol Szeged* 49:177–179
- Szira F, Bálint AF, Börner A, Galiba G (2008) Evaluation of drought-related traits and screening methods at different developmental stages in spring barley. *J Agron Crop Sci* 194:334–342

- Tambussi EA, Bartoli CG, Beltrano J, Guiamet JJ, Araus JL (2000) Oxidative damage to thylakoid proteins in water-stressed leaves of wheat (*Triticum aestivum*). *Physiol Plant* 108:398–404
- Tester RF, Karkalas J, Qi X (2004) Starch-composition, fine structure and architecture. *J Cereal Sci* 39:151–165
- Tezara W, Mitchell VJ, Driscoll SD, Lawlor DW (1999) Water stress inhibits plant photosynthesis by decreasing coupling factor and ATP. *Nature* 1401:914–917
- Thompson RD, Hueros G, Becker HA, Maitz M (2001) Development and functions of seed transfer cells. *Plant Sci* 160:775–783
- Tímár I, Kristóf Z, Barnabás B (1997) Comparative studies on the male and female gametophyte development in three different Triticum species. *Plant Science* 126: 97–104
- Tischner T, Kőszegi B, Veisz O (1997) Climatic programmes used in the Martonvásár phytotron most frequently in recent years. *Acta Agron Hung* 45:85–104
- Tosi P (2012) Trafficking and deposition of prolamins in wheat, *J Cereal Sci* doi:10.1016/j.jcs.2012.02.004
- Turnbull KM, Rahman S (2002) Endosperm texture in wheat. *J Cereal Sci* 36:327–337
- Turner NC (1997) Further progress in crop water relationship. *Adv Agron* 58:293–338
- Venkateswarlu B, Visperas RM (1987) Source-sink relationship in crop plants. *Int Rice Res Paper Series* 125:1–19
- Vu JCV, Gesch RW, Allen LH, Boote KJ, Bowes G (1999) CO₂ enrichment delays a rapid, drought induced decrease in Rubisco small subunit transcript abundance. *J Plant Physiol* 155:139–147
- Wang HL, Offler CE, Patrick JW (1994) Nucellar projection transfer cells in the developing wheat grain. *Protoplasma* 182:39-52
- Wang HL, Patrick JW, Offler CE, Wang XD (1995) The cellular pathway of photosynthate transfer in the developing wheat grain. III. A structural analysis and physiological studies of the pathway from the endosperm cavity to the starchy endosperm. *Plant Cell Environ* 18:389–407

- Wardlaw IF, Willenbrink J. (2000) Mobilization of fructan reserves and changes in enzyme activities in wheat stems correlate with water stress during kernel filling. *New Phytol* 148:413–422
- Weibel ER, Gomez DM (1962) A principle for counting tissue structures on random sections. *J Appl Physiol* 17:343–348
- Westgate ME (1994) Water status and development of the maize endosperm and embryo during drought. *Crop Sci* 34:76–83
- Weterings K, Russell SD (2004) Experimental analysis of the fertilization process. *Plant Cell* 16:S107–S118
- Willenbrink J, Bonnett GD, Willenbrink S, Wardlaw IF (1998) Changes of enzyme activities associated with the mobilization of carbohydrate reserves (fructans) from the stem of wheat during kernel filling. *New Phytol* 139:471–478
- Winter H, Huber SC (2000) Regulation of sucrose metabolism in higher plants: localization and regulation of activity of key enzymes. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 35:253–289
- Wobus U, Weber H (1999) Sugars as signal molecules in plant seed development. *Biol Chem* 390:937–944
- Xu DP, Sung SJS, Loboda T, Kormanik PP, Black CC (1989) Characterization of sucrolysis via the uridine diphosphate and pyrophosphate-dependent sucrose synthase pathway. *Plant Physiol* 90:635–642
- Yadegari R, Drews GN (2004) Female gametophyte development. *Plant Cell* 16:S133–S141
- Yang J, Zhang J, Wang Z, Xu G, Zhu Q (2004) Activities of key enzymes in sucrose-to-starch conversion in wheat grains subjected to water deficit during grain filling. *Plant Physiol* 135:1621–1629
- Yordanov I, Velikova V, Tsonev T, (2000) Plant responses to drought, acclimation, and stress tolerance. *Photosynthetica* 38:171–186

Young TE, Gallie DR (2000) Programmed cell death during endosperm development. *Plant Mol Biol* 44:283–301

Young TE, Gallie DR (2004) Analysis of programmed cell death in wheat endosperm reveals differences in endosperm development between cereals. *Plant Mol Biol* 39:915–926

Zheng Y, Wang, Z (2011) Contrast observation and investigation of wheat endosperm transfer cells and nucellar projection transfer cells *Plant Cell Rep* 30:1281–1288

Publikációs jegyzék

Az értekezés témájához kapcsolódó publikációk

Bírált folyóirat-közlemények

Fábián A, Jäger K, Rakszegi M, Barnabás B (2011) Embryo and endosperm development in wheat (*Triticum aestivum* L.) kernels subjected to drought stress. *Plant Cell Rep* 30:551–563 (IF: 2.301)

Deák C, Jäger K, **Fábián A**, Nagy V, Albert Z, Miskó A, Barnabás B, Papp I (2011) Investigation of physiological responses and leaf morphological traits of wheat genotypes with contrasting drought stress tolerance. *Acta Biol Szeged* 55: 69-71

Szűcs A, Jäger K, Jurca ME, **Fábián A**, Bottka S, Zvara A, Barnabás B, Fehér A (2010) Histological and microarray analysis of the direct effect of water shortage alone or combined with heat on early grain development in wheat (*Triticum aestivum*). *Physiol Plant* 140:174–188 (IF: 2.708)

Fábián A, Jäger K, Barnabás B (2008) Effects of drought and combined drought and heat stress on germination ability and seminal root growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. *Acta Biol Szeged* 52(1):157–159

Jäger K, **Fábián A**, Barnabás B (2008) Effect of water deficit and elevated temperature on pollen development of drought sensitive and tolerant winter wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes. *Acta Biol Szeged* 52(1):67–71

Könyvfejezetek, konferencia-kiadványok

Jäger K, Szűcs A, Jurca ME, **Fábián A**, Bottka S, Zvara A, Barnabás B, Fehér A (2012) Effect of combined drought and heat stress on wheat caryopses: a morphological and gene expression study. In: Bedő Z, Láng L (Szerk.) *Plant Breeding for Future Generations. EUCARPIA 19th General Congress. 21-24 May 2012 p. 374. ISBN 978-963-8351-39-5*

Fábián A, Jäger K, Barnabás B (2012) A szárazságstressz fotoszintézisre gyakorolt hatásának fejlődési állapot függése eltérő toleranciájú búzafajtáknál. In: Veisz Ottó (Szerk.) XVIII. Növénynevelési Tudományos Napok: Összefoglalók. Budapest, Magyarország, 2012.03.06. Budapest p. 75. ISBN:978-963-8351-38-8

Jäger K, Szűcs A, Jurca ME, **Fábián A**, Bottka S, Zvara A, Barnabás B, Fehér A (2012) Histological and microarray analysis of the direct effect of water shortage alone or combined with heat on early grain development in wheat. In: Plant Reproduction for Food. XXII International Congress on Sexual Plant Reproduction. 13-17 February 2012. University of Melbourne, Australia. Handbook and abstracts p. 59

Jäger K, **Fábián A**, Rakszegi M, Barnabás B (2011) Effect of drought on grain development in wheat. In: Veisz O (Szerk.) Climate Change: Challenges and Opportunities in Agriculture: AGRISAFE Final Conference. Budapest, Magyarország, 2011.03.21-2011.03.23. Agricultural Research Institute of the Hungarian Academy of Science, pp. 179–182. (ISBN:978-963-8351-37-1)

Jäger K, **Fábián A**, Barnabás B (2011) Az epidermális bélyegek hatása az *Arabidopsis* és a búza aszálytűrésére. In: Óvári J (Szerk.) XVII. Növénynevelési Tudományos Napok, Összefoglalók: "Növényneveléssel kultúrnövényeink sokféleségéért". Budapest, Magyarország, 2011.04.27. p. 137. (ISBN:978-963-08-1235-1)

Jäger K, **Fábián A**, Tompa G, Deák C, Höhn M, Olmedilla A, Barnabás B, Papp I (2011) A szárazságtűrő *Arabidopsis thaliana* cbp20 mutáns megváltozott epidermisz morfológiát mutat. In: Hohol Róbert (Szerk.) IX. Magyar Genetikai Kongresszus és XVI. Sejt- és Fejlődésbiológiai Napok: Program, összefoglalók. Siófok, Magyarország, 2011.03.25-2011.03.27. Budapest: p. 81. (ISBN:978-963-88019-4-4)

Fábián A, Jäger K, Barnabás B (2011) A korai szemfejlődés idején alkalmazott vízmegvonás hatása különböző stressztoleranciával rendelkező búzafajták szemfejlődésére. In: Óvári J (Szerk.) XVII. Növénynevelési Tudományos Napok, Összefoglalók: "Növényneveléssel kultúrnövényeink sokféleségéért". Budapest, Magyarország, 2011.04.27. p. 135. (ISBN:978-963-08-1235-1)

Bálint A, Szira F, Galiba G, Jäger K, **Fábián A**, Barnabás B (2009) Szárazságtűrési vizsgálatok gabonaféléken. In: Veisz O. (Szerk.) A martonvásári agrárkutatók hatodik évtizede 1999-2009. pp. 43–48 (ISBN: 978-963-8351-35-7)

Fábián A, Jäger K, Barnabás B (2009) A meiózis idején alkalmazott szárazságstressz hatása a toleráns és érzékeny (*Triticum aestivum* L.) genotípusok szemfejlődésére. In: Veisz O (Szerk.) Hagomány és haladás a növénynevelésben: XV. Növénynevelési

Tudományos Napok. Budapest, Magyarország, 2009.03.17. pp. 106–110. (ISBN:978-963-508-575-0)

Fábián A, Jäger K, Darkó É, Barnabás B (2007) Búza petesejtek krioprezervációja vitrifikációs módszerrel. In: Kiss, J, Heszky L (Szerk.) XIII. Növénynevelési Tudományos Napok, 2007. március 12. Összefoglalók, p. 116.

