



**Az uborka (*Cucumis sativus L.*) fajták morfológiai jellemzőinek,
abszizinsav érzékenységének és oxidatív stresszmarkereinek
jellemezése**

Doktori (PhD) értekezés

DOI: 10.54598/000570

OSZLÁNYI RÉKA

Budapest

2020

A doktori iskola

megnevezése: Kertészettudományi Doktori Iskola

tudományága: Növénytermesztési és kertészeti tudományok

vezetője: Zámboriné dr. Németh Éva
egyetemi tanár, DSc
Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem,
Kertészettudományi Intézet,
Gyógy és Aromanövények Tanszék

Témavezető: Dr Papp István, DSc egyetemi tanár
Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem,
Növénytermesztési-tudományok Intézet,
Növényélettan és Növényökológia Tanszék

A jelölt a Szent István Egyetem Doktori Szabályzatában előírt valamennyi feltételnek eleget tett, az értekezés műhelyvitájában elhangzott észrevételeket és javaslatokat az értekezés átdolgozásakor figyelembe vette, azért az értekezés védési eljárásra bocsátható.

.....

.....
Az iskolavezető jóváhagyása

.....

.....
A témavezető jóváhagyása

Tartalom

Tartalom.....	3
RÖVIDÍTÉSEK	6
BEVEZETÉS.....	7
CÉLKITŰZÉS.....	9
IRODALMI ÁTTEKINTÉS	10
1. A kísérleti növény bemutatása	10
1.1 A kísérleti növény eredete és napjainkban történő felhasználása	10
1.2 A kísérleti növény termesztési jellemzői (tápanyagigény, nevelési közeg).....	10
1.3 A kísérleti növény morfológiai jellemzői	12
1.4 A kísérleti növény genetikai jellemzői.....	13
2. Vízhány és tápanyagok túlzott bevitele által kiváltott növényi stresszek	13
2.1 Általános tudnivalók a növényi stresszről.....	13
2.2 Az abiotikus stressz.....	14
2.3 Az abiotikus stressz hatása a fotoszintézis hatékonyságára	17
2.4 Tápanyagellátottság hatása a növények fejlődésére.....	17
2.5 Az oxidatív stressz	22
2.6. Lipidperoxidáció	29
2.7 Ozmotikus stressz.....	31
2.8 Növekedési paraméterek és a stressztolerancia kapcsolata.....	32
3. Az abszcizinsav (ABA).....	33
3.1 Növényi hormonok általános bemutatása	33
3.2 Az abszcizinsav (ABA).....	33
3.3 Külsőleg alkalmazott abszcizinsav (ABA) hatása	35
4. A LEA fehérjék és a dehidrinek.....	37
4.1 A LEA fehérjék általános bemutatása	37
4.2 A LEA fehérjék egyik csoportja: a dehidrinek (<i>DHN</i>)	38
4.3 Az abszcizinsav és a dehidrinek kapcsolata.....	40
ANYAG ÉS MÓDSZER.....	42
1. A kísérletekhez felhasznált növényi anyag	42
1.1 A kísérletekbe bevont fajták jellemzése.....	42
2. A kísérletekhez felhasznált termesztési közeg és a palántanevelés körülményei	43
2.1 Tőzegkeverékben történő vetés.....	43
2.3 Perlitben és kőzetgyapot kockában történő vetés.....	44
2.4 <i>In vitro</i> növénynevelés az ABA érzékenység vizsgálatához.....	44
3. A kísérletekhez felhasznált oldatok	44

3.1 Perlitben és kőzetgyapot kockán nevelt növények tápoldatozása.....	44
3.2 Perlitben és kőzetgyapotkockán nevelt növények ABA kezelése.....	45
3.3 <i>In vitro</i> nevelt növények ABA kezelése.....	45
4. Morfológiai paraméterek vizsgálata.....	46
4.1 Növekedési paraméterek mérése.....	46
4.2 Hajtás friss és száraztömegének meghatározása.....	46
4.4 Levélfelület mérése.....	46
5. RNS izolálás és RT-PCR.....	46
5.1 RNS izolálás.....	46
5.2 RT-PCR.....	46
6. Fotoszintetikus aktivitás és oxidatív stressz mérése.....	48
6.1 A fotoszintetikus aktivitás mérése.....	48
6.2 Antioxidáns kapacitás meghatározása FRAP módszerrel.....	49
6.3 Gvajakol peroxidáz (EC 1.11.1.7.) aktivitásának mérése (POD módszer).....	49
6.4 Lipidperoxidáció mérése TBARS tartalom meghatározásával.....	50
6.5 Lipidperoxidáció mérése biofoton emissziós képalkotó vizsgálattal.....	50
7. Ozmotikus stressz vizsgálata.....	51
8. A kapott adatok statisztikai értékelése.....	51
EREDMÉNYEK.....	52
1. Növekedési paraméterek és fotoszintetikus aktivitás mérések eredményei tőzegkeverékben nevelt uborka növényeken.....	52
1. Morfológiai paraméterek vizsgálata perlitben nevelt uborkafajtákon.....	54
3 A tápanyagellátottság mértékének hatása a két fajtcsoport növekedési paramétereire...57	
4.1 <i>In vitro</i> körülmények között nevelt uborkafajták ABA érzékenységeinek vizsgálata60	
4.2 Perlitben nevelt uborkafajták dehidrin génjeik expressziója külsőleg alkalmazott ABA oldattal történő egyszeri kezelés során.....	64
5. Különböző koncentrációjú Hoagland oldattal kezelt uborkafajták vizsgálatai.....	65
5.1 Morfológiai paraméterek vizsgálatai.....	65
5.2 Oxidatív stresszre jellemző molekuláris markerek vizsgálatai.....	68
5.3 Ozmotikus potenciál meghatározása.....	70
5.4 Antioxidáns enzimeket és dehidrin fehérjéket kódoló gének expressziójának vizsgálata.....	71
5.5 Lipid peroxidáció mértékének vizsgálata biofoton emisszió méréssel.....	74
KÖVETKEZTETÉSEK.....	76
1. Élettani kísérletek tőzegbe vetett uborkák esetében.....	76
1.1 Morfológiai paraméterek.....	76
1.2 A fotoszintetikus aktivitás mérése.....	76

2. Élettani kísérletek perlitben vetett uborkák esetében.....	77
2.1 Morfológiai paraméterek.....	77
3. Tápanyagellátottság hatása 0,125× és 0,5× erősségű Hoagland oldatok alkalmazásával.....	77
4. Külsőleg alkalmazott ABA hormonnal történő kezelés.....	78
4.1 <i>In vitro</i> kísérletek	78
4.2 A külsőleg alkalmazott abszcizinsav hatása a <i>CsDHN</i> fehérjék kifejeződésére perlitben vetett uborkáknál.....	79
5. 'Oitol és 'Joker' uborkafajtákkal végzett kísérletek eredményei különböző töménységű Hoagland oldattal történő tápoldatozást követően.....	79
5.1 Morfológiai paraméterek és a tápanyagellátottság.....	79
5.2 Oxidatív stressz és a stressztolerancia kapcsolata.....	80
ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK	85
ÖSSZEFOGLALÁS.....	86
SUMMARY	89
IRODALOMJEGYZÉK.....	92
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	106

RÖVIDÍTÉSEK

AAO: Abszcizin-aldehid oxidáz enzim

ABA: Abszcizinsav

ABRE elemek: Abszcizinsav válasz elemek (Abscisic acid response elements)

AOX: Alternatív oxidáz

APX: Aszkorbinsav peroxidáz

AS: Aszkorbinsav

BHT: Butylated hydroxytoluene

CAT: Kataláz enzim

DHN: Dehidrinek

EBR: Brasszinoszteroidok

FRAP: Antioxidáns kapacitás (Ferric Reducing Ability of Plasma)

GPX: Glutation peroxidáz

GR: Glutation reduktáz

GSH: Glutation (redukált forma)

GSSG: Glutation (oxidált forma)

GTR: Glutation transzferáz enzim

HG: Hoagland oldat

JA: Jazmonsav

LEA: Késői embriogenezis során képződő fehérjék (late embriogenesis abundant)

MDA: Malondialdehid

MDHAR: Monodehidro-aszkorbát reduktáz enzim

NCED: 9-cisz-epoxikarotin dioxigenáz enzim

NADP⁺: Nikotinamid dinukleotid foszfát (oxidált forma) koenzim

NADPH: Nikotinamid dinukleotid (redukált forma) koenzim

POD: Gvajakol peroxidáz enzim

qPCR: kvantitatív PCR

RAB proteinek: responsive to ABA (ABA hatására termelődő fehérjék)

RT-PCR: reverz transzkripció PCR

ROS: Reaktív oxigén formák

SA: Szalicilsav

SOD: Szuperoxid dizmutáz enzim

BEVEZETÉS

Napjaink a klímaváltozás jegyében telnek az emberi tevékenységeknek köszönhetően. Nem telik el nap emberi életet követelő időjárási katasztrófák nélkül. A szélsőségesé vált időjárási viszonyoknak az ember fő táplálékát adó növényzet látja a kárát. A kíméletlen szárazság, majd a hirtelen lezúduló csapadék, a váratlanul beköszöntő hideg vagy meleg, valamint a szennyező anyagok megnövekedett mennyisége stresszhatásként éri a növényt, a termés hozam ezzel jelentősen visszaesik. Ennek okán, a klímaváltozás éveiben hangsúlyossá váltak az abiotikus stressz hatásaival kapcsolatos kutatások. Egyre bővülő irodalom áll rendelkezésünkre ezen kutatások eredményeivel és az azokból levont következtetésekkel, melyek nagymértékben segíthetik a nemesítők munkáját. A termesztésbe vont haszonnövényeink nagy része stressztűrésük javítására szorul. Így a növény nemesítés fókuszában már nem kizárólagosan a legjobb termés hozamú fajták előállítására, hanem a kedvezőtlenebb klíma hatásainak ellenállóbb genotípusok létrehozása is állhat. Ebből kifolyólag a stressztoleranciával foglalkozó kutatások napjainkban kiemelt szereppel bírnak.

A hatékony termesztésnél nem utolsó szempont az optimális összetételű tápoldat, valamint a kedvező nevelési körülmények kialakítása a termesztésbe vont fajta nézve. Az elégtelen tápanyagellátottság, vagy a túlzott tápanyagbevitel egyaránt veszélyforrás lehet, mindkettő esemény stresszállapot kialakulásához vezet. Ennél fogva a sikeres termés hozatal érdekében elengedhetetlen a termesztett növény számára optimális összetételű tápoldat precíz kidolgozása. Utóbbi sikeres kivitelezéséhez a releváns információk összegyűjtése elengedhetetlen. Napjaink egyik leggyakoribb, termesztéssel kapcsolatos problémája a túlzott tápoldatozás. Az ennek során bekövetkező túlzott tápanyagbevitel hatása a növényi produkcióra régebb óta ismert, azonban ezek a folyamatok molekuláris szinten kevésbé tisztázottak. Magának a hatásmechanizmusnak és a hozzá tartozó kísérőjelenségeknek a tisztázása segíthet a termesztésbe vont gazdasági haszonnövények további nemesítésében. Mindazonáltal a fajhoz tartozó genotípusok eltérő módon reagálhatnak a megnövekedett tápbevitelre és az ebből kialakuló stresszhatásokra. A stresszorokkal szembeni növényi válasz hátterében és a növényi stressztolerancia kialakulásában számos faktor vesz részt. Jelátvonalakon keresztül adaptív mechanizmusok zajlódhatnak le, amelyeket sokféleképpen lehet nyomon követni. A növekedési paraméterek változása, jól megválasztott molekuláris markerek, a folyamatokban szereplő gének expressziós mintázata alapján teljesebb képet alkothatunk az adott fajta stressztoleranciájáról. További, nem invazív

lehetőségként az autolumineszcencián alapuló technológiák állhatnak rendelkezésünkre. Így szélesebb spektrumon lehet jellemezni a vizsgált fajta stressz állapotát/toleranciáját.

Tanszékünkön évtizedek óta folynak stresszélettani kutatások több célcsoportot alkotó, kertészeti szempontból is jelentős növényfajokkal. Dolgozatomban az uborka (*Cucumis sativus* L.), mint kertészeti haszonnövény három szabadföldi és három üvegházi genotípusa állt kutatásaink fókuszában. A vizsgálatokba bevont uborkafajták növekedési paramétereit, az abszcizinsavra való érzékenységüket vetettük össze, a szemmel is látható növekedésbeli különbségek háttérmechanizmusaira voltunk kíváncsiak. A továbbiakban a túlzott tápanyagbevétel stresszindukáló hatását vizsgáltuk a fenti hat fajtából kiválasztott kettő esetében. Az uborkanövényeken élettani, biokémiai és génexpressziós vizsgálatokat végeztünk, melyek tükrében a két fajtacsoport eltérő stressztoleranciájának hátterében zajló mechanizmusokról szerettünk volna tisztább képet alkotni. Így eredményeink nagymértékben hozzájárulhatnak a meglévő genotípusok további nemesítéséhez, toleránsabb fajták létrehozásához, valamint az uborka különböző fajtáinak neveléséhez szükséges optimális összetételű tápoldatok precízebb kidolgozásához.

CÉLKITÚZÉS

1. Meg kívántuk határozni, hogy van-e különbség a növekedésre jellemző paraméterekben (hajtás-, hipokotil- és gyökérszét hossznövekedés, levélfelület kiterjedés, szárazanyag-tömeg gyarapodás) a szabadföldi ('Szatmár', 'Szenzáció', 'Joker') és üvegházi ('Americana', 'Prior', 'Oitol') termesztésre nemesített uborkafajták között. A fajták mindkét típusából ki kívántunk választani egyet-egyet, amelyek stabilan és markánsan mutatják a típusaikra jellemző növekedési tulajdonságokat.
2. Vizsgálni kívántuk, hogy van-e különbség a választott uborkafajták abszcizinsav érzékenysége között.
3. Kíváncsiak voltunk arra, hogy van-e különbség a két fajtacsoport molekuláris válaszaiban külsőleg alkalmazott ABA egyszeri kezelést követően. Ezért az ilyenkor jellemzően indukálódó dehidrin gének expresszióját terveztük nyomonkövetni.
4. Célul tűztük ki, hogy megállapítsuk, milyen hatással van a választott uborkafajtákra a tápanyagellátottság különböző mértéke.
5. Két kiválasztott uborkafajta, az 'Oitol' és 'Joker' részletes fiziológiai és molekuláris szinten történő összevetését kívántuk elvégezni különböző töménységű tápoldatozást követően. Mivel a magasabb tápelembevitel várhatóan ozmotikus és oxidatív stresszt is okoz, meg szeretnénk volna határozni az ezekben a stresszekben jellemzően indukálódó dehidrinek és antioxidáns enzimeket kódoló gének (*CsGR*, *CsGPX*, *CsAPX*) kifejeződési mintázatát.