Jäger K, **Fábián A**, Barnabás B (2007) Az együttes hő-és szárazságstressz hatása a stressztoleráns és Plainsman és a stresszérzékeny Cappelle Desprez búzafajták szemfejlődésére. In: Kiss J, Heszky L (Szerk.) XIII. Növénynevelési Tudományos Napok Budapest, 2007. március 12. Összefoglalók, p. 29.

Barnabás B, Molnár-Láng M, Linc G, Szakács É, Jäger K, Molnár I, Bakos F, Ambrus H, Schneider A, Sepsi A, **Fábián A** (2007) Molecular cytogenetics and flowering biology. Cell Biology Department, Agricultural Research Institute, Martonvásár. Ann Wheat News Lett 53:29-30

Dudits D, Jäger K, Ötvös K, Ayaydin F, Kelemen Z, **Fábián A**, Kristóf Z, Fehér A, Barnabás B (2006) Basic molecular mechanisms of cell cycle regulation and activation of wheat egg cells. In: Barnabás B, Jäger K (Szerk.) XIXth International Congress on Sexual Plant Reproduction, Budapest. „From gametes to genes” Book of Abstracts, pp 17–18. ISBN 963 9483 65 6

Jäger K, **Fábián A**, Barnabás B (2006) Effect of heat stress and water deficit on embryo development in wheat (*Triticum aestivum* L.) In: Barnabás B, Jäger K (Szerk.) XIXth International Congress on Sexual Plant Reproduction, Budapest. „From gametes to genes” Book of Abstracts, pp 74–75. ISBN 963 9483 65 6

Fábián A, Darkó É, Jäger K, Barnabás B (2006) A búza női ivarsejtek krioprezervációjában alkalmazott technikai paraméterek optimalizálása., In: XII. Növénynevelési Napok, Összefoglaló, Akadémiai Kiadó, Budapest p. 89.

Fábián A, Zsoldos F, Vashegyi Á, Bóna L, Pécsváradi A (2004) Experiments on posttranslational regulation of glutamine synthetase activity. In: 7th International Symposium on Inorganic Nitrogen Assimilation in Plants, June 23-27, 2004. Wageningen, The Netherlands. Book of Abstracts p. 67.

Tudományos fórumon tartott előadások

Fábián A, Jäger K, Barnabás B (2007) A szárazságstressz hatása az eltérő stressztoleranciájú Cappelle Desprez és Plainsman V búzafajták szemfejlődésére. „Búzakalász Konzorcium” résztvevőinek beszámolója. Mátraháza, 2007. október 15-17.

Fábián A, Jäger K, Barnabás B (2007) A szárazság- és hőstressz szemfejlődésre gyakorolt hatásának vizsgálata különböző stressztoleranciájú búzafajtákban szövettani módszerek segítségével. VEAB Biotechnológia és Növényélettani Munkabizottságának ülése, Martonvásár, 2007. október 25.

Jäger K, **Fábián A**, Barnabás B (2007) A szárazság és az együttes szárazság és hőstressz hatásának összehasonlítása szárazságtűrő és érzékeny búzafajták szemterméseinél. "Búzakalász Konzorcium" résztvevőinek beszámolója. Mátraháza, 2007. október 15-17.

Egyéb publikációk

Jäger K, **Fábián A**, Tompa G, Deák C, Höhn M, Olmedilla A, Barnabás B, Papp I (2011) New phenotypes of the drought-tolerant *cbp20 Arabidopsis thaliana* mutant have changed epidermal morphology. *Plant Biol* 13:78–84 (IF: 2.223)

Deák C, Jäger K, **Fábián A**, Papp I (2010) Low and high ψ ways from post-transcriptional RNA regulation to drought tolerance. *Plant Signal Behav* 5(12):1549–1552

Barnabás B, Jäger K, Ambrus H, **Fábián A**, Bakos F, Pónya Zs, Darkó É, Sági L (2009) Szaporodásbiológiai kutatások a növénynemesítés szolgálatában. In: Veisz O. (Szerk.) A martonvásári agrárkutatások hatodik évtizede 1999-2009. pp. 93–98. (ISBN: 978-963-8351-35-7)

Fábián A, Jäger K, Darkó É, Barnabás B (2008) Cryopreservation of wheat (*Triticum aestivum* L.) egg cells by vitrification. *Acta Physiol Plant* 30:737-744 (IF: 1.232)

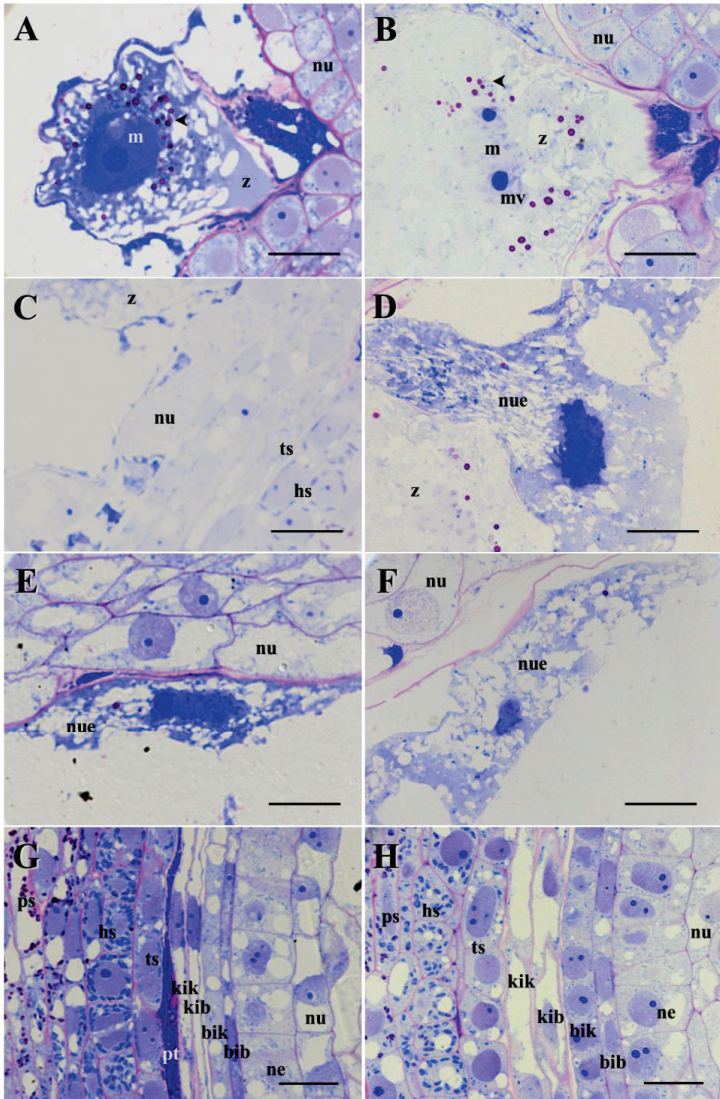
Bakos F, **Fábián A**, Barnabás B (2007) Isolated microspore cultures of a Hungarian durum wheat (*Triticum turgidum* L.) cultivar, Martondur 1. *Acta Agronomica Hungarica* 55(2):157–164

Fábián A, Darkó É, Jäger K, Barnabás B (2007) A búza (*Triticum aestivum* L.) női ivarsejtjeinek krioprezervációja vitrifikációs módszer alkalmazásával. Növénytermelés 56(5-6):321–332

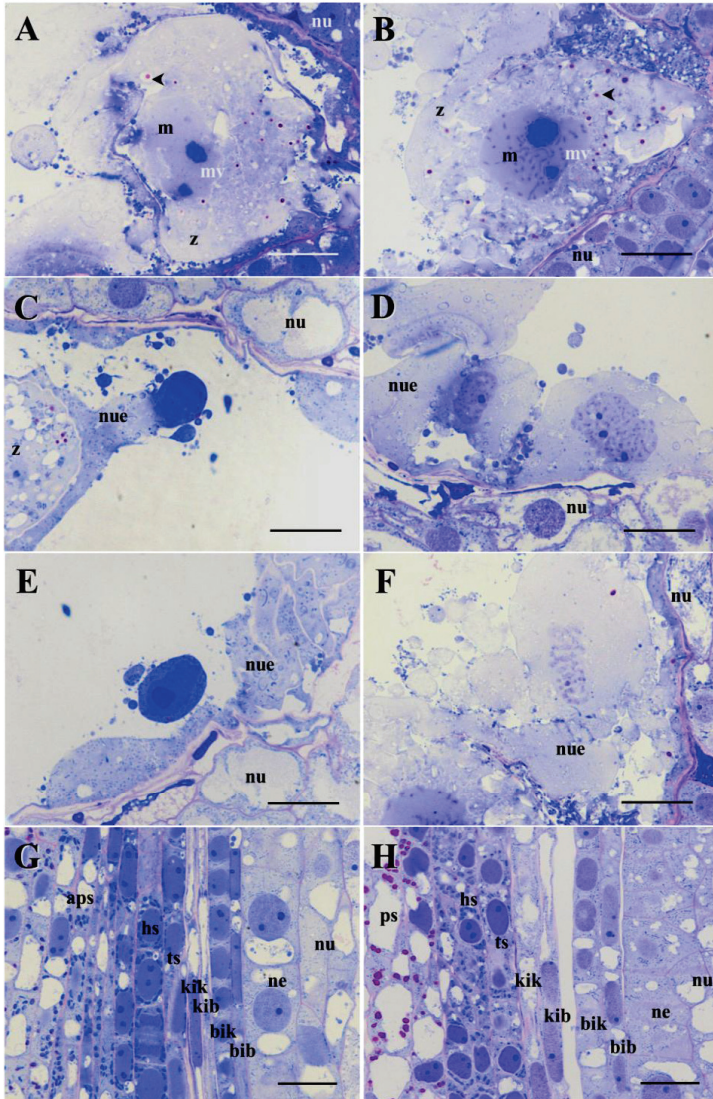
Fábián A, Jager K, Darkó É, Barnabás B (2007) Búza petesejtek krioprezervációja vitrifikációs módszerekkel. In: Heszky L, Kiss J (Szerk.) XIII. Növénynevelési Tudományos Napok: Összefoglalók. Budapest, Magyarország, 2007.03.12. MTA Agrártudományok Osztályának Növénynevelési Bizottsága, p. 116.