IRODALMI ÁTTEKINTÉS

1. A kísérleti növény bemutatása

1.1 A kísérleti növény eredete és napjainkban történő felhasználása

A Cucurbitaceae család viszonylag sok nemzetséget (130 db) és fajt (900 db) tartalmaz. A családhoz tartozó fajok nagy hányada alkalmas emberi fogyasztásra, ezért igen kedveltek az egész világon. Ezeket a fajokat már az ókorban felfedezték és fogyasztották, Indiában 3000 éve, Kínában már 2000 éve nemesítették (Abdollahi, 2016). Az uborka (*Cucumis sativus L.*) a Cucurbitaceae család egyik legnagyobb mennyiségben nevelt, gazdasági szempontból fontos, nem klimaktérikus (Jasso-Chaverria 2005; Wang et al., 2013), többnyire nyersen, vagy tartósított formában is fogyasztott zöldségféléje. Számos nemesített változata ismert (Wang et al., 2010b; Yan et al., 2016; Srikanth et al., 2017; Varcárcel et al., 2018; Xue et al., 2019). Az archeológiai leletek alapján a növény elsődleges gécetruma India, majd elterjedése Észak Ázsia régióiból történt, Európában az első nemesített fajtát 1700-as években hozták létre (Sebastian et al., 2010). Napjainkban is a jelentősebb termesztett növények között szerepel, a FAO STAT alapján 2018-ben több mint 75 millió tonna uborkát termesztettek mintegy 2 millió hektáron világszerte (FAO STAT, 2019).

Az uborkafélék fogyasztásának Amerikában nagy kultusza van, ebből kifolyólag új fajták szelektálásával régóta foglalkoznak a nemesítők (Diab et al., 2016, Amirossadat et al., 2012). Gyors növekedése és kedvező tápanyagtartalma miatt (Marsic and Jakse, 2010; Wang et al., 2013) fogyasztása Ázsiában is népszerű (Kappel, 2011). Európai vonatkozásban, a fagyérzékeny uborkafélék hagyományos termesztését tekintve Spanyolország az élen jár a többi országhoz képest (Ballesta et al., 2017; Varvcárcel et al., 2018). Hazánkban a XIII. században kezdték el termesztetni kolostorok kertjeiben, azonban mint gazdaságilag jelentős haszonnövény a két világháború között kezdett elterjedtebbé válni a fogyasztók körében (wikipedia).

Étrendi szempontból közkedvelt, tápértéke nem jelentős, azonban magas kálium tartalma a veseműködésre kedvező hatással van. Némely fajtában a kedvezőtlen termesztési körülmények miatt keserű ízt kialakító cucurbitacin glükózid még előfordul, a korszerűbb hibridek ezt már nem tartalmazzák. A kozmetikai ipar érdeklődése jelentősen megnőtt az uborka iránt. Számos regeneráló és bőrápoló krém készül az uborkaléből, a fiatalító kúrák egyik alapját képezi a belőle készült kivonat. Ezek fő hatóanyagai H-, A-, E-, F-, B₅-vitaminok, valamint az antibiotikus hatású lizozim enzim (Balázs, 1994)

1.2 A kísérleti növény termesztési jellemzői (tápanyagigény, nevelési közeg)

A növénytermesztésben számos növekedést segítő eljárást ismerünk, ezek alkalmazásával a termesztésbe vont fajták egész éves fokozott produkciója biztosított. A körülmények

szakszerű megválasztása (megvilágítás, öntözés, tápanyagellátottság, hőmérséklet) kulcsfontosságú a maximális terméshez (Li és Cheng, 2015). Az uborka termesztésével kapcsolatban jelentős mennyiségű információ áll rendelkezésünkre, kezdve a tápoldat összetételétől a nevelőközeg megválasztásáig (Kappel, 2011). Szabadföldi és üvegházi fajták széles választékából egyaránt meríthetünk. Ezek nemesítése intenzíven folyik a növekvő fogyasztói elvárások, illetve a megváltozott klimatikus viszonyok miatt is. Ennek okán az uborkafajták növekedését vizsgáló kutatásokkal elősegíthető új fajták létrehozása, ráadásul ezek az adatok hozzájárulhatnak korszerűbb termesztési technológiák kidolgozásához is.

Az uborka termesztése szabadföldön és üvegházban egyaránt folyik. Hosszúnappalos, melegigényes, fagyérzékeny, évelő növény, hőmérsékleti optimuma 25 ± 7 °C, laza talajokon 70% feletti relatív nedvességtartalmat igényel (Balázs, 1994). Nagy vízigényű, mert a termésének fejlődéséhez sok víz szükséges, ennek okán érzékeny a vízhiányra. A vízhiányos állapot a termés minőségének és mennyiségének csökkenéséhez vezethet (Wang et al., 2010b). Optimális növekedéséhez a neutrális pH-jú talaj a legkedvezőbb. Nagy tápanyagigényű, a N hiányra és a magas sótartalomra érzékenyen reagál. A magok csírázása körülbelül három napot vesz igénybe, a növény rövid időn belül hoz virágot, majd termést (Singh et al., 2017, Kappel, 2011). Közvetlen magról történő vetése és palántákra történő oltása egyaránt megvalósítható. Üvegházban való nevelése kedvezőbb körülmények biztosítása mellett nagyobb terméshozamot és jobb minőségű termést eredményez a termesztők számára a szabadföldben termesztetekkel összevetve. Üvegházi termesztése hatékonyabb, fajlagosan kevesebb ráfordítást igényel, évszaktól független, nagyobb hozamot nyújt, mint a szabadföldi, ezért manapság gyorsan terjedő termesztési mód (Diab et al., 2016). Az uborka szabadföldön a laza szerkezetű, humuszban gazdag, neutrális talajokat kedveli (Helyes et al., 2007). A talajban történő vetés azonban némi kockázatot von maga után. Számos talajlakó patogén által okozott fertőzés visszavetheti a terméshozamot. Utóbbi kiküszöbölésére megoldást jelentenek a talajmentes közegek, mint a kókusztózeg, a perlit, a vermikulit és a kőzetgyapot. Mindamellettt kiegyensúlyozottabb vízellátottságot, pH viszonyokat, optimális tápanyagtartalmat biztosítanak a bennük nevelt növények számára jobb termésminőséget eredményezve (Singh et al., 2017, Glits et al., 2005). Ezek közül a perlit európai piacokon használatos hatékony, vulkáni eredetű kőzetből készült nevelőközeg. Előnye, hogy természetes alapanyagból készül, fizikailag stabil, kémiaiilag neutrális, könnyen kezelhető, baktérium és egyéb patogénektől mentes. Változatos szemcseméretben kapható, zöldségfélék hajtásakor a nagyobb szemcseméret javasolt. Uborkák esetében előnyös választás, mert optimális körülményeket teremt a növény számára a jobb növekedés, valamint

nagyobb terméshozatal tekintetében kontrollált körülményeket biztosítva (Marsic and Jakse, 2010). Hátránya tápoldatozásnál a sóstressz fellépésének lehetősége, ami a pufferező hatás hiányának köszönhető (Glits et al., 2005; Savvas et al., 2009).

Manapság széleskörűen felhasznált, korszerű növénynevelő közeg a kőzetgyapot. Bazalt megolvastásával készül, kiváló vízmegtartó képességű, belőle vetőkocka, nevelőkocka és természetotábla is készülhet. A perlit és a kőzetgyapotkocka együttesen is használható cserepekben történő palántahajtatáshoz. A magvetés történhet száraz vagy előáztatott mag felhasználásával közvetlenül palántanevelő kőzetgyapotkockába. Vetés előtt a kockákat tápoldatban kell áztatni, majd a magokat vetésénél vékony rétegben perlittel kell betakarni a vetést követően (Glits et al., 2005).

A különböző tápanyagösszetételű és tartalmú oldatok alkalmazása uborka növények öntözésénél jelentős különbséget okozhat a növekedésben. Az uborka számára a legoptimálisabb a Hoagland (HG) tápoldat (Li és Cheng, 2015). A palánták neveléséhez a módosított Hoagland tápoldat javasolt, mely optimális mennyiségű tápanyagokat biztosít a növény számára. 1992-ben Millner és Kitt és az eredeti HG oldat módosított változatát dolgozták ki, magasabb foszfát és nitrát, alacsonyabb ammónium tartalommal. Öntözésként a kőzetkockán nevelt növények tápoldatigénye cserepenként kb 200 ml (Glits et al., 2005).

1.3 A kísérleti növény morfológiai jellemzői

Az uborka (*Cucumis sativus* L.) erős növekedésű, kétszikű, egynyári kúszónövény mélyre hatoló, nagy kiterjedésű, vékony és sérülékeny gyökérral. Hengeres termése hosszúságú kúp alakú és zöld színű, vitaminokban, ásványi anyagokban gazdag (Helyes et al., 2007; Wang et al., 2013; Srikanth et al., 2017). A növény termésén, szárán, levelén trichómák találhatóak, amelyeket az epidermisz sejtek hoznak létre. Maga a képlet nagyban hozzájárul a növény szárazság, patogének, erős UV sugárzás elleni védekezéséhez. Méretük, számuk fajtánként és egyedben belül is igen eltérő lehet, a termésen lévők kereskedelmi szempontból fontosak (Xue et al., 2019). Virágai nagyok és sárgák, a növényen egyivarú női, hím és kétivarú virágok egyaránt megtalálhatóak magányosan vagy fürtökben rendeződve (Helyes et al., 2007), amelyek már rügy állapotban is jól elkülöníthetőnek egymástól. Kialakulásukat számos genetikai, hormonális és környezeti faktor együttes hatása szabályozza (Pawelkowitz et al., 2019). Levelei nagyok, tenyeresen karéjosak és serteszőrösök, szára 0,5-5 m hosszúságú lehet. Indává alakult négyszögletes, serteszőrös szárával és a növényen kifejlődő kacsok segítségével jól kapaszkodik, így támrendszer mellett is termesztendő, termése kabaktermés (Glits et al., 2005; Helyes et al., 2007).

1.4 A kísérleti növény genetikai jellemzői

Az uborka diploid faj 7 pár kromoszómával ($2n = 2x = 14$) rendelkezik, a genom becsült mérete 367 megabázispár. Az uborka fajták genetikai variabilitása alacsonyabb mértékű, mint a Cucumis nemzetség többi tagjéé. A nagyobb genetikai diverzitás a kínai és indiai fajtákban lelhető fel (Valcárcel et al., 2018). Napjainkig három fajta teljes genomjának adatai érhetőek el. Az első: egy kínai fajta, a Chinese Long 9930 (GenBank: GCA_000004075.2), amely szekvenálását Huang és munkatársai végezték 2009-ben (Huang et al., 2009); Gy14 (<http://wenglab.horticulture.wisc.edu/>). A második egy amerikai fajta a B10 (GenBank: GCA_000224045.1), amely szekvenálását a USDA-ARS Vegetable Crops Research Unit (Madison, WI) keretein belül végezték el (Cavagnaro et al. 2010). A harmadik egy észak-európai fajta, a 'Borszczagowski' (PacBio reads, GenBank: LKUO000000000.2), amelyet Lengyelországban szekvenálták a Polish Consortium of Cucumber Genome Sequencing program keretein belül és 2017-ben frissítették az adatokat (Pawelkowitz et al., 2019). A kísérletbe vont növények nagy része F1 hibrid, amelyeket a vetőmagtermelő cégek konstans szülői vonalak keresztezésével hoznak létre. A kísérleti növények így elvileg egységes genotípust hordoznak, ami a hibrid vigor révén magas terméshozamot, kedvező beltartalmi értékeket és jó termesztési tulajdonságokat biztosít.

2. Vízhány és tápanyagok túlzott bevitele által kiváltott növényi stresszek

2.1 Általános tudnivalók a növényi stresszről

A szárazföldi növények folyamatosan ki vannak téve a külső környezet hatásainak. Egy környezeti tényező akkor tekinthető stresszornak, ha annak intenzitása, fennállásának időtartalma, mértéke kívül esik a növény által preferált tartományból, ahol a növekedés és a szaporodás optimális, azaz csak genetikailag korlátozott (Taiz et al., 2015). A növények jelentős anatómiai és fiziológiai változással alkalmazkodnak a megváltozott környezethez a túlélés érdekében (Xia et al., 2009; Maryan, 2019; Nagaraju et al., 2019). A különböző stresszek gyakran hasonló választ eredményeznek sejt és molekuláris szinten egyaránt (Azarkovich et al., 2016). A distressz hatására csökken az anyagcsere, a növekedés lelassul, a reprodukciós életszakasz korábban köszönhet be a normálhoz képest. A termés minősége és mennyisége is elmaradhat a kedvező körülmények alatt elérttől (Suzuki et al., 2014), így gazdaságilag fontos növényeknél jelentős károkkal számolhatunk. A helyhez kötött életmódnak köszönhetően a növényekben változatos túlélési stratégiák alakultak ki, amelyek segítik a növekedés és szaporodás fenntartását a kedvezőtlen hatások ellenére. A növényi szerveződés, mint komplex biológiai rendszer, különböző gének, transzkripciós faktorok, egyéb fehérjék sokaságán keresztül alakítja ki alkalmazkodó képességét a megváltozott környezethez. Azonban nem mindegy, hogy a fent említett változások egyedek szintjén, vagy

generációkon keresztül faji szinten mennek végbe. Ennek okán az akklimáció és az adaptáció fogalma élesen elkülöníthetőek egymástól. Az akklimáció olyan fiziológiai és morfológiai változásokat foglal magában, amely az egyed élete során zajlik le. Az akklimációs folyamat jelátviteli útvonalakat, a válaszban résztvevő gének és fehérjék összehangolt működését foglalja magában. A változó környezeti tényezők válthatják ki, reverzibilis genetikai változásokon keresztül valósul meg (Taiz et al., 2015; Maryam et al., 2019). Ezzel szemben az adaptáció már a populáció minden egyedét érinti. Rátermettebb genotípusok jelennek meg és terjednek el, így a populáció tagjai képesek a megváltozott környezetben túlélni, szaporodni (Taiz et al., 2015).

A növényt körülvevő környezet tartalmazhat élő és élettelen faktorokat. Stresszornak azt a faktort tekinthetjük, amely stresszválasz indukálódását vonja maga után a növényben. Az élő ágensek biotikus stresszorként az élettelen tényezők abiotikus stresszorként működhetnek. Az élő környezet számos gombafajt, vírust, baktériumot, herbivort foglal magában, ezek támadásai biotikus stresszhatásnak tekinthetők és visszavetik a növényi produkciót (Suzuki et al., 2014).

Természetes élőhelyeken több stressz együttesen is hathat egy időben a növényre, ezeket stressz kombinációnak nevezzük. Ezek a kombinációk erősíthetik, vagy csökkenthetik egymás hatását (Choudhury et al., 2017). Abban az esetben, ha a két stresszor együttes hatása megegyezik az egyedüliek hatásai összegével, additív hatásról beszélünk. Ha a két tényező együttes hatása erősebb, mint az egyedüli hatások összege, akkor szinergista hatásról, ha az összeg kisebb, akkor antagonista hatásról van szó. Egymás káros hatását erősítő stresszek: meleg és szárazság, só és meleg, fény és hideg. Egymást gyengítő hatások lehetnek az ózon és szárazság. Ezen interakciók feltárásnak eredményei alapján készült el az ún. stresszmátrix, amely a lehetséges stresszfaktorok egymással történő kölcsönhatását tünteti fel (Suzuki et al., 2014; Zandalinas et al., 2018). Talanova és munkatársai 2006-ban megfigyelték, hogy az egyidőben ható stresszorok erősíthetik a növények ellenállóképességét, ún. kereszt tolerancia figyelhető meg. Ha a növényt hősokk éri, utána a fagygal szemben is ellenállóbb lesz, vagy ha nehézfém szennyezésnek van kitéve utána a magasabb sókoncentrációt is jobban viseli. Más esetekben az elszenvedett stressz gyengítheti is az ellenállóképességet. Abiotikus stresszeknek már eleve kitett növény sebezhetőséget például nöött bizonyos fertőzésekkel szemben (Suzuki et al., 2014).