Kertész S, **Fábián A**, Zsoldos F, Vashegyi Á, Labádi I, Bona L, Pécsváradi A (2002) Changes in glutamine synthetase activity in presence of aluminium complexes. Acta Biol Szeged 46(3–4):103–104

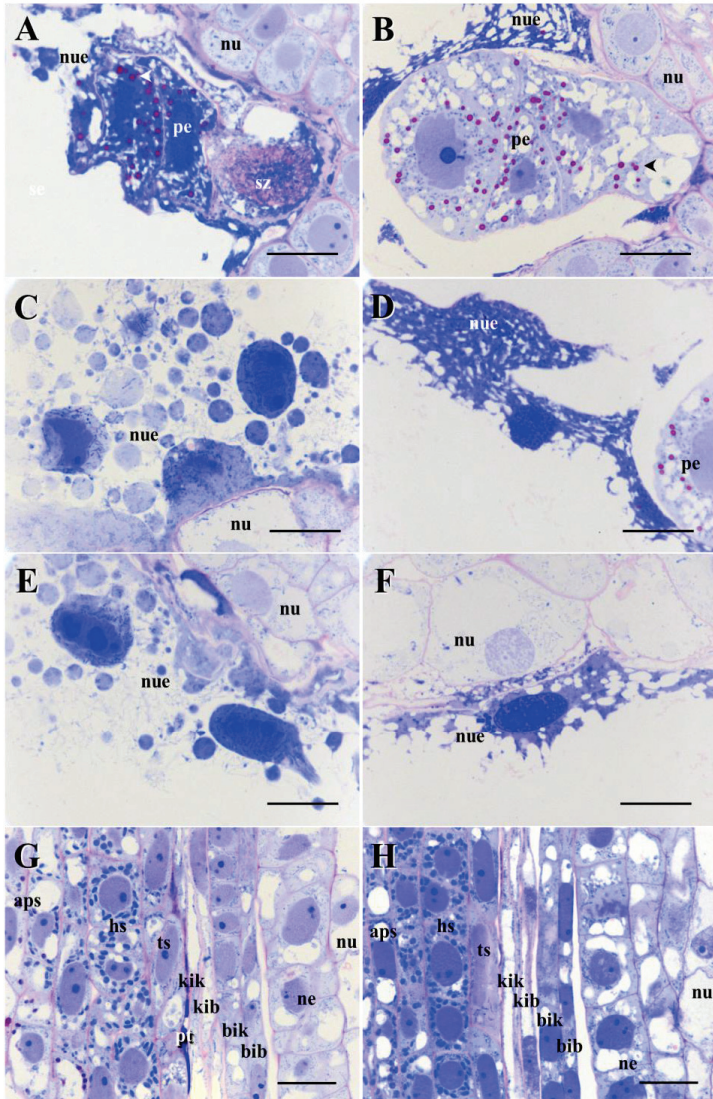
Függelék



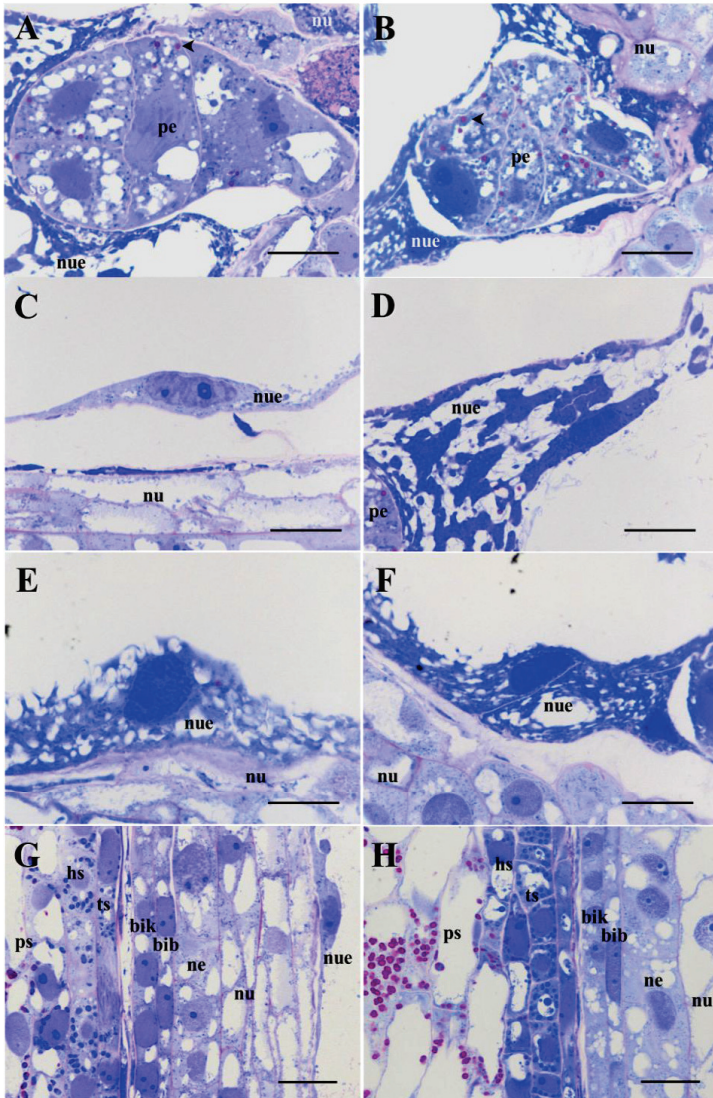
1. Kiegészítő ábra. Kontroll (A, C, E, G) és a virágzás után 1-5 nappal vízhiánynak kitett (B, D, F, H) Cappelle Desprez növények termőiben fejlődő 1 napos zigóta (A, B), a zigótával határos endospermium (C, D), a perifériás endospermium (E, F) és a fejlődő szemtermést alkotó anyai és fiálialis eredetű sejtrétegek (G, H) fénymikroszkópos felvételei. bib: a belső integumentum belső sejtrétege; bik: a belső integumentum külső sejtrétege; hs: harántsejtek; kik: külső integumentum külső sejtrétege; kib: külső integumentum belső sejtrétege; m: sejtmag; mv: sejtmagvaeska; ne: a nucellusz epidermisze; nu: nukleusz; nue: nukleáris endospermium; pe: proembrió; ps: parenchima sejtek; pt: pollentömlő; ts: tömlősejtek; z: zigóta; nyílhegy: petesejt-eredetű keményítőszemcsék. Kék festődés: fehérjék; pirosas festődés: szénhidrátok. Bar: 20 μ m.



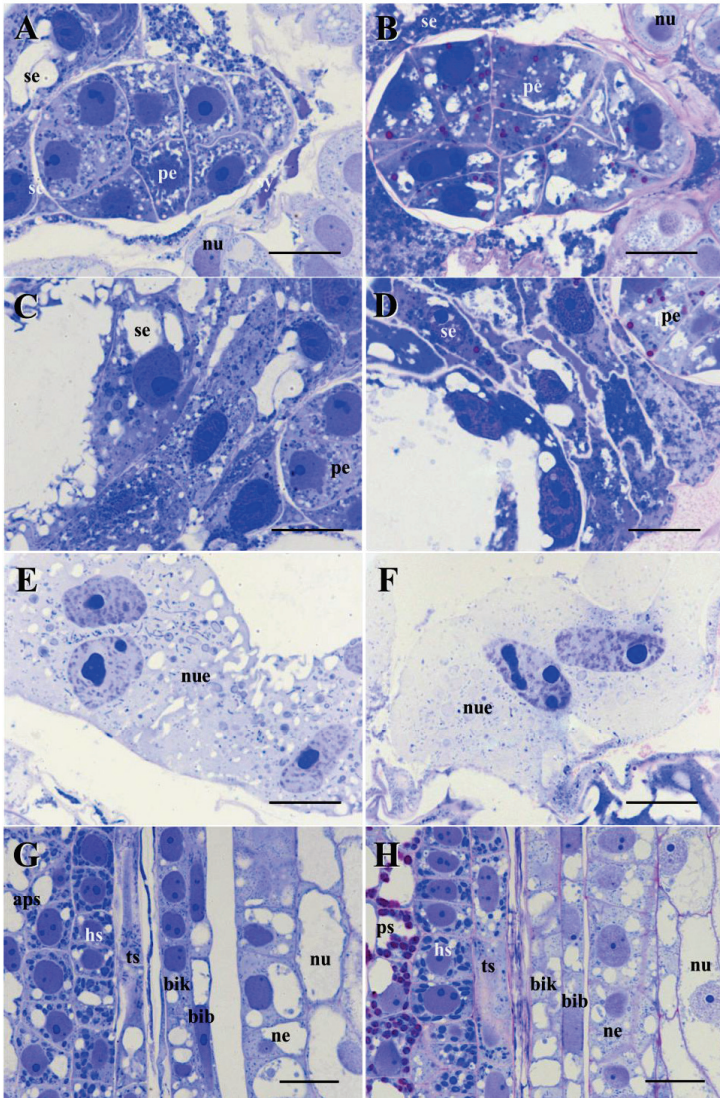
2. Kiegészítő ábra. Kontroll (A, C, E, G) és a virágzás után 1-5 nappal vízhiánynak kitett (B, D, F, H) Plainsman V növények termőiben fejlődő 1 napos zigóta (A, B), a zigótával határos endospermium (C, D), a perifériás endospermium (E, F) és a fejlődő szentermest alkotó anyai és fiálialis eredetű sejtrétegek (G, H) fénymikroszkópos felvételei. aps: átmetni parenchima sejtek; bib: a belső integumentum belső sejtrétege; bik: a belső integumentum külső sejtrétege; hs: harántsejtek; kik: külső integumentum külső sejtrétege; kib: külső integumentum belső sejtrétege; m: sejtanyag; mv: sejtanyagvacska; ne: a nucellusz epidermisze; nu: nucellusz; nue: nukleáris endospermium; pe: proembrió; ps: parenchima sejtek; ts: tömlősejtek; z: zigóta; nyílhegy: petesejt-eredetű keményítőzsemcsék. Kék festődés: fehérje; pirosas festődés: szénhidrát. Bar: 20 µm.



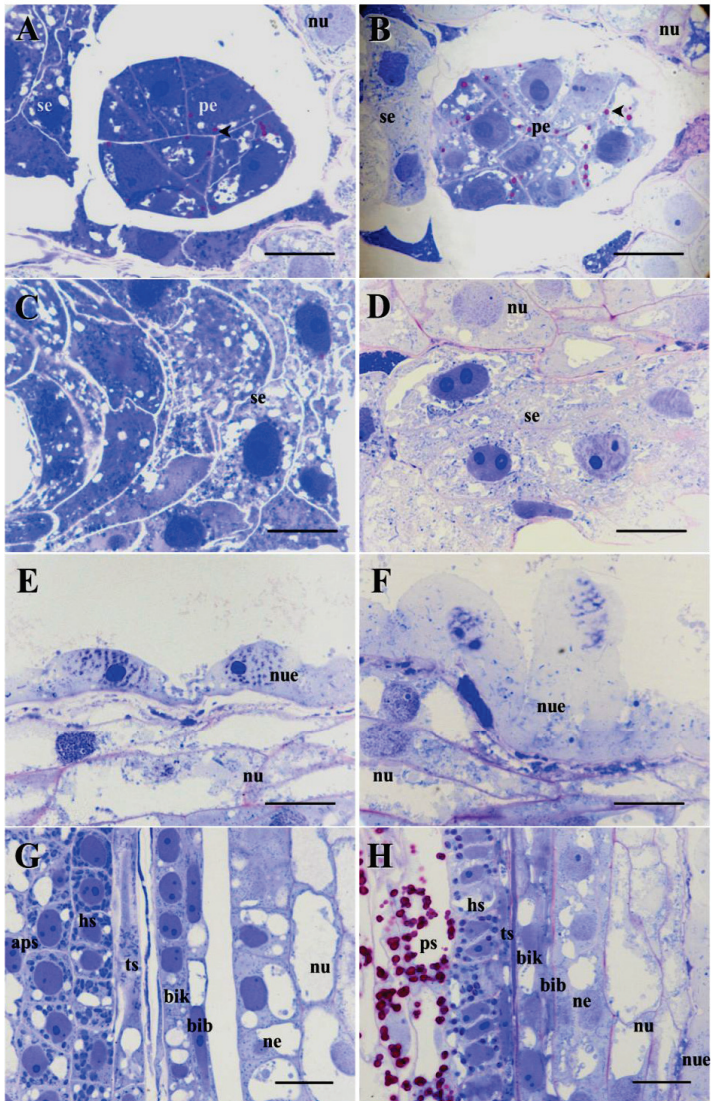
3. Kiegészítő ábra. Kontroll (A, C, E, G) és a virágzás után 1-5 nappal vízhiánynak kitett (B, D, F, H) Cappelle Desprez növények termőiben fejlődő 2 napos proembrió (A, B), a proembrióval határos endospermium (C, D), a perifériás endospermium (E, F) és a fejlődő szentermést alkotó anyai és filialis eredetű sejtrétegek (G, H) fénymikroszkópos felvételei. aps: átmeneti parenchima sejtek; bib: a belső integumentum belső sejtrétege; bik: a belső integumentum külső sejtrétege; hs: harántsejtek; kik: külső integumentum külső sejtrétege; kib: külső integumentum belső sejtrétege; ne: a nucleusz; nue: nukleáris endospermium; pe: proembrió; pt: pollentömlő; sz: szinergida; ts: tömlősejtek; nyílhegy: petesejt-eredetű keményítőszemcsék. Kék festődés: fehérjék; pirosas festődés: szénhidrátok. Bar: 20 μ m.



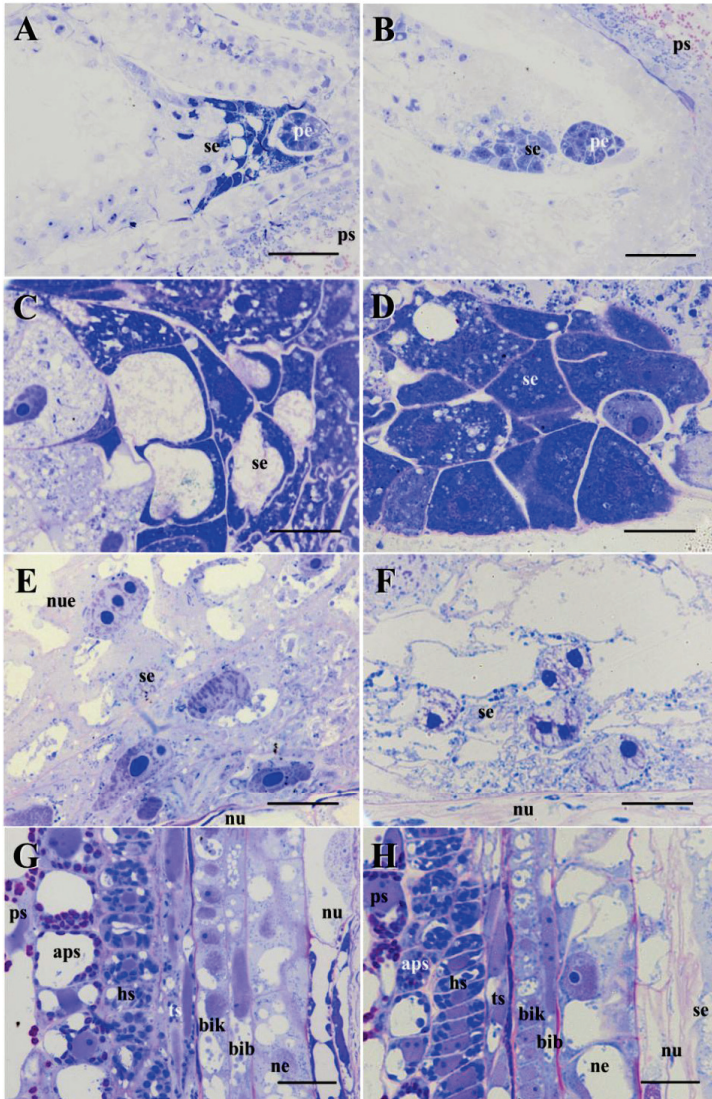
4. Kiegészítő ábra. Kontroll (A, C, E, G) és a virágzás után 1-5 nappal vízhiánynak kitett (B, D, F, H) Plainsman V növények termőiben fejlődő 2 napos proembrió (A, B), a proembrióval határos endospermium (C, D), a perifériás endospermium (E, F) és a fejlődő szemtermést alkotó anyai és fióliális eredetű sejtrétegek (G, H) fénymikroszkópos felvételei. bib: a belső integumentum belső sejtrétege; bik: a belső integumentum külső sejtrétege; hs: harántsejtek; ne: a nucellusz epidermisze; nu: nucellusz; nue: nukleáris endospermium; pe: proembrió; ps: parenchima sejtek; ts: tomlősejtek; nyílhegy: petesejt-eredetű keményítőszemcsék; ts: tomlősejtek; nyílhegy: petesejt-eredetű keményítőszemcsék. Kék festődés: fehérjék; pirosas festődés: szénhidrátok. Bar: 20 μ m.



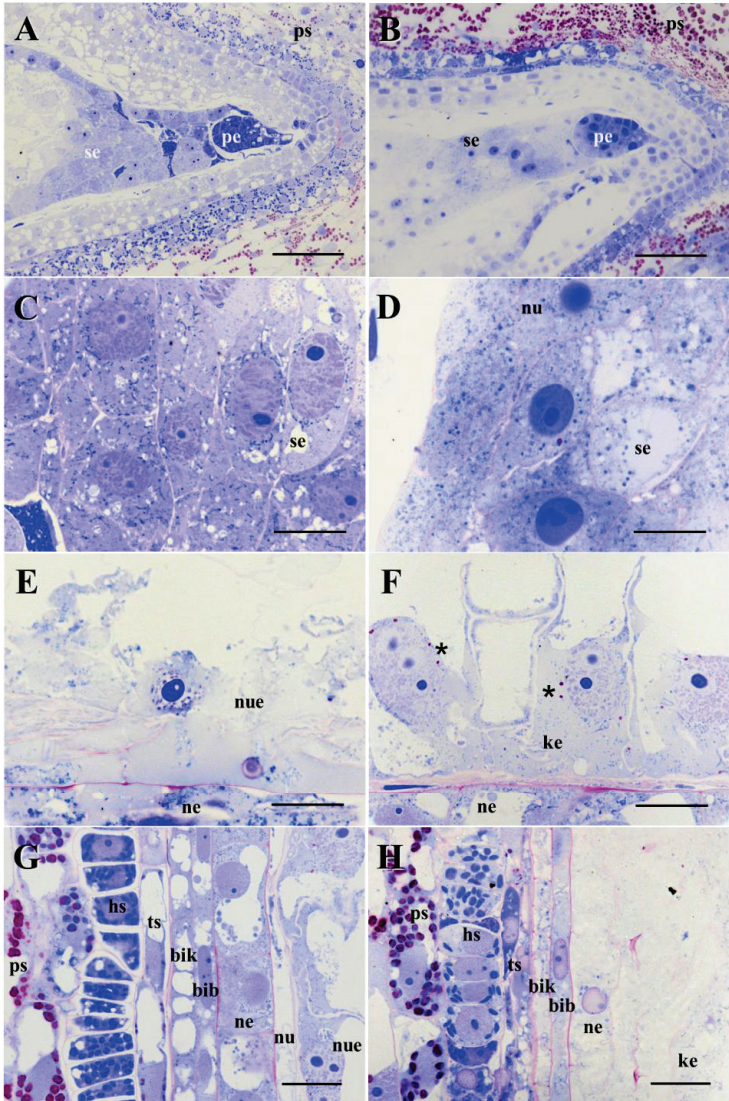
5. Kiegészítő ábra. Kontroll (A, C, E, G) és a virágzás után 1-5 nappal vízhiánynak kitett (B, D, F, H) Cappelle Desprez növények termőiben fejlődő 3 napos proembrió (A, B), a proembrióval határos endospermium (C, D), a perifériás endospermium (E, F) és a fejlődő szentermést alkotó anyai és filialis eredetű sejtrétegek (G, H) fénymikroszkópos felvételei. bib: a belső integumentum belső sejtrétege; bik: a belső integumentum külső sejtrétege; hs: harántsejtek; ne: a nucellusz epidermisze; nu: nucellusz; nue: nukleáris endospermium; pe: proembrió; ps: parenchima sejtek; se: sejtes endospermium; ts: tömlősejtek. Kék festődés: fehérjék; piros festődés: szénhidrátok. Bar: 20 μ m.