2.2 Az abiotikus stressz

A stresszfolyamatokat kiváltó, a növényt érő abiotikus (élettelen környezeti) tényezők a következők lehetnek:

- Fény (intenzitás, hullámhossz, megvilágítás időtartama)
- Víz (csökkent elérhetősége a talajból, ill. elárasztás)
- Szén-dioxid
- Hőmérséklet (hideg, meleg, fagy)
- Toxinok, nehézfémek, egyéb mérgező hatású szerves vegyületek
- Magas sótartalom (NaCl)
- Túlzott tápanyagbevitel vagy tápanyaghiány (növény számára elérhető formában)

Az abiotikus stresszek növényekben fiziológiás, biokémiai és morfológiai változásokat idézhetnek elő. A sóstressz, szárazság, hideg, magas hőmérséklet a fotoszintézis aktivitást csökkentik, jelentősen limitálják a növények terméshozamát (Huang et al., 2010; Kosová et al., 2014; Zandalinas et al., 2017; Yu et al., 2018). A növényi sejt érzékeli a stresszhatásokat számos receptoron keresztül, ez jelátviteli folyamatokat indukál, amelyben növényi hormonok, másodlagos hírvivők, és transzkripciós faktorok sokasága vesz részt. A folyamatok összekapcsolódása eredményeként stressz indukálta fehérjék, enzimek lépnek működésbe akklimációt eredményezve. Az abiotikus stresszek hatását reaktív oxigén formák képződése és felhalmozódása kíséri, ami a sejtek károsodásához és a fotoszintézis gátlásához vezet, ami hozzájárul a csökkent növekedéshez és terméshozamhoz. A válaszreakció függ a növény fejlődési állapotától is. A reproduktív szerveket felépítő szövetek például jóval érzékenyebbek a kombinált hő és szárazság stresszel szemben, mint a vegetatív szövetek (Zandalinas et al., 2017). A kedvezőtlen hatásokkal szemben tolerancia alakulhat ki, amely gyorsabb válaszreakciót és kisebb kárt eredményezhet (Chen és Plant, 1999). A vízhiány az egyik legnagyobb termés kiesést okozó stressz (Szira et al., 2008), amely esetében a növény vízigénye nagyobb, mint a környezetének vízkapacitása (Blum, 1988). A növényt az év bármely szakaszában, bármely fejlődési stádiumban érheti vízhiány (Szira et al., 2008).

A sóstressz az egyik legjelentősebb abiotikus stressz, amely jelentősen visszaveti a száraz és félszáraz éghajlati régiók növényeinek termésképzését világszerte. Toxikus és ozmotikus stresszhatásokat idéz elő a gyökerekben, így a növekedés gátolt lesz, a normálistól eltérő ion egyensúlynak és a sejtek lecsökkent vízpotenciáljának köszönhetően (Cabot et al., 2014; Lei et al., 2014; Abdollahi et al., 2015).

Stresszhatásokra a növényekben lezajló válaszreakció magában foglalja a biokémiai, élettani és génszabályozási folyamatok és hormonális szabályozás megváltozását. Ezt néhány konkrét eset bemutatásával szemléltetem:

- Sóstressz esetében: génexpressziós mintázat megváltozása, ozmotikumok akkumulációja, sejtek javító mechanizmusainak aktiválása (Chen és Plant, 1999; Huang et al., 2010).
- Víziányos állapot esetében: antioxidáns enzimek mennyiségének növekedése (Wang et al., 2010a).
- Víziányos állapot és sóstressz esetén: ABA hormon mennyiségének növekedése, reaktív oxigénfajták felszaporodása (Cabot et al., 2014).

A klímaváltozás miatt az időjárás egyre viszontagságosabb, az extrém száraz és meleg periódusok, továbbá a szélsőséges időjárási események drasztikus terméshozam csökkenést idéznek elő világszerte. Különösen a szárazsának ellenállóbb gazdasági haszonnövény fajták létrehozása lenne célszerű. Azonban a szárazság tolerancia egy komplex fenotípust jelent, amely mögött számos faktor áll (Deák et al., 2017), ennek okán a stressztoleranciát meghatározó faktorok feltárása, vizsgálata kiemelt feladat. A probléma összetettségét mutatja, hogy a tolerancia kialakulását a növény tulajdonságai mellett mikorrhiza kapcsolatok is segíthetik. Cabot és munkatársai 2014-ben megállapították, hogy a *Piriformaspora indica* árpánál sótolerancia, a *Paecilomyces formosus* gomba rizsnél só, szárazság és hő tolerancia kialakulását segítette elő.

Molekuláris szinten a külső jelek érzékelése és az erre kialakuló válaszreakció létrejötte hátterében a szalicilsav és az ABA növényi hormonok összehangolt együttműködése állhat, a növényt érő stresszek típusától függően. A válaszreakciót gyakran reaktív oxigénformák (ROS) képződése követi, amik alacsony koncentrációban, másodlagos hírvivőként fontos elemei a növényi stresszválasz jelátviteli folyamatainak (Xia et al., 2009). Az antioxidáns rendszer és a növényi hormonok által koordinált egyéb válaszok együttesen védelmet jelenthetnek a növények számára a stresszek ellen (Kellős et al., 2008). A szárazság másodlagos stressz tényezőket indukál, ezek az oxidatív és az ozmotikus stressz (Yu et al., 2018) ennek okán ezek a legtöbbet kutatott abiotikus stresszfaktorok között szerepelnek (Abedini et al., 2017). A szabadföldön termesztett növények napi szinten ki vannak téve az abiotikus stresszeknek. Rosszul megválasztott termőterületen a hő-, hideg-, szárazság-, víz-, só-, fagy-, vagy fénystressz kedvezőtlenül befolyásolhatja a növény növekedését, fejlődését. Az alkalmazkodás az abiotikus stresszekhez sok esetben az élettani folyamatok károsodásával járhat együtt, amely a termés mennyiségének és minőségének romlásához vezethet. Ennek okán a termesztésben bevont fajták stressztoleranciájának vizsgálata kulcsfontosságú, így a kapott eredmények ismeretében optimális termesztési körülmények dolgozhatóak ki az adott fajtára nézve (Ördög és Molnár, 2011).

2.3 Az abiotikus stressz hatása a fotoszintézis hatékonyságára

Az abiotikus stresszek a fotoszintézis mértékét kedvezőtlenül befolyásolják, amely a termés csökkenéséhez és minőségének romlásához vezet. Tanszékünk professzora vad típusú és mutáns *Arabidopsis* növényeknél vizsgálta a fotoszintetikus aktivitás különbségét szárazságstressz mellett, LCi fotoszintézis mérőműszer segítségével. Az ABA hormonra túlérzékeny *cbp20*-as mutáns fotoasszimilációs képességét kívánták megfigyelni. Azt tapasztalták, hogy vízhiány hatására a mutáns és kontroll csoport esetében is a fotoszintetikus aktivitáshoz köthető paraméterek szignifikánsan alacsonyabb értéket adtak a normál körülményekhez képest (Papp et al. 2014). Szintén LCi fotoszintézis mérő használatával szárazság stressznek kitett lucerna növényeknél vizsgálták a növények szén-dioxid asszimilációs rátáját és transzspirációját. Megállapították, hogy stressz hatására a mért paraméterek értékei csökkennek, melyből következtetni lehetett a fotoszintézis mértékének csökkenésére (Smethurst és Shabala. 2003).

A nehézfémek által okozott stressz szintén közvetlenül befolyásolja a fotoszintetikus aktivitást. Uborkanövényeken végzett kísérleteknél megfigyelték, hogy a réz és kadmium mennyiségének növelése erélyes fotoszintetikus aktivitás csökkenést idézett elő (Burzyński és Kłobus, 2004). Ellenben a növekedést nemcsak ez a tényező befolyásolhatja. A sóstressz és a fotoszintetikus aktivitás között szintén negatív kapcsolat áll fenn. Ezt alátámasztják négy búzafajtán végzett kísérletek eredményei is. A magasabb sókoncentráción nevelt növényeknél a fotoszintetikus kapacitás erélyes csökkenését tapasztalták. A méréseket klorofill fluoreszcencia vizsgálattal végezték, ami kiváló lehetőség a fotoszintézis kapacitás meghatározására (Abdeshahian et al., 2010).

2.4 Tápanyagellátottság hatása a növények fejlődésére

A növények elterjedése és növekedése számos környezeti tényezőtől függ. A hozzáférhető tápelemek jelenléte mellett ezek beépítése a növénybe függ például az adott élőhely hőmérsékletétől és a csapadékellátottságtól is, amik nagymértékben befolyásolják a tápanyagfelvételt és hasznosulást (Maryan et al., 2019). A termesztés közben szükséges egyéb körülmények, például a tápanyagellátás biztosítása mellett tehát megfelelő öntözés is szükséges lehet a termés minőségének és tárolhatóságának megőrzése céljából (Kang et al., 2002). A tápanyagfelvétel és a felvehető víz mennyisége befolyásolja a termés hozamot, ezért ezek hatásának vizsgálata kiemelt fontosságú. A növény növekedésének leírására a morfológiai paraméterek vizsgálatai használhatók. Informatív paraméterek lehetnek a növényi hajtás szárazanyag-tömege, a hajtáshossz, a gyökérhossz és a hipokotil hossz. Mérésük kiválóan használható abiotikus stresszhatások mértékének detektálására is (Savvas et al., 2009, Amirossadat et al., 2012).

2.4.1 Makro és mikroelemek

Ahogy a legtöbb növény, így az uborka esetében is a makroelemek és mikroelemek mennyisége, valamint elérhetőségük együttesen alakítják a növény növekedését és termés hozamát (Li és Cheng, 2015). A növény számára felvehető tápanyagok közül makroelemnek tekinthetőek a nitrogén (N), a foszfor (P), a kálium (K), a kalcium (Ca), a magnézium (Mg), a kén (S) ezek mennyisége 1-150 g x kg⁻¹ száraz tömegben. Mikroelemeknek nevezzük a vas (Fe), cink (Zn), mangán (Mn), réz (Cu), bór (B), molibdén (Mo), klór (Cl) és nikkel (Ni) elemeket, melyek mennyisége 0,1 mg tól 100 mg x kg⁻¹ száraz tömegben (Ördög és Molnár, 2011).

2.4.2 Tápanyaghiány

A tápanyagigénytől eltérő tápanyagbevitel stresszes állapotot idézhet elő, amely elégtelen mennyiség esetén tápanyaghiányhoz, túlzott bevitel esetén mérgezéshez vezet. A jól ellátott növényben megtalálható elem koncentrációk változhatnak a növény fejlődési stádiumának tükrében (a tápanyaghiányt jelző kritikus koncentrációk az adott elemre nézve nem azonosak a növény különböző fejlődési stádiumaiban). Ha az elégtelen tápelem mennyiség a növekedés kritikus szakaszában sújtja a növényt, ez jelentős termés mennyiség csökkenést von maga után (Singh, 2005).

Az elégtelen tápanyagellátottsághoz számos külső tényező is hozzájárulhat. Ezek közül a leglényegesebb a szárazság vagy túlzott csapadék, tápanyagok kimosódása a talajból, edafikus faktorok, megváltozott talaj pH, a tápoldat összetevők közötti interakciók és a biotikus faktorok. A felsorolt hatások olykor együttesen is előfordulhatnak egymást erősítve. A tápközeg kémhatása is stresszes állapotot idézhet elő. A növények számára a kedvező pH 5,5 és 7,0 között van, a tartomány alatti értékek savas, fölötti értékek lúgos talajt jeleznek. A pH befolyásolja a tápanyagok felvételét is. Lúgos, karbonátos közegben a P, Fe és Mn sók oldhatósága csökken, felvételük nehezebben valósul meg. A savas közegben a felvehető Ca, Mg, P tartalom alacsony, viszont a hozzáférhető Fe Mn, Al mennyisége magasabb (Singh, 2005). A tápanyagok felvétele és elosztása révén a növény befolyásolni tudja egyes stresszorok esetében a választ, a stresszhelyzet kimenetelét. A tápanyaghiány fennállása a más, egyéb károsító hatásokkal szembeni védekezést is visszavetheti. Búzán végzet kísérletek eredményei alapján elmondható, hogy alacsonyabb N elátottság mellett az arzén stressz negatív hatása erőteljesebb volt (Maglovski et al., 2019).

A tápelemek hiánya megelőzhető megfelelő intenzitású tápoldatozással. Napjainkban műtrágyák, illetve tápoldatok használata nélkül nem lehet eredményes gazdálkodást folytatni a mezőgazdaságban. A tápoldatozás egy olyan eljárás a haszonnövények termesztésénél,

amely segítségével a termés hozam javítható a termésminőség fenntartása mellett, valamint megfelelő alkalmazása révén biztosítható a termesztés gazdaságossága és a környezet védelme. A tápanyagokat az öntözéshez használt vízzel együtt juttatják a nevelőközegbe a gyökérzet közelében, ily módon folyamatosan kedvező tápanyagellátottságot lehet biztosítani a növény számára. A tápanyagbevitelt az adott fajta igényeinek megfelelően szükséges szabályozni. Használatával kapcsolatos problémák lehetnek a megnövekedett költségek és a vízben rosszul oldódó sók bevitele (Kong et al., 2017). A tápoldat optimális tápelem koncentrációjának beállítása három szempont figyelembevétel történik. Az első, egyben a legfontosabb, az adott faj/fajta tápanyagigényének követése. Ezt követi az adott nevelőközeg összetételének ismerete (mennyire könnyen vehetők fel a tápanyagok belőle a gyökerek által), majd nem utolsósorban az, hogy a felvett tápanyagok hogyan járulnak hozzá a termés fejlődéséhez. Az optimális tápoldat kidolgozását és szakszerű alkalmazását számos szimulációs modell, a levelek N és K és klorofill tartalmának, valamint a fotoszintézis hatékonyságának monitorozása segítheti (Incrocci et al., 2017).

2.4.3 Túlzott tápanyagbevitel

A nem megfelelő módon alkalmazott tápoldatozás a tápanyagok túlzott bevitelét vonhatja maga után. Napjaink egyik, a környezetre és magára a termesztett növényre is egyaránt veszélyes jelensége a túlzott tápanyagbevitel.

Ennek okán kiemelendők azon kutatások eredményei is, amelyek a túlzott tápanyagbevitel hatását vizsgálják, mert a termesztésbe vont fajták maximális terméshozama az optimális tápanyagmennyiséggel biztosítható (Silber et al., 2003). A túlzott tápanyagbevitel mélyebb megértéséhez szükséges némely makroelemnek a növényi anyagcserében betöltött szerepének áttekintése.