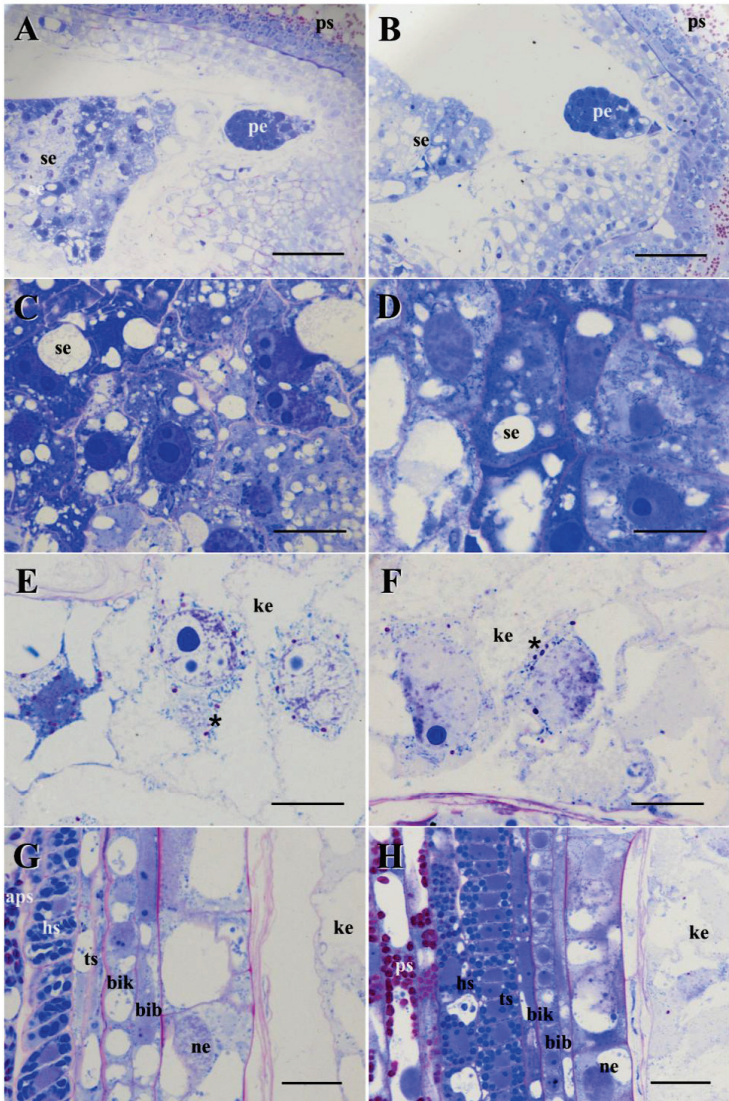
6. Kiegészítő ábra. Kontroll (A, C, E, G) és a virágzás után 1-5 nappal vízhiánynak kitett (B, D, F, H) Plainsman V növények termőiben fejlődő 3 napos proembrió (A, B), a proembrióval határos endospermium (C, D), a perifériás endospermium (E, F) és a fejlődő szemtermést alkotó anyai és filialis eredetű sejtrétegek (G, H) fénymikroszkópos felvételei. bib: a belső integumentum belső sejtrétege; bik: a belső integumentum külső sejtrétege; hs: harántsejtek; ne: a nucellusz epidermisze; nu: nucellusz; nue: nukleáris endospermium; pe: proembrió; ps: parenchima sejtek; se: sejtes endospermium; ts: tömlősejtek; nyílhegy: petesejt-eredetű keményítőszemcsék. Kék festődés: fehérjék; pirosas festődés: szénhidrátok. Bar: 20 μ m.



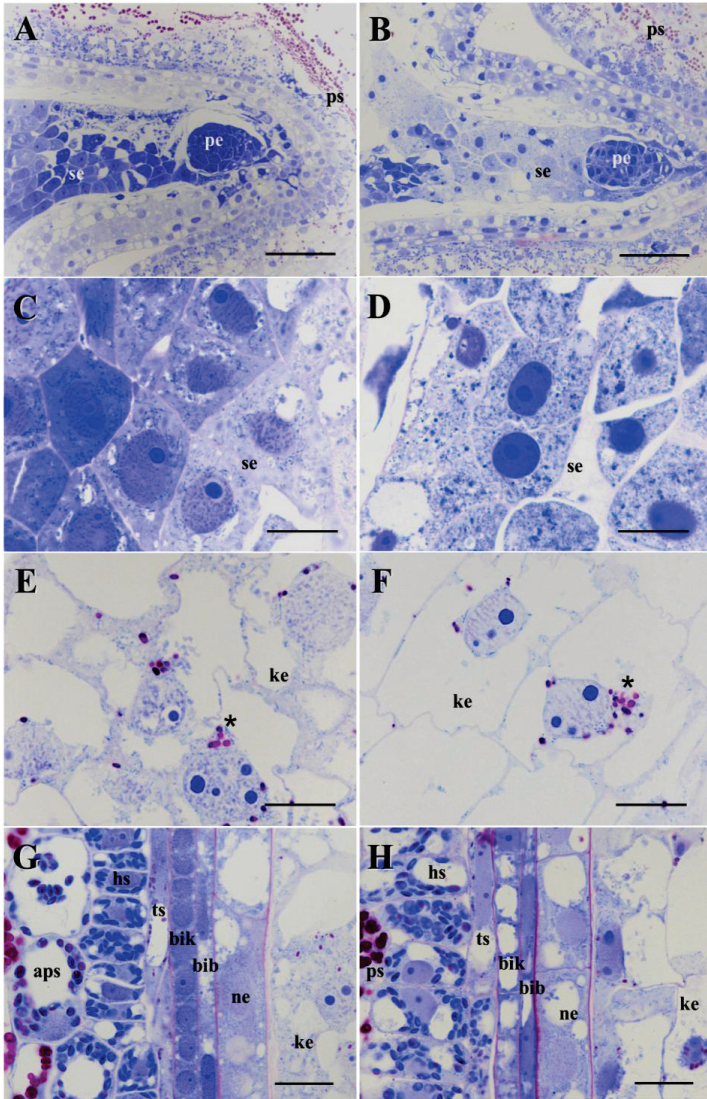
7. Kiegészítő ábra. Kontroll (A, C, E, G) és a virágzás után 1-5 nappal vízhiánynak kitett (B, D, F, H) Cappelle Desprez növények termőiben fejlődő 4 napos proembriók (A, B), a proembrióval határos endospermium (C, D), a perifériás endospermium (E, F) és a fejlődő szemtermést alkotó anyai és filialis eredetű sejtrétegek (G, H) fénymikroszkópos felvételei. aps: átmeneti parenchima sejtek; bib: a belső integumentum belső sejtrétege; bik: a belső integumentum külső sejtrétege; hs: harántsejtek; ne: a nucellusz epidermisze; nu: nucellusz; nue: nukleáris endospermium; pe: proembrió; ps: sejtes endospermium. Kék festődés: fehérjék; pirosas festődés: szénhidrátok. Bar: 100 μ m (A, B); 20 μ m (C, H).



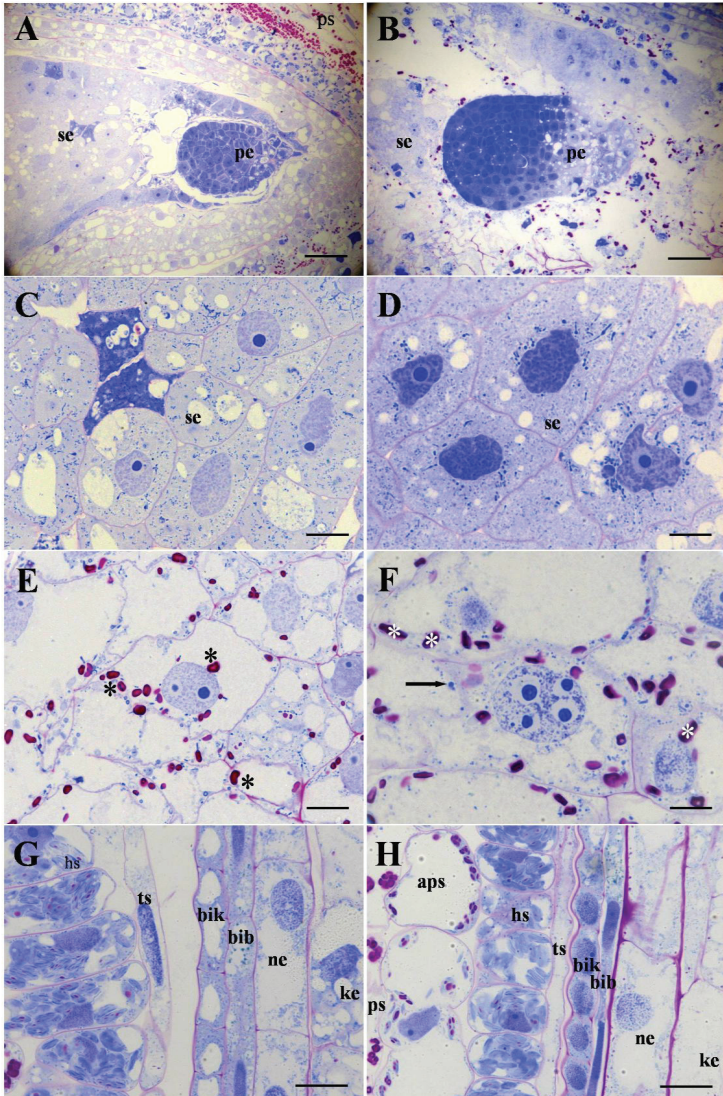
8. Kiegészítő ábra. Kontroll (A, C, E, G) és a virágzás után 1-5 nappal vízhiánynak kitett (B, D, F, H) Plainsman V növények termőiben fejlődő 4 napos proembriók (A, B), a proembrióval határos endospermium (C, D), a perifériás endospermium (E, F) és a fejlődő szentermést alkotó anyai és filialis eredetű sejtrétegek (G, H) fénymikroszkópos felvételei. bib: a belső integumentum belső sejtrétege; bik: a belső integumentum külső sejtrétege; hs: harántsejtek; ke: keményítős endospermium; ne: a nucleusz epidermisze; nu: nucleusz; nue: nukleáris endospermium; pe: proembrió; ps: parenchima sejtek; se: sejtes endospermium; ts: tömlősejtek; csillag: A-típusú keményítő szemese. Kék festődés: fehérjék; pirosas festődés: szénhidrátok. Bar: 100 μ m (A, B); 20 μ m (C-H).



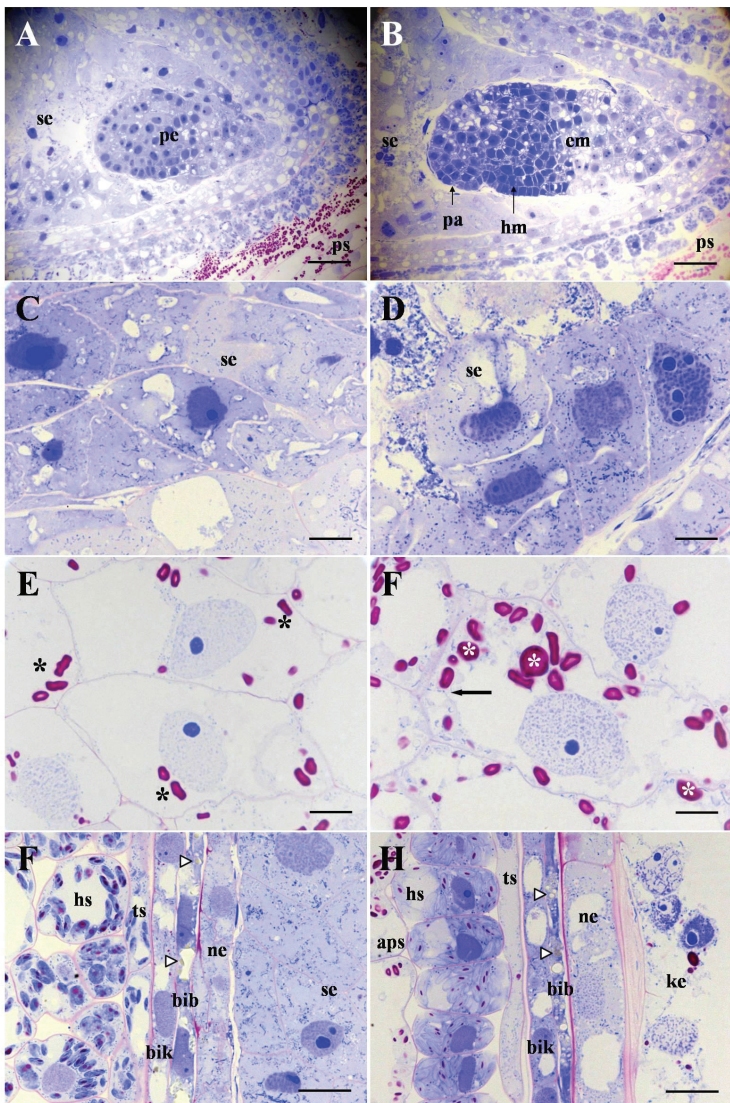
9. Kiegészítő ábra. Kontroll (A, C, E, G) és a virágzás után 1-5 nappal vízhiánynak kitett (B, D, F, H) Cappelle Desprez növények termőiben fejlődő 5 napos proembriók (A, B), a proembrióval határos endospermium (C, D), a perifériás endospermium (E, F) és a fejlődő szemtermést alkotó anyai és filialis eredetű sejtrétegek (G, H) fénymikroszkópos felvételei. aps: átmeneti parenchima sejtek; bib: a belső integumentum belső sejtrétege; bik: a belső integumentum külső sejtrétege; hs: harántsejtek; ke: keményítő endospermium; ne: a nucellusz epidermisze; pe: proembrió; ps: parenchima sejtek; se: sejtes endospermium; ts: tömlősejtek; csillag: A-típusú keményítő szemcse. Kék festődés: fehérjék; pirosas festődés: szénhidrátok. Bar: 100 µm (A, B); 20 µm (C-H).



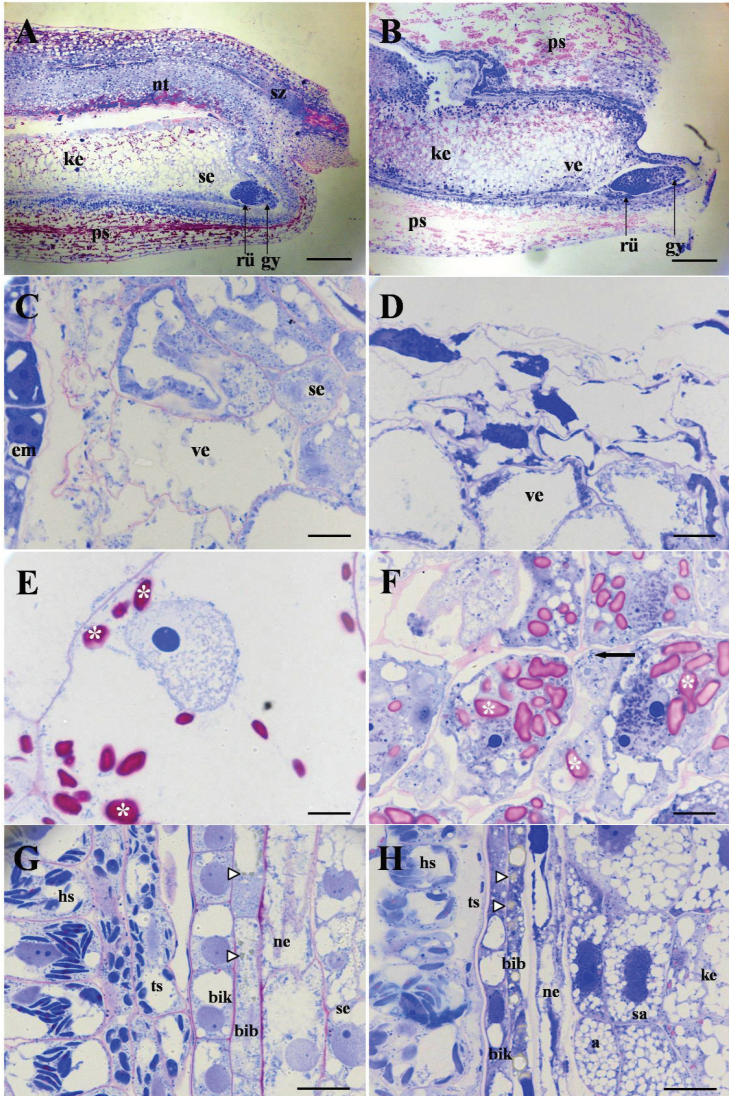
10. Kiegészítő ábra. Kontroll (A, C, E, G) és a virágzás után 1-5 nappal vízhiánynak kitett (B, D, F, H) **Plainsman V** növények termőiben fejlődő 5 napos proembriók (A, B), a proembrióval határos endospermium (C, D), a perifériás endospermium (E, F) és a fejlődő szemtermést alkotó anyai és filialis eredetű sejtrétegek (G, H) fénymikroszkópos felvételei. aps: átmeneti parenchima sejtek; bib: a belső integumentum belső sejtrétege; bik: a belső integumentum külső sejtrétege; hs: harántsejtek; ke: keményítőes endospermium; ne: a nucellusz epidermisze; pe: proembrió; ps: parenchima sejtek; se: sejtjes endospermium; ts: tömlősejtek; csillag: A-típusú keményítő szemcse. Kék festődés: fehérjék; pirosas festődés: szénhidrátok. Bar: 100 μm (A, B); 20 μm (C-H).