2.4.4 Nitrogén, mint az egyik fő makrokomponens

A nitrogén (N) az optimális növekedéséhez szükséges egyik legfontosabb makroelem (Li és Cheng, 2015; Kong et al., 2017). Nitrátok, ammóniumsók (Abdollahi et al., 2015) és karbamid formájában, a foszfátokkal, valamint a mikroelemek kelátképzőivel (pl. EDTA) együttesen kerül bele a tápoldatokba. Trágyázással és tápoldatozással a talaj szerves N tartalma növelhető (De Bever et al., 2012). A tápoldatozás részben a N kimosódása során kialakuló N hiányos állapotot előzi meg. Azonban az ehhez alkalmazott sók nagyobb mennyiségben már sóstressz kialakulásához, és toxicitáshoz vezethetnek, ráadásul a növény patogénekre való érzékenységét is növelhetik (Kong et al., 2017). Az uborka N igénye a tápoldatban 225-250 mg x L⁻¹. A N tartalom befolyásolja a termés minőségét, színét és méretét. A túlzott bevitele azonban a termés keménységét csökkenti (Jasso-Chaverria, 2005).

A tápanyaghasznosítás a felépítő anyagcserefolyamatok révén valósul meg a növényekben. A jó N ellátottság következménye a gyors növekedés, ami a levélfelülettel arányosan egyben a megfelelően hatékony fotoszintézis feltétele is. A levelek kiterjedését nagymértékben befolyásolja a növény N és P ellátása is, így különböző tápanyagellátottságú közegben nevelt növények levélfelületei eltérő értékeket adnak. Ez szorosan összefügg az erőteljes fotoszintézissel és a jó termés hozammal (Futó, 2003). A N bevitel befolyásolja a fotoszintetikus pigmentként hasznosuló klorofillok mennyiségét, valamint kiemelt szerepe van az eletrontraszportban és a fotofoszforillációban is (de Bever et al., 2012), asszimilációját a gibberelin (GA) hormon segíti (Moumita et al., 2019). A felvételt követően nitrát (NO_3^-) formában történő felhalmozódás a fotoszintézis csökkenéséhez, iontoxicitáshoz, ozmotikus stresszhez és reaktív oxigén formák (ROS) felszaporodásához vezet. A túlzott nitrátbevitel leginkább az üvegházban nevelt uborfajtákat érinti, mert a gyakran feleslegben adott nitrát felvétele könnyen stressz állapotot alakít ki, ebből kifolyólag a növekedésük és fejlődésük gátolt lehet (Zhang et al., 2008).

A N hiánya növekedésgátlást idéz elő, mert számos kulcs metabolit, például a fotoszintetikus pigmentek és a nukleotidok is N tartalmúak, ezek mennyiségének csökkenése az asszimiláció mértékének visszavetését vonja maga után. Azonban a N hiány káros hatását az abszizinsav (ABA) tompíthatja. Oka és munkatársai 2012-ben a N hiány és az ABA kapcsolatát vizsgálták uborkában. Megállapították, hogy az ABA segíti a klorofillok szintézisét és gátolja degradációjukat, amikor N hiány lép fel.

Uborka esetében megfigyelték, hogy a N beviteli formája befolyásolhatja más tápanyagok felvételét és felhalmozódását, valamint számos élettani folyamatra hatással van. Karbamid és ammónium formájában nekrozist okozhat, melyet a Ca és Mg, K ionok felhalmozódásának csökkenése kísér. A nitrát formában történő bevitel a növényi szövetek foszfor (P) mennyiségének csökkenését idézi elő e fent említett ionok koncentrációjának növekedésével együtt (Alan, 1989). A túlzott N bevitel a növény növekedését nagymértékben befolyásolja. Uborka növények növekedés paramétereit vizsgálták különböző nitrát tartalmú tápoldatozást követően. A méréseknél kapott eredmények alapján megállapították, hogy a túlzott nitrát bevitel negatívan befolyásolta a fotoszintézis aktivitást, az asszimiláció mértéke így csökkent (Yang et al. 2009). A N asszimiláció hatással van az antioxidáns enzimek aktivitására is. A nitrát tartalom és a peroxidáz enzimek aktivitása között pozitív kapcsolat lelhető fel (Maglovski et al., 2019).

2.4.5 Foszfor

A foszfor (P) esszenciális a növény számára, az anyagcsere számos elsődleges résztvevője tartalmazza, például foszfolipidek, nukleinsavak felépítésében vesz részt. A sejtek energiaraktározásában fontos szereppel bír (ATP). A P hiány tünetei fokozatosan jelennek meg a növényeken, amely során a virágzás és a termések érése szenved kárt termés csökkenést eredményezve. Túlzott bevitele a környezetet is károsítja, az elfolyó talajvíz foszfor tartalma a tavak eutrofizációját idézheti elő. A növényben történő feldúsulása következtében a N és néhány mikroelem (Zn, Cu, Fe, Mn) relatív hiánya léphet fel (Carstensen et al., 2018). Szöveti koncentrációja szintén csökken nitrát stressz esetében (Zhang et al., 2008).

2.4.6 Kálium

A kálium (K) az ozmotikus szabályozás egyik kulcseleme. Nitrát stressz esetében kálium akkumuláció figyelhető meg, amely a K ionok jelentős szerepére utal az ozmotikus stresszre adott válasz esetében (Zhang et al., 2017).

2.4.7 Kalcium

A kalcium (Ca) a jelátviteli folyamatok nélkülözhetetlen résztvevője. Az intermolekuláris kapcsolatok kialakításában, valamint a sejtfal és a membránok stabilizálásában is van szerepe. Továbbá növeli a növények nehézfémekkel szembeni toleranciáját, szerepet játszik a szénhidrát anyagcsere szabályozásában. Szükséges a gyökerek egészséges növekedéséhez, a talajból történő hozzáférhetőségét a K és a Mg ionok mennyisége is befolyásolja. A kalcium hiány ritka a természetben, inkább a korlátozott elérhetősége a talajból és az ion egyelőtlen eloszlása okozhat hiánytüneteket a növényekben. Kalcium többlet a meszes talajokon fordulhat elő, amely a növényi növekedést és a magok csírázását visszaveti. Továbbá stresszhelyzetet okozhat, ha a tápoldatban túlzott mennyiségben bevitt $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ miatt szöveti koncentrációja megnő. Nitrát stressz kialakulásánál ugyanakkor a kalcium segítheti a membránok épségének fenntartását (White és Broadley, 2003; Zhang et al., 2008).

2.4.8 Magnézium

A magnézium (Mg) a klorofillok központi alkotóeleme, a szén fixáció és számos egyéb növekedési és fejlődési folyamat fontos résztvevője. Enzimek kofaktora, jelátviteli folyamatok komponense, továbbá a sejtplazma kationegyensúlyának fenntartásában van szerepe. Hiánya esetében többek között csökken a fotoszintézis, a leveleken sárgás foltok jelennek meg, amely a klorofillok szintézisének zavarát jelzi. Guo és munkatársai 2015-ben lúdfűvel végzett kísérleteiben megállapították, hogy a magnéziumhiány a fiatal növények leveleiben a keményítő akkumulációját idézte elő, amely a glükóz transzportját gátolta a levelek felől a gyökerekhez, így visszavetve a növekedést. Magnézium felesleg esetében az ABA hormon mennyiségének növekedése volt tapasztalható, ennek következtében az ABA

függő jelátviteli útvonalak aktiválódnak (DELLA fehérjéken keresztül a növények növekedés szintén csökkent), illetve a fotoszintézis gátlásán keresztül a ROS vegyületek akkumulációja volt megfigyelhető.

2.4.8 Mikroelemek

A mikroelemek (Fe, Zn, Mn, Cu, Mo, B, Cl, Ni) a makroelemeknél alacsonyabb koncentrációban vannak jelen a növényben, a tápoldatokban is kisebb mennyiségben szükségesek. Hiányuk szintén a termés minőségének és mennyiségének csökkenéséhez vezethet. A gazdasági haszonnövények esetében (búza, kukorica, szója) műtrágyában, vagy tápoldatban történő bevitelük biztosíthatja a megfelelő terméshozamot (Malakouti, 2008). A mikroelemek relatíve kis mennyiségben szükségesek, a növény száraztömegének maximum 0,1 %-át teszik ki, azonban ennél nagyobb koncentrációban már toxikusak lehetnek a növények számára. Talajból történő felvehetőségük csak bizonyos formákban lehetséges, ezt nagymértékben befolyásolja a talaj textúrája és a pH viszonyok. Szerepük változatos, többek között enzimek kofaktorai lehetnek, valamint résztvesznek az anyagcsere folyamatok redoxi reakcióiban (Nieder et al., 2018).

A szilícium (Si) nem esszenciális a növény számára, így nem tekinthető mikroelemnek, azonban normál körülmények között bizonyos fajokban stimulálhatja a növekedést és a terméshozamot. A tápoldathoz alacsony koncentrációban nátrium szilikátot adva, a sóstressz elleni tolerancia fokozható, a szilikát csökkenti a Na ionok felvételét és toxicitását (Ahmad et al., 1992).

2.5 Az oxidatív stressz

2.5.1 Általános jellemzők

Az oxigén, mint a légzési lánc végső elektronakceptora, nélkülözhetetlen az aerob szervezetekben. Azonban a molekula négy elektronos redukciója során köztes termékként részlegesen redukált köztes termékek jöhetnek létre. Az oxigén aktiválása fizikai és kémia úton is történhet reaktív oxigénformákat eredményezve. A fent említettek alapján reaktív oxigénformáknak (ROS), a részlegesen redukált állapotban lévő oxigén tartalmú vegyületeket és az aktivált formájú molekuláris oxigént tekintjük, melyek elkerülhetetlen melléktermékei az aerob anyagcserének és a fotoszintézisnek is. Ezek olyan aktív produktumok, melyek igen reakcióképesek és erősen oxidatív hatásúak. Egy részük párosítatlan elektronokkal rendelkező szabadgyök, másik részük aktív oxidáló hatású szabadgyököt képző molekula (Hegedűs és Stefanovicsné, 2012). Mennyiségük megnövekedése a fehérjék, DNS, lipidek drasztikus oxidatív károsodását okozhatja, mely sejthalálhoz is vezethet (Moumita et al., 2019).

2.5.2 Reaktív oxigénformák

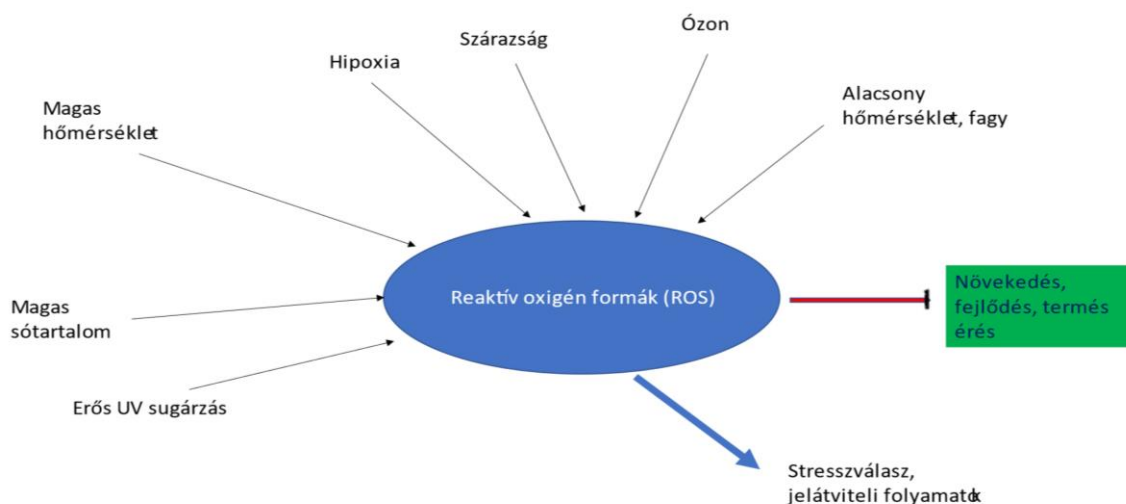
- Szinglet oxigén: ($^1\text{O}_2$) A fizikai változást szenvedő triplet állapotú oxigénmolekula elektronjainak száma nem változik, csupán a kettős kötésben lévő π elektronok spinállapota lesz antiparalell külső gerjesztés által. Így szinglet oxigén képződik, amelynek kvantummechanikai stabilitása módosul. Könnyen reakcióba lép a környezetében lévő biomolekulákkal, telítetlen zsírsavakból peroxidokat képez, aminosavak oxidációját idézi elő (Hegedűs és Stefanovicsné, 2012). A kloroplasztiszban képződő szinglet oxigén elsősorban a fotoszintetikus apparátust károsítja, de akár a sejtmagban található gének expresszióját is befolyásolhatja. Mindez klorózishoz, programozott sejthalálhoz, továbbá stresszválaszok aktiválásához is vezethet (Choudhury et al., 2017).
- Szuperoxid anion: ($\text{O}_2^{\bullet-}$) A molekuláris oxigén kémiai aktiválása során, egy külső elektron felvételével keletkezik. A szuperoxid anion a membránokban lipidperoxidációt, enzimek gátlását, poliszacharidok bomlását idézheti elő (Hegedűs és Stefanovicsné, 2012). A mitokondriumokban a Komplex I. és a Komplex III felőli elektronok szivárgása következtében is képződhet, ahol a mangán kofaktorral működő szuperoxid dizmutáz (SOD) enzimek alakítják át hidrogén peroxiddá (H_2O_2) (Choudhury et al., 2017).
- Hidrogén peroxid (H_2O_2): A szuperoxid anion két elektronos redukciója során keletkezik. Károsító hatásával flavonoidok oxidálását, mutagenézist, a CO_2 fixálásában résztvevő enzimek gátlását okozza (Hegedűs és Stefanovicsné, 2012). Ez az egykor kizárólag toxikusnak vélt reaktív molekula fontos szereppel bír a normál növényi anyagcsere folyamatokban és a stresszválaszban egyaránt. Számos antioxidáns enzim aktiválását idézi elő (Sun et al., 2018). A Fe^{2+} ionokkal is reakcióba lép a Fenton reakció során, amely során még reaktívabb hidroxilgyökök képződik, utóbbi idézi elő a legerősebb oxidatív károsodást a sejtekben. H_2O_2 képződhet az abiotikus stresszhatásokra megnövekvő fotorespirációs folyamatokban is, bomlását a kataláz enzim (CAT) segíti. Szárazságstressz hatására a gyökerekben oxalát közvetített H_2O_2 képződés megy végbe. A hidrogén peroxid a fehérjék cisztein oldalláncok oxidálásán (szulfonálásán) keresztül néhány transzkripciós faktor és bizonyos enzimek aktivitását is befolyásolhatja, utóbbiak regenerációjában glutationok és preoxidoxinok vesznek részt (Choudhury et al., 2017).
- Hidroxilgyökök (OH^{\bullet}): A szuperoxid gyök és a hidrogén peroxid reakciója folyamán (Haber Weiss – reakció) és a Fenton reakció során képződik, a legreaktívabb szabadgyök. Károsító hatásai szerteágazóak, többek között a lipidperoxidáció,

fehérjedegradáció, DNS törés, mitokondrium destrukció folyamatokat idézi elő, végül sejthalált okozhat (Hegedűs és Stefanovicsné, 2012).

- Nitrogén monoxid (NO): A növény növekedésében és fejlődésében (csírázás, virágzás, öregedési folyamatok) van szerepe. Másodlagos hírvivőként a betegségekkel szembeni védelem és az abiotikus sztrессzek elleni válaszreakció kialakulását segíti elő. Bioszintézisének meghatározó lépését a nitrát reduktáz enzim (NR) katalizálja NADPH redukált koenzim felhasználásával, ennek ellenére jelentősebb forrásának a NO szintáz enzim (NOS) katalizált arginin bontást tekintjük. Számos növényi hormon (ABA, auxin, brassinoidok) és jelátvivő molekula NO szint növekedést idéz elő, és egyben növeli az antioxidáns enzimek aktivitását (Cui et al., 2011). Részt vesz a tápelem hiány és toxicitás által kiváltott folyamatokban, továbbá a H_2O_2 -al együtt a hiperszenzitív reakció kiváltásában is szerepet játszik (Sun et al., 2018).

2.5.3 A ROS képződése

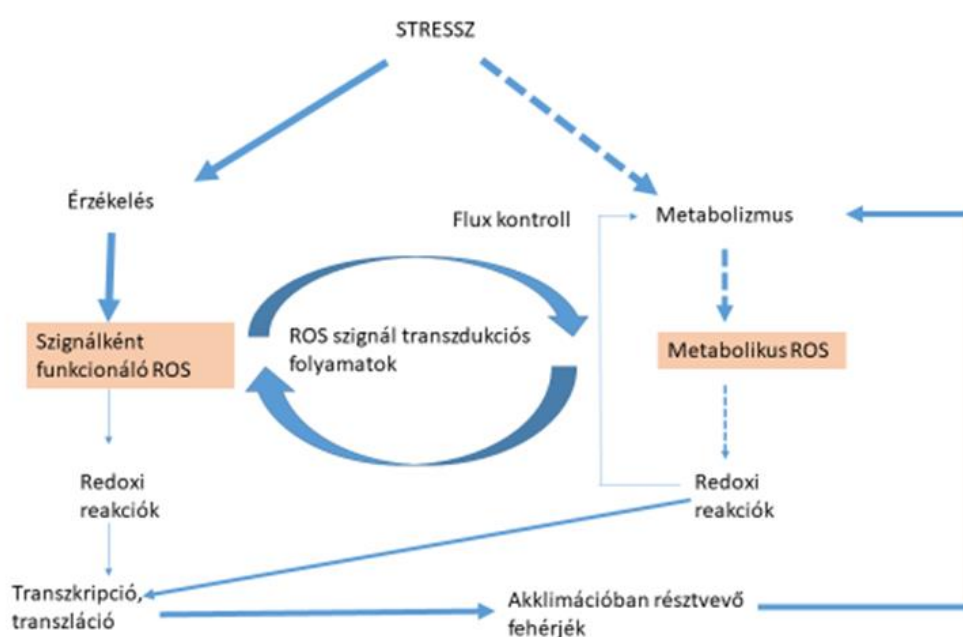
A növényeket érő biotikus és abiotikus stresszfaktorok általában közvetve vagy közvetlenül oxidatív károsodással járnak együtt, amely során a reaktív oxigénformák mennyisége a sejtekben jelentősen megnövekedhet (Janda, 2007). Az 1. ábra röviden összefoglalja a ROS generáló hatásokat, és annak következményeit.



1. ábra. A reaktív oxigénformák képződését elősegítő abiotikus stresszhatások (Choudhury et al., 2017 alapján).

A növényi szervezetekben reaktív oxigénformák (ROS) legfőbb forrása a kloroplasztisz, a peroxiszóma és a mitokondrium. A kloroplasztiszokban a Mehler reakció, az antennák túlgerjesztése miatt képződő, valamint a gátolt CO_2 fixáció során képződő reaktív

oxigénformák a jellemzőek. A mitokondriumokban az elektron transzportlánc túlgerjesztése, a peroxiszómában a lipidanyagcsere során történhet erőteljes ROS képződés (Hu et al., 2008). A reaktív oxigénformák képződése két főbb módon történhet meg. Az egyik az ún. metabolikus ROS, amely az anyagcsere folyamatok zavarának egyik terméke. A másik, a szignálként funkcionáló ROS a stresszekre adott válaszreakciót alkotó jelátviteli útvonalak egyik fő komponense (2. ábra) (Choudhury et al., 2017; Jiang et al., 2019)). Az alacsony koncentrációjú ROS-nak a génexpresszióra van hatása. Ezek közül a H₂O₂ kiemelendő, ami az abszcizinsav egyik fő közvetítő molekulája például a sztómazáródás mechanizmusában. Továbbá más jelátviteli útvonalak résztvevője, többek között részt vesz az ózon által kiváltott sejthalál szabályozásában (Janda et al., 2007).



2. ábra. A reaktív oxigénformák (ROS) szerepe az abiotikus stressz által kiváltott akklimációs folyamatokban. Képződésük két lehetséges módja: metabolikus ROS (anyagcserefolyamatok révén képződő) és szignálként funkcionáló ROS és kapcsolatuk egymással a stresszválaszban (Choudhury et al., 2017 alapján).

2.5.4 A reaktív oxigénformák hatásai

A ROS a fehérjék reverzibilis, vagy irreverzibilis módosítását idézhetik elő, melyek jelentős változásokat okozhatnak a metabolikus folyamatok szabályozásában, illetve menetében. A fontosabb ROS által generált módosítások a következők: szulfonálás, karbonilálás, glutationizáció, S- nitroziláció. Egy ROS függő szignál transzdukciós út első lépése lehet a cisztein aminosavat tartalmazó fehérjék oxidációja (Cys SH csoportján). A triptofán oxidáció is ROS indukált folyamat, a fotoszintézis szabályozásában van kiemelt szerepe, amikor a második fotokémiai rendszerben (PSII) fénystressz hatására a D1 fehérje degradációs

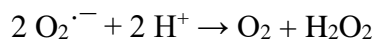
folyamatai indulnak be. A karboniláció az Arg, His, Lys, Pro és Thr aminosavakat érintő oxidáció, amely irreverzibilis. Ezt a folyamatot a lipidperoxidációban keletkező termékek is előidézhetik. A nitroziláció a Cys oldalláncot érinti, NO kapcsolódik a tiol csoporthoz, ez a folyamat azokat az enzimeket érinti leginkább, amelyek a fénylézésben, illetve az antioxidáns válaszban vesznek részt, például sóstressz hatása alatt. Utóbbi folyamatnak szerepe van a sejtek homeosztázisának fenntartásában stresszkörülmények között (Choudhury et al., 2017).

2.5.4 Antioxidáns védelmi rendszer

Az evolúció során a magasabbrendű növényekben komplex védelmi rendszer alakult ki a ROS káros hatásaival szemben. A túlzott mértékben feldúsuló reaktív vegyületek káros hatásai a membránstruktúra roncsolódásában (lipidperoxidáció), fehérjék és enzimek működésképtelenné válásában és DNS, RNS károsodásban mutatkoznak meg, akár a sejtek pusztulását is okozhatják. Az antioxidáns rendszer képes megelőzni a reaktív oxigénformák túlzott felszaporodását, ezáltal fenntartani a sejtek redox homeosztázisát (Kellős et al., 2008). A növényi sejtekben lévő kloroplasztiszokban az egyik lehetséges mód a ROS képződés megelőzésére az energia disszipáció, amit a fotorespiráció, a ciklikus elektrontranszport és a xantofill ciklus biztosíthatnak. További lehetőségként a kloroplasztban és a mitokondriumokban képződő ROS vegyületek feldúsulását többek között az alternatív oxidázok (AOX) akadályozhatják meg (Hu et al., 2008).

A károk megelőzéséért és helyreállításáért felelős antioxidáns rendszerek részei az antioxidáns természetű enzimek és vegyületek, amelyek a ROS vegyületek redukálását, és így ártalmatlanítását végzik. Főbb antioxidáns hatású enzimek:

- Szuperoxid dizmutáz (SOD) (EC 1.15.1.1): A szuperoxid anion hidrogénperoxiddá és oxigénné történő diszmutációját katalizálja, a következő reakcióegyenlet szerint:

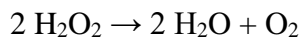


Az összes aerob élőlényben megtalálható ilyen enzim. Különböző kofaktorú izoenzimeket különíthetünk el attól függően, mely kompartmentben helyezkednek el. A Mn kofaktorú SOD mitokondriumban, a Cu/Zn és Fe SOD a kloroplasztiszban lokalizált (Janda, 2007; Hu et al., 2008; Jiang et al., 2019). Az enzim a kloroplasztiszban lejátszódó víz-víz ciklusban vesz részt, ahol a PSI-ről érkező elektronok a vízbontás melléktermékeként képződő molekuláris oxigénre kerülnek, amelyből szuperoxid anion lesz, ezt a SOD átalakítja hidrogén peroxiddá, utóbbit az APX vízzé bontja tovább.

- Aszkorbinsav peroxidáz (APX) (EC 1.11.1.11.): Vas kofaktorral működő hem tartalmú izoenzim csoportja, a kloroplasztiszban a sztrómában és a tilakoid membránokban is jelen vannak, továbbá mitokondriumban, peroxiszómában vagy glioxiszómában is lokalizáltak. A hidrogénperoxid bomlását aktiválják, elektrondonorként aszkorbinsavat használva. A kloroplasztiszban az aszkorbát-glutation ciklusban vesznek részt, itt a hidrogénperoxidot aszkorbinsavat használva bontják, a képződő monodehidro-aszkorbátot a NADPH függő MDHAR aszkorbinsavvá redukálja vissza redukált glutation segítségével, melyet majd a GR enzim regenerál vissza NADPH-t használva.

Uborkában is a hem tartalmú enzim különböző izoformái megtalálhatóak, citoszolban (cAPX), mitokondriumban (mitAPX), kloroplasztisz sztróma (sAPX), kloroplasztisz tilakoid membrán (tAPX), peroxiszóma és glioxiszóma (mAPX). A sejten belüli lokalizációt jelölő célszekvenciák és a transzmembrán domének az izoenzim N és C terminális régiójában találhatóak (Caverzan et al., 2012). Konkrét kódoló génként a Csa_2G381780 azonosítóval ellátott putatív gént találtam (uniprot.org/uniprot/A0A0A0LQ87).

- Kataláz (CAT) (EC 1.11.1.6): Minden élőlényben megtalálható enzimes család. Hidrogén peroxid bomlását katalizálja az alábbi egyenlet szerint:



A reakcióhoz nem szükséges külső elektrondonor. Az enzim négy alegységből áll, hem tartalmú, növényekben egy fajon belül leggyakrabban három-négy gén kódol katalázt. A katalázok expressziója szövetspecifikus és az egyedfejlődés során változik. Uborkában Hu és munkatársai 2016-ban négy kataláz enzim gént izoláltak (*CsCAT1CsCAT4*), a gének a növény összes szövetében termelődnek abiotikus és biotikus stresszhatásokra (Hu et al., 2016).

- Glutation reduktáz (GR) (EC 1.6.4.2.): Heterotetramer enzim, mely az alábbi reakció alapján az oxidált glutation regenerációját végzi NADPH felhasználásával:



Részt vesz az aszkorbát-glutation ciklusban, valamint a citoszolban és a peroxiszómákban lezajló glutation-peroxidáz ciklusban is. A glutation-reduktáz enzim a más redox reakciókban elektrondonorként szolgáló redukált glutation (GSH) regenerációját végzi. Előfordul a mitokondriumokban, kloroplasztiszokban, citoszolban, peroxiszómákban. Stresszhatásra az enzim aktivitása általában megnő, melynek szerepe lehet a stressztolerancia kialakulásában (Janda, 2007).

- Glutation-peroxidáz (GPX) (EC:1.11.1.9): A növények H_2O_2 szintjének szabályozásában résztvevő nem hem tartalmú enzimesalád, amely a stresszek során felhalmozódó H_2O_2 bontja el glutathiont felhasználva elektrondonorként. Lokalizációjuk alapján öt nagyobb csoportra oszthatóak. Uborkában hat GPX gént izoláltak (*CsGPX1–CsGPX6*), amelyek a 4, 5, 6, 7 kromoszómán helyezkednek el, a növény összes szövetében expresszálódnak különösen virágzáskor és stresszek esetében (Zhou et al., 2018a).

További antioxidáns enzimek a peroxiredoxinok, alternatív oxidázok és a glutation transzferázok.

A nem enzimikus védelem főbb antioxidáns vegyületei a redukált glutation (GSH), aszkorbinsav (AS), karotinoidok, tokoferol, fenolos vegyületek és egyes alkaloidok (Kang et al., 2002; Moumita et al., 2019).

A detoxifikálásban résztvevő antioxidáns hatású enzimek és vegyületek a sejtben belül az összes kompartmentben megtalálhatóak, mennyiségük és működésük szigorú kontroll alatt áll. Minden egyes sejttípusnak egyedi ROS profilja van, amely függ az adott szövet fejlődési stádiumától, a fennálló stressz milyenségétől és mértékétől (Choudhury et al., 2017). Abiotikus stresszhatásokra a ROS negatív hozadéka a növényi növekedés, fejlődés és termés hozam csökkenésében mutatkozik meg, pozitív következménye az akklimáció kialakulása (1. ábra) (Taiz et al., 2015). A hideg, szárazság, magas hőmérséklet, erőteljes UV fény következtében felszaporodott ROS vegyületeket többek között a GR, APX, CAT antioxidáns enzimekből álló védelmi rendszer hatástalanítja (Kang et al., 2002; Kellős et al., 2008; Huang et al. 2010).

2.5.5 Oxidatív stressz kialakulása

A növények helyhez kötött életmódjuknak köszönhetően folyamatosan ki vannak téve számos külső kedvezőtlen faktornak. A stresszorok hatása révén a reaktív oxigénformák mennyisége akár drasztikus mértékben is megnövekedhet, amit az antioxidáns védelmi rendszer már nem képes kordában tartani. Ennek súlyos következménye az oxidatív stressz, amely a prooxidánsok és antioxidánsok eltolódott arányából fakad (prooxidánsok javára). Oxidatív stressz során a sejtek biomolekuláinak károsodása történik meg, ez akár a sejtek pusztulásához is vezethet (Hu et al., 2008; Jiang et al., 2019). Az oxidatív stressz főbb indikátorait képzik a malondialdehid (MDA), a hidrogén-peroxid (H_2O_2) és a metil-glioxál (MG) vegyületek (Moumita et al., 2019). Az oxidatív stressz mértékének csökkentésében az antioxidáns

enzimek kulcsszerepet játszanak. Wang és munkatársai 2010-ben szárazság- és sóstressznek kitett uborkák vizsgálata során megállapították, hogy a tolerancia egyik jelzője az antioxidáns enzimek mennyiségének megnövekedése. Továbbá azt is megfigyelték, hogy a toleráns növényekben megnövekedett koncentrációjú abszcizinsav (ABA) membránvédő hatásának köszönhetően alacsonyabb mértékű volt a malondialdehid (MDA) tartalom is, így a lipidek károsodása nem volt számottevő.