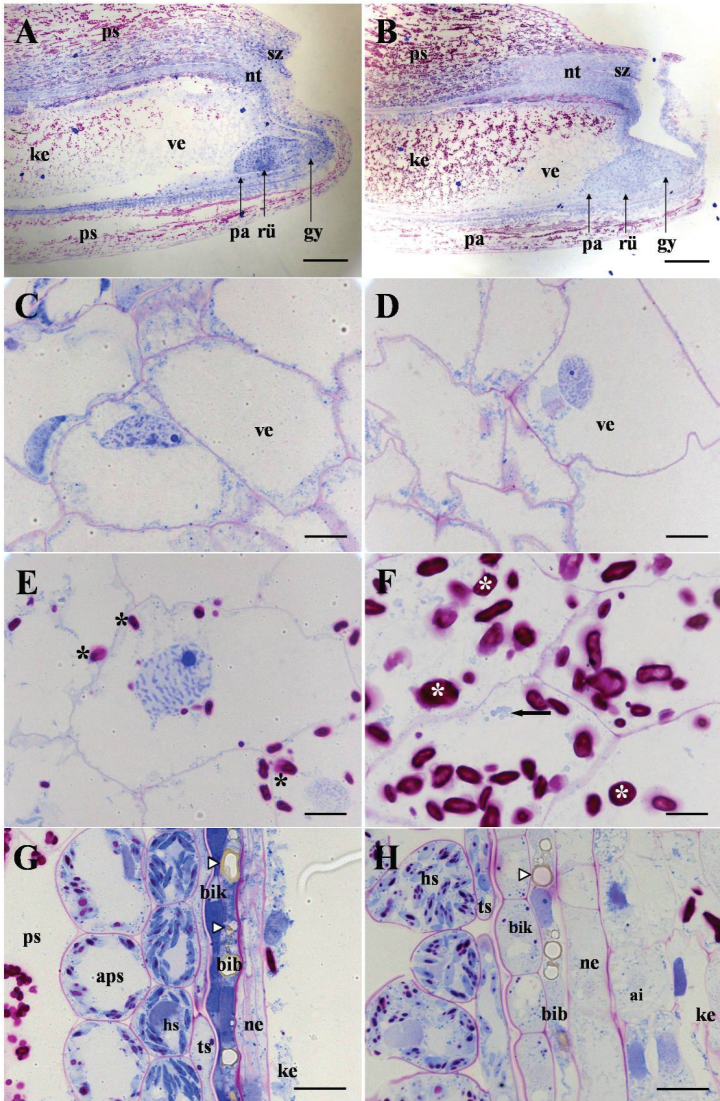
11. Kiegészítő ábra. Kontroll (A, C, E, G) és a korai szemfejlődés során vízhiánynak kitett (B, D, F, H) 7 napos Cappelle Desprez embriók (A, B), endospermium sejtek (C-F) és az azokat határoló anyai eredetű sejtrétegek (G, H) főnyomikroszkópos felvételei. aps: átmeneti parenchima sejtjei; bib: a belső integumentum belső sejtrétege; bik: a belső integumentum külső sejtrétege; hs: harántsejtek; ke: keményítős endospermium; ne: a nucellusz epidermisze; pe: proembrió; ps: parenchima sejtjei; se: sejtes endospermium; ts: tömlősejtek; csillag: A-típusú keményítő szemese; nyíl: fehérjetestet. Bar: 30 µm (A, B); 20 µm (C-H).



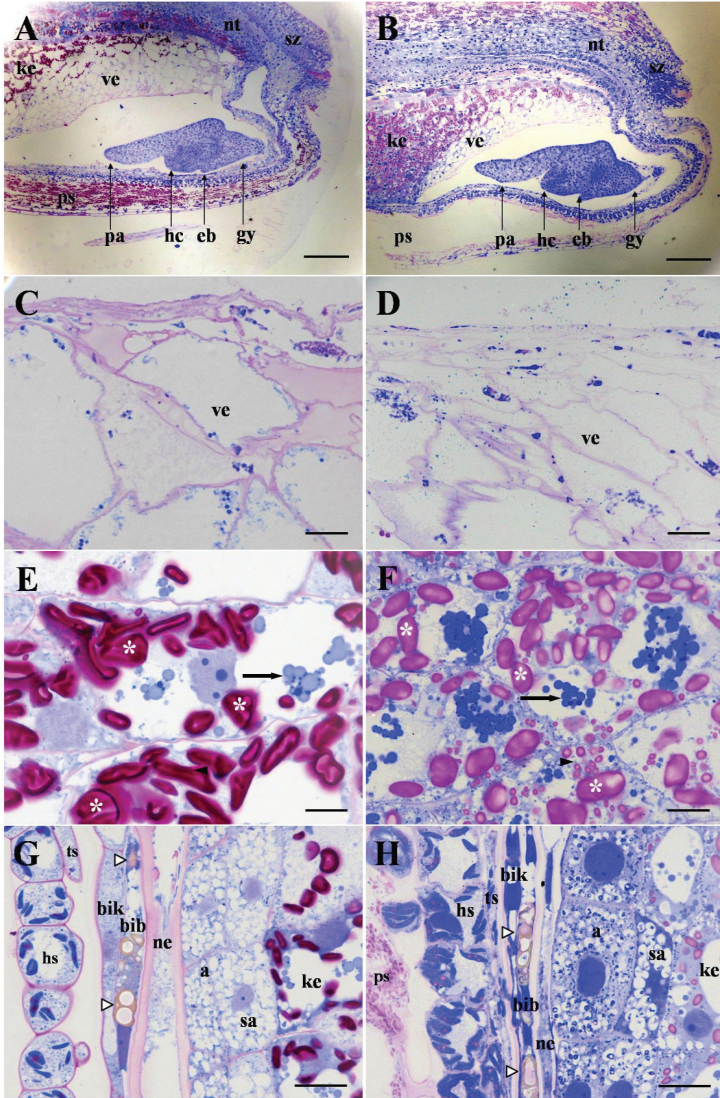
12. Kiegészítő ábra. Kontroll (A, C, E, G) és a korai szemfejlődés során vízhiánynak kitétt (B, D, F, H) 7 napos Plainsman V embriók (A, B), endospermium sejtek (C-F) és az azokat határoló anyai eredetű sejtrétegek (G, H) fénymikroszkópos felvételei. aps: átmeneti parenchima sejtek; bib: a belső integumentum belső sejtrétege; bik: a belső integumentum külső sejtrétege; em: embrió; hm: hajtásmerisztéma; hs: harántsejtek; ke: keményítőes endospermium; ne: a nucellusz epidermisze; pa: pajzsocska; pe: proembrió; ps: parenchima sejtek; se: sejtjes endospermium; ts: tömlősejtek; csillag: A-típusú keményítő szemcse; nyíl: fehérjetest; fehér nyílhegyek: gyantás lerakódások a belső integumentumban. Bar: 30 μ m (A, B); 20 μ m (C-H).



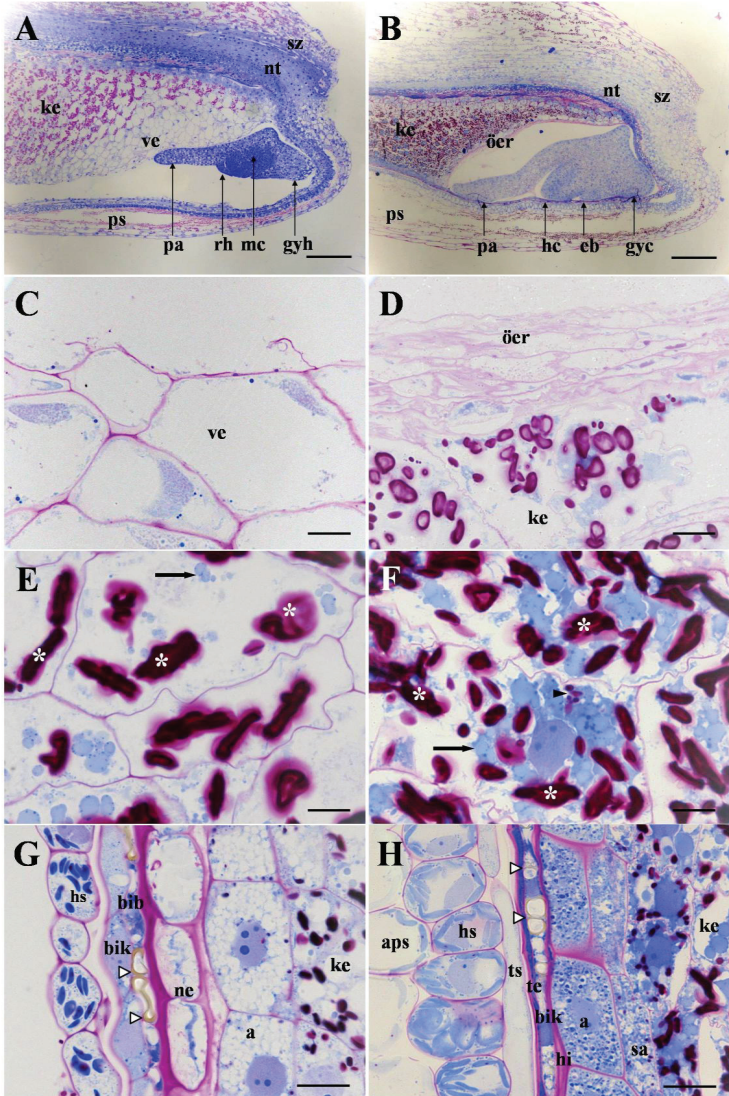
13. Kiegészítő ábra. Kontroll (A, C, E, G) és a korai szemfejlődés során vízhiánynak kitétt (B, D, F, H) 9 napos Cappelle Desprez embriók (A, B), endospermium sejtek (C-F) és azokat határoló anyai eredetű sejtrégek (G, H) főnyomképfelvételei. a: aleuron; bib: a belső integumentum belső sejtrége; bik: a belső integumentum külső sejtrége; gy: gyököcske; hs: harántsejtek; ke: keményítő endospermium; ne: a nucellusz epidermisze; nt: nucellusz eredetű transzfer sejtek; ps: parenchima sejtek; rü: rügyecske; sa: szubaleuron; se: sejt endospermium; sz: szállítószövet; ts: tömlősejtek; ve: vakuolizált endospermium; csillag: A-típusú keményítő szemcse; nyíl: fehérjetest; fehér nyílhegyek: gyantás lerakódások a belső integumentumban. Bar: 150 μ m (A, B); 20 μ m (C-H).



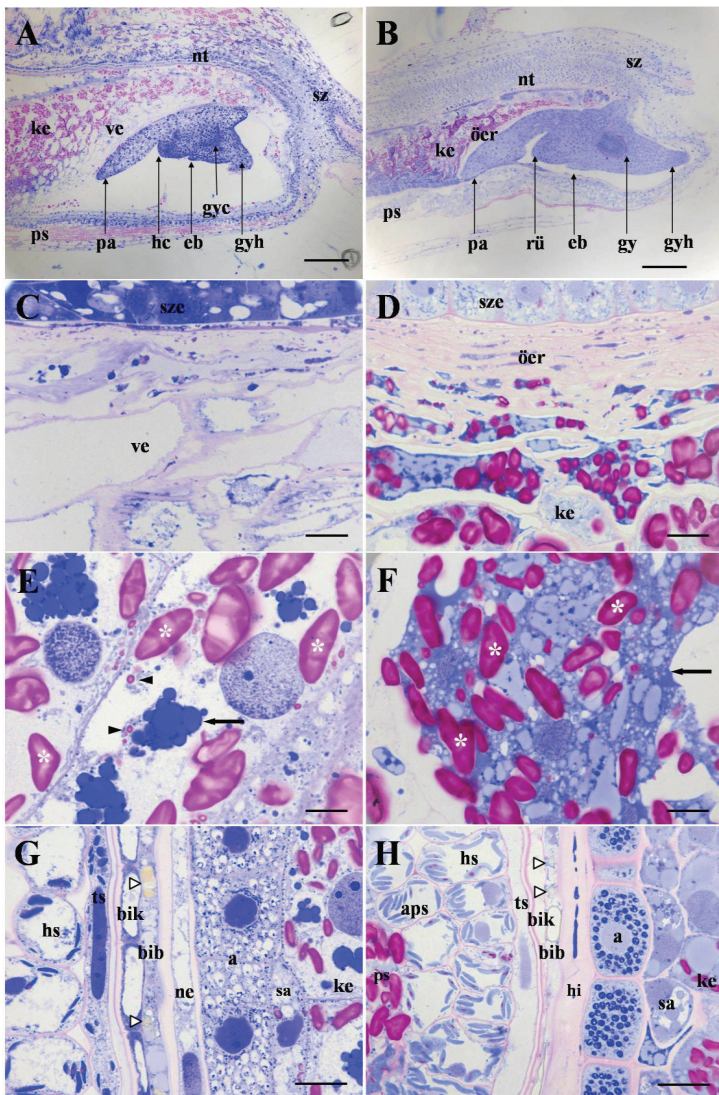
14. Kiegészítő ábra. Kontroll (A, C, E, G) és a korai szemfejlődés során vízhiánynak kitett (B, D, F, H) 9 napos Plainman V embriók (A, B), endospermium sejtek (C-F) és az azokat határoló anyai eredetű sejtrétegek (G, H) fénymikroszkópos felvételei. a: aleuron sejtek; aps: átmeneti parenchyma sejtek; bib: a belső integumentum belső sejtrétege; bik: a belső integumentum külső sejtrétege; gy: gyököcske; hs: harántsejtek; ke: keményítő endospermium; ne: a nucellusz epidermisze; nt: nucellusz eredetű transzfer sejtek; pa: pajzocska; ps: parenchyma sejtek; rü: rügyecske; sa: szubaleuron sejtek; sz: szállítószövet; ts: tömlősejtek; ve: vakuolizált endospermium; csillag: A-típusú keményítő szemcsze; nyíl: fehérjetest; fehér nyílhegyek: gyantás lerakódások a belső integumentumban. Bar: 150 µm (A, B); 20 µm (C-H).



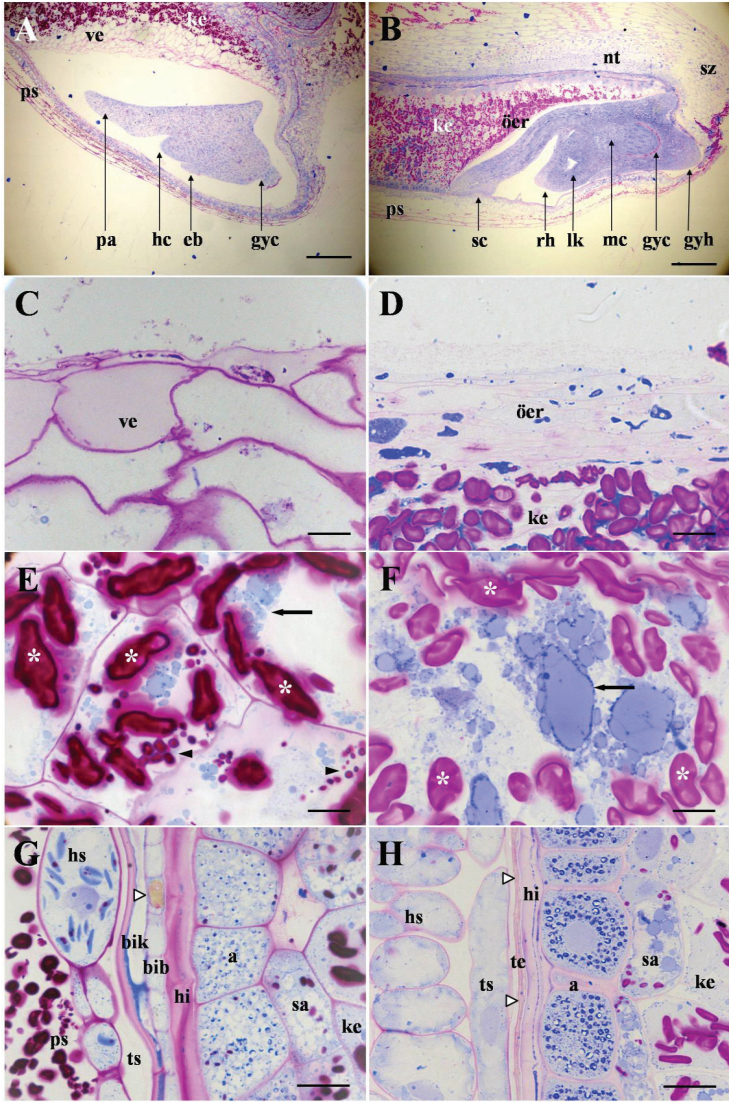
15. Kiegészítő ábra. Kontroll (A, C, E, G) és a korai szemfejlődés során vízhiánynak kitett (B, D, F, H) 12 napos Cappelle Desprez embriók (A, B), endospermium sejtek (C-F) és az azokat határoló anyai eredetű sejtrégek (G, H) fénymikroszkópos felvételei. a: aleuron; bib: a belső integumentum belső sejtrége; bik: a belső integumentum külső sejtrége; eb: epiblaszt; gy: gyököcske; hc: hajtáscsúcs; hs: harántsejtek; ke: keményítő endospermium; ne: a nucellusz epidermisze; nt: nucellusz eredetű transzfer sejtek; pa: pajzsoeska; ps: parenchima sejtek; sa: szubaleuron; sz: szállítószövet; ts: tömlősejtek; ve: vakuolizált endospermium; csillag: A-típusú keményítő szemcséje; nyíl: fehérjetest; fehér nyílhegyek: gyantás lerakódások a belső integumentumban. Bar: 150 μ m (A, B); 20 μ m (C-H).



16. Kiegészítő ábra. Kontroll (A, C, E, G) és a korai szemfejlődés során vízhiánynak kitett (B, D, F, H) 12 napos **Plainsman V** embriók (A, B), endospermium sejtek (C-F) és az azokat határoló anyai eredetű sejtrétegek (G, H) fénymikroszkópos felvételei. a: aleuron; aps: átmeneti parenchima sejtek; bfb: a belső integumentum belső sejtrétege; bik: a belső integumentum külső sejtrétege; eb: epiblaszt; gyc: gyökércsúcs; hc: hajtáscsúcs; hs: harántsejt; hi: hialin réteg; ke: keményítő endospermium; ne: a nucellusz epidermisze; nt: nucellusz eredetű transzfer sejtek; öer: összeroppant endospermium réteg; pa: pajzsocska; ps: parenchima sejtek; sa: szubaleuron; sz: szállítószövet; te: teszta; ts: tömlősejt; ve: vakuolizált endospermium; csillag: A-típusú keményítő szemcséje; nyíl: fehérjetest; fehér nyílhegyek: gyantás lerakódások a belső integumentumban. Bar: 150 μ m (A, B); 20 μ m (C-H).



17. Kiegészítő ábra. Kontroll (A, C, E, G) és a korai szemfejlődés során vízhiánynak kitett (B, D, F, H) 14 napos Cappelles Desprez embriók (A, B), endospermium sejtek (C-F) és az azokat határoló anyai eredetű sejtterületek (G, H) főnyomképművelésű felvételei. a: aleuron; aps: átmeneti parenchima sejtek; bib: a belső integumentum belső sejtterülete; bic: a belső integumentum külső sejtterülete; eb: epiblast; gyc: gyökérszűcs; gyh: gyökérhüvely; hc: hajtáscsúcs; hs: harántsejtek; hi: hialin réteg; ke: keményítő endospermium; mc: mezokotil; ne: a nucellusz epidermisze; nt: nucellusz eredetű transzfer sejtek; öer: összeroppanó endospermium réteg; pa: pajzsocska; ps: parenchima sejtek; rü: rügyhüvely; sa: szubaleuron; sz: szállítószövet; szej: a szekretori epithéliuma; te: testa; ts: tömlősejtek; ve: vakulizált endospermium; csillag: A-típusú keményítő szemcséje; nyíl: fehérjetest; fehér nyílhegyek: gyantás lerakódások a belső integumentumban. Bar: 150 µm (A, B); 20 µm (C-H).



18. Kiegészítő ábra. Kontroll (A, C, E, G) és a korai szemfejlődés során vízhiánynak kitett (B, D, F, H) 14 napos **Plainsman V** embriók (A, B), endospermium sejtek (C-F) és az azokat határoló anyai eredetű sejtrétegek (G, H) fénymikroszkópos felvételei. a: aleuron; bib: a belső integumentum belső sejtrétege; bik: a belső integumentum külső sejtrétege; eb: epiblast; gyc: gyökércsúcs; gyh: gyökérhüvely; hc: hajtáscsúcs; hs: harántsejtek; hi: hialin réteg; ke: keményítő endospermium; lk: levélkezdemény; mc: mezokotil; nt: nucellusz eredetű transzfer sejtek; öer: összeroppant endospermium réteg; pa: pajzsocska; ps: parenchima sejtek; rh: rügyhüvely; sa: szubaleuron; sz: szállítószövet; te: testa; ts: tömlősejtek; ve: vakuolizált endospermium; csillag: A-típusú keményítő szemcse; nyíl: fehérjetest; fehér nyílhegyek: gyantás lerakódások a belső integumentumban. Bar: 150 μ m (A, B); 20 μ m (C-H).