2.6. Lipidperoxidáció

2.6.1 Lipidperoxidációs mechanizmus

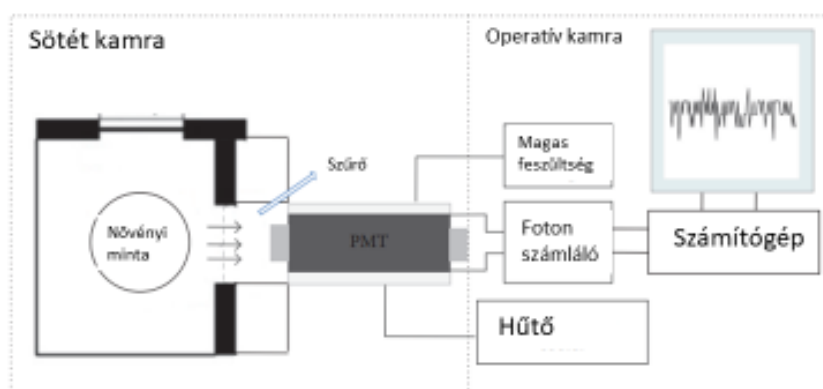
A biológiai membránok kulcsfontosságúak a sejtekben. Szerepük az irányított transzportfolyamatok lebonyolításától az anyagcsere folyamatokban történő részvételig terjed, emiatt integritásuk megőrzése rendkívül fontos a sejt számára. Felépítésükben telített és telítetlen zsírsavak, összetett lipidek, hem és flavin tartalmú vegyületek, nem utolsósorban fehérjék vesznek részt, valamint számos iont, köztük nyomelemeket is tartalmaznak. Utóbbi miatt a szabadgyökös reakcióra jóval érzékenyebbek, mint a sejt plazma. Oxidatív stressz során legkönnyebben a membránban található telítetlen zsírsavak szenvednek károsodást, szabadgyök állapotba kerülnek hidroperoxidok képződése mellett. A folyamat során keletkező instabil, aktív vegyületek a membrán működéséhez szükséges főbb biomolekulatípusokat roncsolják, ami a membrán kilyukadását okozza (Hegedűs és Stefanovicsné, 2012). A folyamatot az abiotikus stresszek hatására megnövekedett koncentrációjú ROS vegyületek indíthatják be. A lipidperoxidációs folyamatok láncreakció szerűen terjednek végig a membránon, megállításukat antioxidáns vegyületek végzik. Az így elindult lipidperoxidáció néhány jelátviteli útvonalon keresztül a génexpresszióra is nagymértékben hatással van. A nem enzimikus lipidpreoxidációs folyamatok egyik fő markere a folyamatok termékeként képződő malondialdehid (MDA) vegyület (Sattler et al., 2006).

2.6.2 A lipidperoxidáció mértékét mérő biofotonemissziós eljárás rövid összefoglalója

A sejtekben lezajló oxidatív biokémiai folyamatokat spontán ultra gyenge foton ún „biofoton” kibocsátás jellemzi (Chen et al., 2003; Gallep, 2014; Zhao et al., 2017). Maga a fotonkibocsátás „gyengének” minősül, mert rendkívül kevés foton keletkezik, ez 100-103 db részecsként jelent másodpercenként és négyzetcentiméterenként. Kellően érzékeny műszerrel (photomultiplier) azonban a kibocsátott fotonok valós időben érzékelhetők és mérhetők, ennek alapján információt nyerhetünk a sejt/szövet oxidatív állapotáról.

A lumineszcenciával járó folyamatok feltárása a 20. század első felére tehető. Az 1920-as években feltételezték, hogy a növények fejlődésének folyamatait fénykibocsátás kísérheti. Hagymákon végzett kísérleteik eredményei alapján mitogenetikus sugárzásnak nevezték el a

jelenséget. Konkrétan a biofotonok létét elsőként Colli és munkatársai mutatták ki az 1954-ben lencse és búza növények vizsgálatánál. Multiplier cső berendezést használva, 400 és 600 nm hullámhosszúságú fotonok kibocsájtását detektálták. Maga a nem-invazív eljárás az UPE nevet kapta (Ultraweak Photon Emission). A '70 es '80 as évek derekán egyre érzékenyebb kamerarendszereket dolgoztak ki, ezzel akár teljes spektrum elemzéseket lehetett elvégezni. A műszerek precízebb kidolgozása mellett azt is megfigyelték, hogy a metabolikus folyamatok közül a lipidperoxidáció során a biofoton kibocsájtás igen aktív, így a növényi stresszválasz és az oxidatív károsodás ezzel a módszerrel jól nyomon követhetővé vált. Napjainkban a jelenlegi igen érzékeny képfeldolgozó technikák segítségével pontosabb képet kaphatunk a vizsgált növényi rész metabolikus aktivitásáról, ebből kifolyólag oxidatív állapotáról. Maga a technológia a toxikológiában, agrárkutatásokban, orvostudományban is igen népszerű (Gallego et al., 2014). A spontán kibocsájtott biofotonok (SPE) hullámhossza az ultraibolya és a távoli vörös tartományok közé tehető, képződésük leginkább az oxidatív metabolikus folyamatok során zajlik. A magas hőmérséklet, fertőzések, egyéb stresszfactorok hatása és a biofotonok mennyisége között szoros összefüggés lelhető fel.



3. ábra. A biofoton emisszió detektálásához használatos műszer sematikus felépítése (Zhao, 2017 alapján).

A ROS képződése során is jelentős mennyiségű biofoton képződik a mitokondriumban, kloroplasztiszokban, peroxiszómákban és az enzimikus folyamatok révén (Zhao et al., 2017). A szinglet oxigén képződést, majd azt követően a lipidperoxidációs folyamatokat is intenzív biofoton kibocsájtás jellemzi (Chen et al., 2003). Ohya és munkatársai 2000-ben sóstressznek kitett vörös bab növények biofoton kibocsájtás mértékét nézték különböző fejlődési stádiumban, és megállapították, hogy a kibocsájtás mértéke nemcsak a stressz mértékétől, hanem az adott fejlődési stádiumtól is függ (az adott stádiumban mennyire érzékeny a növény az adott stresszre). A lipidperoxidáció mellékterméke egy aktív karbonilvegyület, a malondialdehid (MDA). A vegyület képződését a szinglet oxigénhez

hasonlóan szintén autolumineszcenciás változások kísérik, amelyet az erre kifejlesztett speciális és érzékeny kamerarendszer a CCD (charge-coupled device) érzékeli. A rendszer képes a termikus zajok kiszűrésére (hűtésre egy termoelektromos modul használható), így a spontán kibocsájtott fotonok mennyiségéről jóval pontosabb értéket kaphatunk, mint a korábban alkalmazott multiplier csövek esetében (3. ábra). A növénytudományban elsőként a csírázó magvak vizsgálatára használták, később már leveleken és egyéb szöveteken is alkalmaztak ilyen kamerákat. Az így készített felvételekről mennyiségi és minőségi analízis egyaránt kivitelezhető. Segítségükkel bármely stressz által kiváltott oxidatív károsodás még jóval a látható tünetek megjelenése előtt kimutathatóvá válik (Hawaux, 2006).

2.7 Ozmotikus stressz

A szárazföldi növényeket számos kedvezőtlen külső környezeti hatás érheti, amely során a növekedés és a reprodukció jelentősen gátolt. A stresszhatások közül kiemelendő az ozmotikus stressz, amit sóstressz és vízhiányos állapot is egyaránt előidézhethet (Abu Romman et al., 2012). Az ozmotikus stressz a sejtek vízháztartásának felborulása. Az ozmotikus egyensúly fenntartása rendkívül fontos komponense a szárazságtoleranciának (Gonzáles et al., 2008). Az egyensúly fenntartásának egyik módja az ozmotikus alkalmazkodás (osmotic adjustment, OA). Ennek kialakulását a növényi sejt citoplazmájában lévő ozmolitok (betain, prolin, cukrok stb) felhalmozódása teszi lehetővé. E tekintetben jelentős különbség lehet fajok és fajták között (Bajji et al., 2001). Gonzáles és munkatársai 2008-ban 12 db árpa fajtán (*Hordeum vulgare L.*) végzett kísérleteiben megállapította, hogy szárazság esetén az OA hatására csökken a sejtek vízpotenciálja. Így maga az alkalmazkodás a vízháztartás egyensúlyának javításán keresztül pozitívan befolyásolja a terméshozamot.

Az ozmotikus stresszre történő növényi válasz komplex folyamat, történhet morfológiai, anatómia és sejt szinten egyaránt. Stressz hatására számos gén expressziója megnő, vagy gátlódik (LEA [késői embriogenezis late embryogenezis abundant] fehérjéket kódoló gének, ozmolitok bioszintézisében szereplő enzimek génjei, transzporterek génjei stb), ezeket összefoglaló néven ozmotikus stressz által szabályozott (osmotic stress regulated OR) géneknek nevezik. Az ozmotikus stresszel szembeni tolerancia az OR gének segítségével alakul ki (Zhu et al., 1997). A növényi hormonok, többek között az abszcizinsav (ABA) kulcsszerepet játszik a stresszekkel szembeni válasz kialakulásában. ABA többek között a növényi sejtek dehidrációs állapota esetén termelődik, hatására jelátviteli útvonalak aktiválódnak, melyeket összefoglaló néven ABA függő útvonalaknak hívjuk (ABA dependent pathways). Az ozmotikus stressz fellépése tehát ABA indukciót okoz, ennek hatására a tolerancia kialakulását segítő gének kifejeződése is serkentődik (Fujita et al., 2011).

2.8 Növekedési paraméterek és a stressztolerancia kapcsolata

A fotoszintézis során képződő asszimilátumok gyarapodásával válik lehetővé a növekedés, maga a folyamat ozmotikus stressz, vízhiány vagy talajszárazság esetén károsodhat. Az asszimiláció csökkenésével arányosan visszaesik a növény növekedése, mely termés kieséshez vezethet. A stresszeknek ellenállóbb fajták képesek védeni a fotoszintetikus apparátusukat a káros hatásokkal szemben, ezáltal nagyobb biomassza termelésre képesek, fenntartva ezzel a normál növekedést (Nowicka et al., 2018). Az optimális tápanyagellátottság fontos a fotoszintézis hatékonyságához. A nitrogén tartalom a növekedéshez, fejlődéshez szükséges, a fotoszintézisben résztvevő klorofill molekulákba is beépül. Továbbá a magnézium, mint a komplexben elhelyezkedő központi atom, is szükséges a klorofillok szintéziséhez. A kalcium ionok pozitívan befolyásolják a magnézium ionok felvételét. Ennek tükrében elmondható, hogy a fotoszintézis aktivitásának fenntartása megfelelő tápanyagellátottság mellett valósulhat meg (Li és Cheng, 2015).

A növények növekedésében történő mennyiségi változások könnyen mérhetőek, növények esetében levélfelület növekedés, tömegváltozás, szármegnyúlás, hajtásmegnyúlás, hipokotil megnyúlás alapján jól nyomon követhető. Maga a növekedési folyamat hormonális és külső tényezők által befolyásolt. A növekedés alapjául szolgáló fotoszintézis aktivitást is lehet jellemezni. Az élettani paraméterek segítségével az abiotikus stresszek hatásaira, valamint a természetben vont fajták eltérő stressztoleranciájára is következtethetünk. A stresszekkel szembeni tolerancia kulcsfontosságú a termésprodukciónak, ez több paraméterben is megmutatkozhat, egyik közülük a fotoszintézis hatékonyságát jelző fotoszintetikus aktivitás (Ördög és Molnár, 2011).

Továbbá az élettani paraméterek közötti összefüggések is fontosak lehetnek az adott fajta jellemzésekor. Számos kísérlet irányul a fotoszintetikus aktivitás és a levélfelület közötti kapcsolatra. Kukorica növények esetében a kettő pozitív kapcsolata kimutatható, a megvilágításnak kitett felülettel növekszik a szerves anyagok asszimilációjának mértéke (Futó, 2003). Szintén kukorica növényeken végzett kísérletek a tápanyagellátottság és a fotoszintetikus aktivitás közötti összefüggésre irányultak. A jobb tápanyagellátottság fokozottabb asszimilációt eredményezett, azonban a tápanyagok túlzott jelenléte már ellentétes hatású volt, valószínűleg a kialakuló vízhiány miatti gázcsere nyílás záródás miatt (El Hallof és Sárvári, 2006). Őszi búza és kukorica összehasonlító vizsgálataiból kiderült, hogy ökológiai és agrotechnológiai tényezők nagymértékben felelősek a termés mennyiség változásáért. Nagyobb levélfelület, magasabb klorofilltartalom jelentősebb fotoszintetikus aktivitást eredményezhet, így a tápanyagok asszimilációja is hatékonyabb, jobb minőségű termést eredményezve (Vári, 2014). Uborka esetében Sui és munkatársai 2017-ben a termés

és a fotoszintézis hatékonysága közötti kapcsolatot vizsgálták többek között klorofill fluoreszcencia mérésekkel két uborkafajtánál. Szoros összefüggést mutattak ki a termésképzés és a levelek fotoszintetikus aktivitása között.

3. Az abszcizinsav (ABA)

3.1 Növényi hormonok általános bemutatása

A növényi hormonok általában olyan szerves vegyületek, amelyek alacsony koncentrációban a növények fejlődését és növekedését szabályozzák, valamint összehangolják a növény működését a különböző külső környezeti tényezők változásaival. Jelátviteli útvonalakat aktiválnak (Davies 2010; Oka et al., 2012; Sytar et al., 2019), amik segítségével befolyásolják a növények akklimációs folyamatait biotikus és abiotikus stresszhatások fellépésekor (Choudhury et al., 2017). Hatásuk széles spektrumot ölel fel, többek között megváltoztathatják a sejtmembránok permeabilitását, az enzimek aktivitását, az elsődleges és másodlagos anyagcseretermékek mennyiségét (Sytar et al., 2019). Klasszikus növényi hormonoknak tekinthetők a gibberellinek (GA), auxin, citokininek, az abszcizinsav (ABA), a brassinoszteroidok (BR) és az etilén. Ezek mellett több, újabban leírt növényi hormon is ismert, például a jázmonsav (JA). Dolgozatomban az abszcizinsav (ABA) hatásmechanizmusai kerülnek részletesebb jellemzésre.

3.2 Az abszcizinsav (ABA)

3.2.1 Általános jellemzők

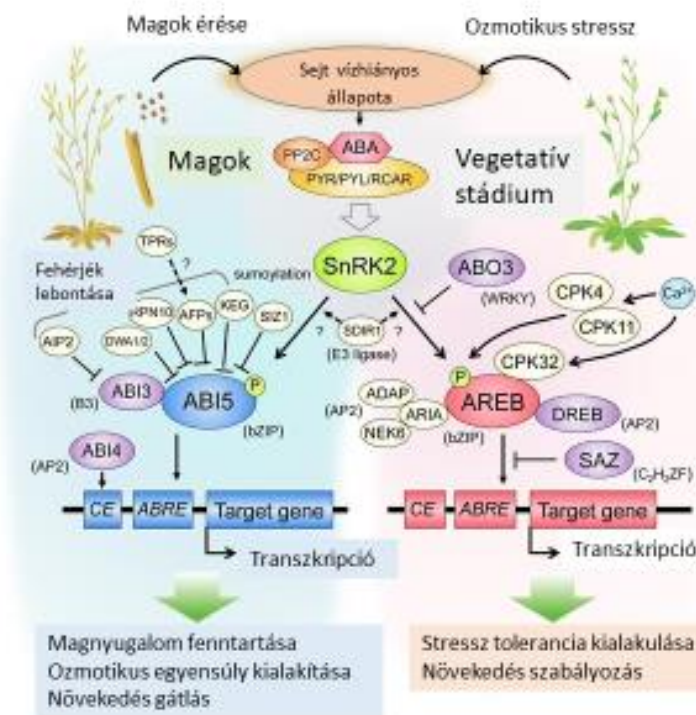
Az ABA a szeszkviterpenoid vegyületek közé tartozó növényi hormon, a növekedésben, fejlődésben és a stresszekre adott válaszok kialakulásában van kulcsszerepe. Az 1960-as években fedezték fel, szerepét a levélhulláshoz társították, neve innen származtatható. Megemlítendő, hogy újabb ismereteink szerint a virágok, levelek hullásában nincs közvetlen szerepe, leginkább az öregedési folyamatok és a stresszek miatt történő levélhullásban játszik szerepet (Wang et al., 2013). A magasabbendű növényekben, néhány baktérium és növényeket fertőző gombafajban is egyaránt megtalálható. Bioszintézise karotinoid vegyületekből a plasztiszokban kezdődik (epoxidáció, oxidatív hasadás), majd az így képződött xantoxin abszcizinsavvá történő átalakulása a citoszolban zajlik le (oxidáció). A plasztiszban történő lépéseknél a zeaxantin violaxantinná való átalakulást a zeaxantin epoxidáz (ZEP) enzim katalizálja, erős megvilágítás hatására az enzim mennyisége megnő, ez a violaxantin ciklushoz is köthető. Ezt követően a 9-cisz-epoxikarotin dioxigenáz (NCED) hatására xantoxin keletkezik, amely abszcizinaldehiddé alakul. Befejező lépésként az abszcizin-aldehid oxidáz (AAO) enzim abszcizinsavvá alakítja. A bioszintézis út összes enzime, de különösen az utolsó két résztvevő stresszek esetében jelentősen indukálódik, szerepük a tolerancia kialakulásában jelentős (Finkelstein, 2013).

A magasabb ABA szint egyik jól ismert ozmotikum, a prolin felhalmozódását is előidézheti a magas hőmérséklet és a sóstressz fennállásakor a növényi szövetekben (Talanova et al., 2006). Továbbá a gyökerekben megváltozott génexpressziót eredményezhet, így olyan gének lépnek működésbe, amelyek valószínűleg hozzájárulnak a gyökér sejteinek stresszel szembeni molekuláris védelmi mechanizmusaihoz (Chen és Plant, 1999). Az ABA-nak jelentős szerepe van a növényi fejlődésben és a stresszválasz kialakulásában, például a gázcsereenyíások működésében (Choudhury et al., 2017). Az ABA megvilágítástól függetlenül gátolja a hipokotil megnyúlását (Lorrai et al., 2018). Víziányos állapotban a növények levelében és a gyökérzetében az ABA szint drámaian megemelkedik, ez is azt támasztja alá, hogy a stresszválaszban és akklimációban kiemelt szerepe van ennek a hormonnak (Holappa and Blum 1991). A párologtató hajtásfelszíneken víziány esetén a gázcsereenyíások záródnak, így a vízvesztés mértéke csökken, ellenben ugyanekkor a szén-dioxid felvétel gátlódik, utóbbi a fotoszintézis csökkenését okozhatja. A gázcsereenyíások záródásnak folyamatában az ABA hatására ROS molekulák képződnek (szuperoxid, H₂O₂) (Choudhury et al., 2017).

Az ABA transzportja a gyökerek felől a xilémbe, a levelek felől a floémbe történik. Legfőbb hatása a víziány fellépését követően a gázcsereenyíások záródása (Wang et al., 2013), és a hajtásnövekedés gátlása, továbbá a magok nyugalmi állapotának fenntartásáért felelős (Davies, 2010). Indukcióját az ozmotikus stressz indítja be, az így megemelkedett ABA koncentráció számos, a sejtek dehidrációja elleni védelembe bevonható gén (RAB: responsive to ABA génjei) termelődését idézi elő (Shakirova et al., 2016).

3.2.2 Az abszcizinsav hatására indukálódó gének

A sejtek víziányos állapotát több hatás is kialakíthatja. Ezek közül kiemelendő a magok csírázását megelőző állapot és a vegetatív növekedés alatt fellépő ozmotikus stressz. Mindkét folyamatban jelentős szerepet játszanak az ABA indukált gének. Kifejeződésük mértékét közvetlenül transzkripciós faktorok sokasága szabályozza, melyek a gének promóterének cisz elemeihez (ABRE ABA responsive elements) kapcsolódnak. Lúdfüben (*Arabidopsis thaliana*) Fujita és munkatársai 2011-ben két főbb RAB géncsoportot talált, amelyek a magok érésénél indukálódnak és a vegetatív stádiumban expresszálódnak (4. ábra). A lehetséges géntermékek: LEA fehérjék, szabályozó fehérjék, protein kinázok és foszfatázok, transzporterek sokasága, ozmoprotektáns metabolitok képződését katalizáló enzimek, zsírsav metabolizmusban, szénhidrát anyagcserében, valamint másodlagos anyagcserében résztvevő enzimek. A legtöbb gén kifejeződésének mértéke napi ritmust mutat, ez arra is utal, hogy egy cirkadián óra segíti a növényt a vízellátottság napszakos ingadozáshoz történő alkalmazkodásban (Fujita et al., 2011).



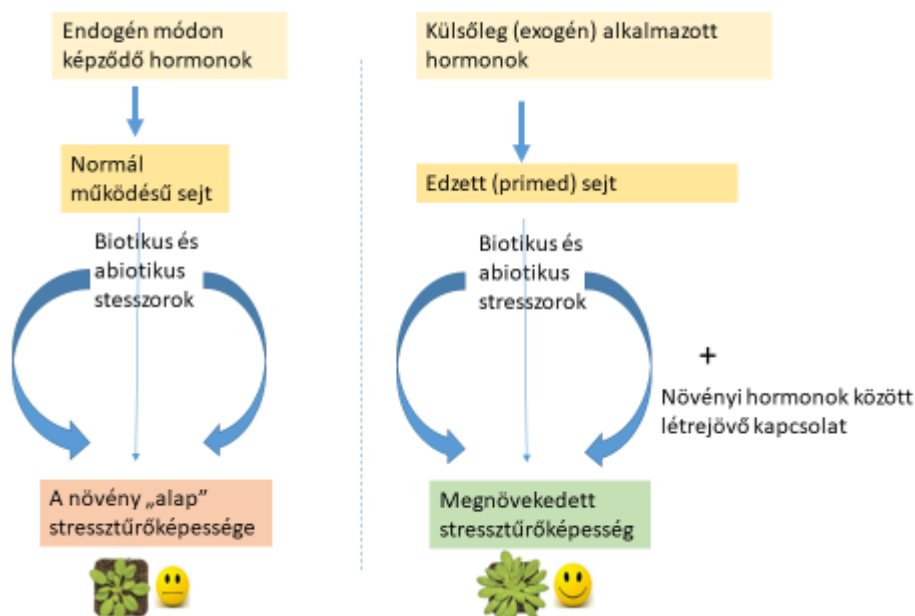
4. ábra. A magok csírázása és a vegetatív stádiumban fellépő ozmotikus stressz miatt kialakuló vízhiányos állapot a sejtekben ABA termelődését váltja ki. Az ABA az ABRE függő gének expresszióját serkenti (Fujita et al., 2011 alapján).

Az abszcizinsav a nehézfémek okozta stressz esetén is indukálódik, megnövekedett mennyisége nehezíti a fémionok transzportját a növényben (Allagulova et al., 2015). Ráadásul szoros kapcsolat lelhető fel az ABA szint és a levelek szenescenciája között. Az ABA szint emelkedés klorofill degradációval jár együtt. Ellenben megfigyelhető olykor, hogy az ABA szerepet játszik a klorofill akkumulációban, pl. nitrogénhiány fennállásakor. Mi több, az ABA nitrogénhiány esetén a növény öregedésnek gátlásában is részt vesz a klorofill szintézisben szerepet játszó enzimek génjei aktiválásán keresztül, így a túlélést segítve (Oka et al., 2012). Az ABA vízhiányos állapotban a fellépő dehidráció káros hatásaitól a membránstruktúrát is védi, valamint a fotoszintetikus apparátusban bekövetkező fotoinhibíciót is segít megelőzni (Wang et al., 2010a).

3.3 Külsőleg alkalmazott abszcizinsav (ABA) hatása

3.3.1 Külsőleg alkalmazott növényi hormonok hatásai

Számos hormon külső alkalmazása segítheti a növényt a stresszek elleni védelemben. Mindamellet magya az eljárás intenzív kertészeti kultúrákban költséghatékony és környezetkímélő lehet. Egyes ilyen kezelések csökkenthetik a ROS mennyiségét, ezáltal a lipidperoxidációt is, így stimulálják a növekedést (5. ábra) (Sytar et al., 2019).



5. ábra. Külsőleg alkalmazott növényi hormonok tolerancianövelő hatásai (Sytar et al., 2019 alapján).

Xue és munkatársai 2019-ben megfigyelték, hogy külsőleg alkalmazott gibberelin (GA_3) hatására néhány uborkafajtánál a trichómák száma megnövekedett, azonban ez a magasabb hormon koncentráció alkalmazása során már nem történt meg. Ugyanezt a hormont alkalmazta Moumita és munkatársai 2019-ben szárazságstressznek kitett tavaszi búza (*Triticum aestivum L.*) esetében, amely során megállapították, hogy a kezelt növények növekedése erőteljesebb volt, az oxidatív károsodás viszont csökkent a kontrollhoz képest. Gibberellinrel történő kezeléssel a gyümölcsök növekedését lehet serkenteni, valamint egyes fajokban a virágok nemét befolyásolni. Citokininnel és auxinnal kezelt szövettenyészeteknél a sejtosztódás indukcióját figyelték meg, továbbá ezek a hormonok elősegítik a kloroplasztizok kialakulását etioplasztiztból (Davies, 2010). A külsőleg alkalmazott BR már kis mennyiségben is fokozhatja a stresszek elleni toleranciát (Allagulova et al., 2015). Transzkriptom és proteomikai analízisek utaltak a dehidrin (DHN) családba tartozó védőfehérjék és a 24-epibrassinoid (EBR) közötti összefüggésre, a szárazságnak, sóstressznek és hidegnek kitett növények esetében. Feltehetőleg a BR hasonlóan indukáló hatású a dehidrinekre, mint az ABA (Allagulova et al., 2007). Ezt a tényt megerősítik Shakirova és munkatársai 2016-ban végzett kísérletei, melyek során mannitollal kezelt búzában külsőleg alkalmazott EBR hatására vizsgálták a DHN gének indukcióját, oly módon, hogy a keletkező ABA-t blokkolták. A kis molekulatömegű DHN-k jelentős akkumulációja volt megfigyelhető a külsőleg alkalmazott EBR hatására. Allagulova és munkatársai 2015-

ben a nehézfémstressz és külsőleg alkalmazott EBR hatására megnövekedett DHN szintet találtak, szintén búza esetében.

3.3.2 Abszcizinsav (ABA) külsőleg történő alkalmazása

Az ABA elősegíti a stresszek elleni adaptív válasz kialakulását a növényekben. Hatása függ az aktív hormon mennyiségétől a célszövetben, valamint annak abszcizinsav érzékenységtől (Lorrai et al., 2018). Az ABA endogén módon történő termelődése végigkíséri a növény vízhiányos állapotát, valamint a magok érését (Fujita et al., 2011). A szárazságstressz elleni tolerancia és az abszcizinsav érzékenység között szoros összefüggés van (Deák et al., 2017). Fentiek alapján a külsőleg alkalmazott ABA hatására várható a tolerancia növekedése a kedvezőtlen körülményeknek kitett növények esetében, valamint stressz nélkül is kiváltható a sejtek dehidrációját követő válaszreakció (Fujita et al., 2011). A külsőleg alkalmazott ABA a H₂O₂ szint átmeneti megnövekedését idézi elő, amely elősegíti a magasabb só, hőmérséklet, valamint fénystressz elleni toleranciát a növényekben (Xia et al., 2009), továbbá növeli a növény hideggel szembeni ellenállóképességét például uborka magok esetében (Wang et al., 2010). Wang és kutatócsoportja 2013-ban uborkánál megfigyelték, hogy a termés érésekor az abszcizinsav mennyisége megnőtt, és úgy találták, hogy ezt a folyamatot öt gén (*CsNCED*, *CsCYP707A* és *CsBG* gének) szabályozza. Szintén uborkában Zhou és munkatársai 2018-ban kimutatták, hogy külsőleg alkalmazott ABA kezelés hatására a *DHN* gének expressziója indukálódott. Az uborka négy *DHN* génjéből csak három mutatott erőteljes kifejeződést (*CsDHN3*, *CsDHN4* *CsDHN2*), a *CsDHN1* nem, vélhetőleg ez utóbbi pszeudogén lehet. Kukoricában az ABA hormon alkalmazása a H₂O₂ szint növekedést idézte elő (Kellős et al., 2008).

4. A LEA fehérjék és a dehidrinek

4.1 A LEA fehérjék általános bemutatása

A növények fejlődésük során gyakran ki vannak téve abiotikus stresszeknek, melyek hatása sok esetben a sejtekben kialakuló dehidratáció. A kedvezőtlen hatásokkal szembeni toleranciáért gének sokasága felelős. Számos stressztoleranciát segítő gént ismerünk, közülük kiemelendő a LEA fehérjéket kódoló gének. A LEA család protektív, hidrofil fehérjéket magába foglaló csoport. Ezek a fehérjék a magfejlődés bizonyos szakaszaiban vagy stresszhatásokra, főként vízhiányos állapotban akkumulálódnak (Hanin et al., 2011; Farias-Soares, 2013; Azarkovich et al., 2016; Yu et al., 2018). Altunoglu és munkatársai 2016-ban uborkában 79 db LEA gént találtak, amelyek hét kromoszómán voltak lokalizálva. Közel 70%-uk tandem duplikációval jött létre. Rendezetlen struktúrájú fehérjék, az ismétlődő motívumaik alapján csoportosíthatók alsaládokra, elsőként a gyapot magjaiban, a fejlődő embrió szöveiteiből izolálták azokat, feladatukat a korai egyedfejlődéshez tartozó

folyamatokhoz társították (Brini et al., 2007; Hanin et al., 2011; Farias-Soares, 2013; Yu et al., 2018). Mostani tudásunk szerint a kifejlett növény összes szövetében megtalálhatóak (Altunoglu, 2016). Feladatuk általában a stresszek elleni védelemben például a sejt membránjainak stabilizációjában van. Ion kelátorként, hidratációs pufferként és antioxidánsként is működhetnek, többféleképpen is elősegítve a stressztolerancia kialakulását. Sejten belül a citoplazmában, sejtmagban, mitokondriumokban és az endoplazmatikus retikulumban fordulhatnak elő (Brini et al., 2007; Yu et al., 2018; Nagaraju et al., 2019). Az ismétlődő aminosav szekvencia motívumaik alapján hét csoportra (LEA1, LEA2, LEA3, LEA4, LEA5, DHNs, SMP) bonthatók (Altunoglu, 2016). Ezek közül részletesebben a dehidrin fehérjéket tárgyaljuk.

4.2 A LEA fehérjék egyik csoportja: a dehidrinek (*DHN*)

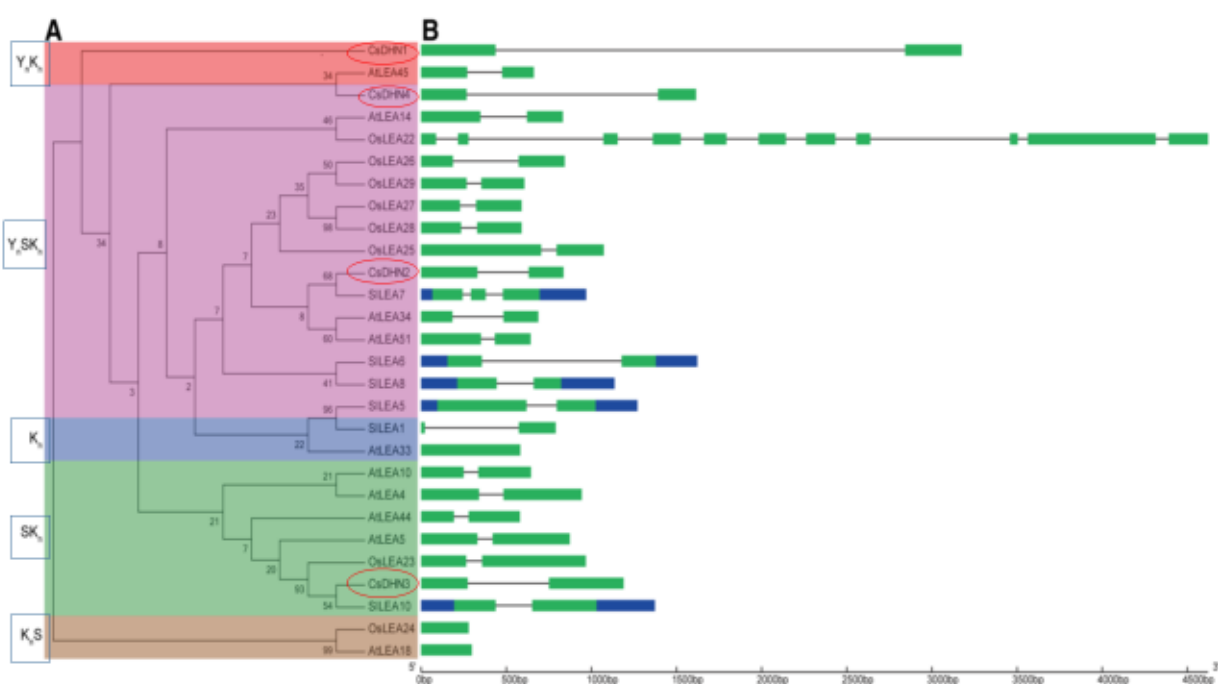
4.2.1 A dehidrinek általános jellemzői és a szövetekben, sejten belüli elhelyezkedése

A LEA fehérjék egyik csoportját a dehidrinek (*DHN*) alkotják, amelyek főként a sejtek vízhiányos állapotában akkumulálódnak (Kosová et al., 2014; Greather és Boddington, 2014; Azarkovich et al., 2016). A dehidrinek hidrophil, hőstabil stresszfehérjék (Maryan et al., 2019), melyek a LEA fehérje család II (LEA-D11) csoportjában sorolhatók (Allagulova, 2007; Brini et al., 2007; Hanin et al., 2011; Greather és Boddington, 2014; Yu et al., 2018). Kis méretűek, molekulatömegük mintegy 10-200 kDa, térszerkezetük rendezetlen. Szárazság, hő, sóstressz esetén, valamint néhány növényi hormon hatására közvetlenül is indukálódnak a növényekben, nagyobb stressztoleranciát eredményezve (Allagulova, 2007; Yu et al., 2018). A citoszolban fehérjetestekben és a sejtmagban a kromatinállománnyal asszociált állapotban is megtalálhatóak (Farias-Soares, 2013). Néhány faj genomjában a géncsalád feltehetőleg tandem génduplikációval terjedt szét (6. ábra; Maryan et al., 2019). A *DHN* gének a szárazföldi növények többségében jelen vannak (Lee et al., 2017), az evolúció során már az algákban és mohákban is megjelentek (Greather és Boddington, 2014). A szárazságtoleráns árpaiban 13, a közöséges búzában 54 dehidrin gént izoláltak. Uborkában négy *DHN* fehérjét kódoló gén található, ezek a *CsDHN1*, *CsDHN2*, *CsDHN3*, *CsDHN4* (Kosová et al., 2014; Zhou et al., 2018), amelyek a sejteken belül különböző kompartmentekben lokalizáltak. Termelődésüket a sejtek vízhiányos állapota indukálja (Hanin et al., 2011; Lee et al., 2017; Abedini et al., 2017; Yu et al., 2018).

4.2.3 A dehidrinek szerkezete és főbb feladatai

Nagyobb stressztoleranciával rendelkező genotípusok stresszhelyzetben erélyesebb *DHN* transzkripciót és fehérje felhalmozódást mutatnak (Kosová et al., 2014). A *DHN*-ek stresszvédő szerepük során a malát-dehidrogenáz és a laktát dehidrogenáz enzimek, nukleotid vegyületek védelmét is biztosítják, valamint a lipidperoxidációs folyamatok gátlását is segítik

(Yu et al., 2018; Maryan et al., 2019). A DHN fehérjékre jellemző a poláros és töltött aminosavak nagy számban való jelenléte és a rendezetlen szerkezetű, konzervált K, Y, S szegmensek (Greather és Boddington, 2014). A K szegmens, a C terminálshoz közeli, amfipatikus, alfa hélix szerkezetű, lizin aminosavban gazdag szakasz, melynek a fehérjék és a membránstruktúra stabilizálásában (lipidperoxidáció elleni védelem) és a citoszól víztartalmának megőrzésében van szerepe (Allagulova et al., 2007; Hanin et al., 2011; Abedini et al., 2017; Yu et al., 2018). K szegmensre specifikus antitestek segítségével a dehidrin fehérjék szétválasztása is megtörténhet. Az S szegmens a dehidrin fehérjék és a szignál peptidek interakcióját biztosítja, a setmagba történő transzlokációt segíti elő, szerin aminosavban gazdag (Abedini et al., 2017). Az Y szegmens az N terminális közelében helyezkedik el (Azarkovich et al., 2016; Yu et al., 2018), nevét onnan kapta, hogy tirozin aminosavban gazdag. A fent felsorolt konzervált szegmensek mellett megemlítendő a ϕ -szegmens, amely a kiszáradástól védi a sejteket (Greather és Boddington 2014).



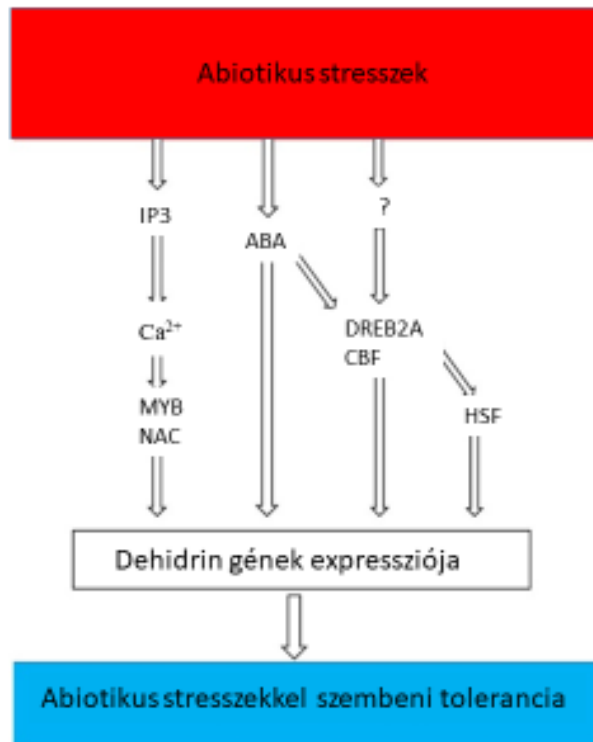
6. ábra. Uborkában található dehidrinek filogenetikai kapcsolata más fajokéval (rizs, lúdfű, burgonya) azz uborkában található *CsDHN3*, *CsDHN2*, *CsDHN4* jelölve az ábrán (Zhou et al., 2018 alapján).

Az Y, S és K szegmensek előfordulása, mintázata alapján a DHN fehérjék között öt alcsoport különíthető el: YnSKn, YnKn, SKn, Kn és KnS (Abedini et al., 2017) a különböző növényfajokban található dehidrin csoportok filogenetikai kapcsolatát a 6. ábra szemlélteti. Az ABA hormon az YnSK2 alcsoport (RAB responsive to ABA) tagjainak szintézisét bizonyítottan indukálja (Hanin et al., 2011; Yu et al., 2018; Maryan et al., 2019). A DHN

fehérjék térszerkezete rendezetlen, aktuális konformációjuk az őket körülvevő mikrokörnyezet hatására jön létre, így funkciójuk ennek tükrében változhat. Egyik előnye a rendezetlen szerkezetnek, hogy ezek a fehérjék kedvezőtlen feltételek ellenére sem denaturálódnak (Greather és Boddington, 2014). Mennyiségük és a stressztolerancia között fennálló pozitív összefüggés miatt utóbbi molekuláris markerének tekinthetők (Hanin et al., 2011). Szerepüket bizonyítják Jing és munkatársai 2016-ban kísérletei is, melyek szerint paprikában a *CaDHN3* gén csendesítése csökkent toleranciát okozott. A dehidrinek interakcióban lépnek membrán lipidekkel (Greather és Boddington, 2014), fémionokkal (ezek katalizátorai lehetnek a ROS képződésnek), egyéb fehérjékkel, így szerkezetük rendezetté válik (Yu et al., 2018). Mindamelllett a stresszhatásokra képződő ROS eltávolításában is van szerepük, némelyüknek antibakteriális hatása is lehet (Hanin et al., 2011). A dehidrinek kifejeződése az abiotikus stressz faktorok hatására több jelátviteli úton, transzkripciós faktorok közreműködésével is aktiválódhat (7. ábra), erélyesebb stressztoleranciát eredményezve (Yu et al., 2018).

4.3 Az abszcizinsav és a dehidrinek kapcsolata

A stresszhatásra indukálódó, vagy külsőleg alkalmazott abszcizinsav dehidrin fehérjék termelődését idézi elő. Az ABA érzékenységet az ABRE cisz elem jelenléte adja a *DHN* gének promóterében. A *DHN* gének indukciója lehet ABA független is, amelyet a CRT (C-repeat) és a DRE (dehydration response element) promóter régiók jelenléte tesz lehetővé (7. ábra) (Lee et al., 2017). Utóbbi indukciós utat a szárazság, magas hőmérséklet és só stressz válthatja ki (Allagulova et al., 2007; Shakirova et al., 2016).



7. ábra. A dehidrin gének kifejeződéséhez kapcsolható jelátviteli komponensek interakciói az abiotikus stressztolerancia kialakulásában. A kedvezőtlen körülmények hatására kialakuló ozmotikus stressz az inozitol 1,4,5 trifoszfát termelődését fokozza, ez a citoszól Ca^{2+} ion koncentrációjának emelkedését váltja ki. Ez a mitogén aktivált kinázok (MAPK) aktiválásán keresztül a dehidrin gének transzkripciós faktorainak (*CBF/DRE*, *MYC/MYB*) indukcióját idézi elő, utóbbiak a *DHN* gének promóteréhez kötődve fokozzák azok átírását. CBF: C repeat kötő fehérje (C repeat binding factor); DRE: szárazság stressz során termelődő transzkripciós faktorok (drought responsive element); MYC/MYB: Myelocytomatosis /Myeloblastosis transzkripciós faktorok családja (Yu et al., 2018 alapján).

ANYAG ÉS MÓDSZER

1. A kísérletekhez felhasznált növényi anyag

A kísérletekhez három szabadföldi ('Joker', 'Szatmár', 'Szenzáció') és három üvegházi ('Prior', 'Oitol', 'Americana') uborkafajtákkal dolgoztunk, a használt vetőmagok származási helyéről az 1. táblázatban található információ.

1. táblázat. A kísérletekben felhasznált vetőmagok forrásai.

Uborkafajták neve	Forgalmazó cég/Ország
Szatmár	ZKI Ltd., Hungary
Szenzáció	Budapest Gardenseed Ltd, Hungary
Joker	ZKI Ltd., Hungary
Americana	Orosco Co., Hungary
Oitol	Semillas Fito Co., Spain
Prior	Semillas Fito Co., Spain

1.1 A kísérletekbe bevont fajták jellemzése

1.1.1 Szabadföldi fajták:

Alacsonyabb termésprodukción jellemzi őket, hőmérsékletigényük 20-30 °C fok (Dhakal et al., 2019), a meleg, csapadékos klímát kedvelik (Smitha és Sunil, 2016). Tápanyag és vízigényük magas, tápanyaghiány esetén silány minőségű termést hoznak (Muslat és Alrahman, 2018). A szabadföldi fajtákat főleg sík rendszeres technológiával termesztik, termésük rövid, szemölcsös vagy tüskés, a termés jelentős hányadát a konzervipar hasznosítja (Ackerl et al. 2004; Glits et al. 2005).

Szenzáció: Főleg szabadföldi termesztésre ajánlott, hosszú tenyészidejű, erős növekedésű salátauborka fajta, vegyesen egyivarú és kétivarú/hermafrodita virágokkal. Termése hosszú sötétzöld, fehér tüskés (Zöldség-, fűszer- és gyógynövény termékkatalógus, 2012, Réde).

Szatmár: Partenokarp típusú, középkorai konzervuborka hibrid, erős növekedési eréllyel. Sík és támrendszeres termesztésre egyaránt ajánlott, lisztharmattal, kladosporiumos mézgás

varasodással, peronoszpórával és uborkamozai vírusokkal szemben ellenálló képessége jó. Termése sötétzöld, aprótüskés (<http://zki.hu/uborkak/>, 2018.04.05).

Joker: erős növekedési erélyű, középérésű salátauborka fajta. Sík és támrendszeres termesztésre egyaránt ajánlott. Túlnyomórészt nővirágú tradicionális fajta. Erősen ellenálló lisztharmattal és kladosporiumos mézgás varasodással szemben, közepesen ellenálló peronoszpórával és uborkamozai vírusokkal szemben. Termése rövid, apró, fehér tüskés (Zöldség-, fűszer- és gyógynövény termékkatalógus, 2012, Réde).

1.1.2 Üvegházi fajták

Az üvegházi fajták termése jellemzően hosszú, kígyóuborka, ennek nyersen történő fogyasztása a jellemző (Ackler et al 2004; Glits et al 2005). Az üvegházi uborkafajták vízigénye nagyobb, gyorsabb növekedésűek, mint a szabadföldiek. Nagyobb tápanyagigénnyel rendelkeznek, gyors növekedésük miatt produktivitásuk nagyobb, mint a szabadföldön hajatottaké (Singh et al., 2017). A termések mérete és tömege függ a megfelelő tápanyag és vízellátottságtól (Wang et al., 2019).

Prior: erős növekedésű, nagy lombot fejlesztő fajta, mely enyhe lisztharmat ellenállósággal rendelkezik. Termése hosszú, sötétzöld, enyhén bordázott. Főleg támrendszeres termesztésre ajánlott (www.szentesimag.hu, 2018.04.05).

Americana: korai érésű, középérésű, gyors növekedésű, nyitott lombú fajta. Termése hosszú, enyhén bordázott, sötétzöld (www.szentesimag.hu, 2018.04.05).

Oitol: erős növekedésű, főleg támrendszeres termesztésre ajánlott. Lisztharmattal szemben erősen ellenálló. Termései sötétzöldek, bordázottak. stressztűrése kiemelkedő (www.szentesimag.hu, 2018.04.05).

2. A kísérletekhez fehasznált termesztési közeg és a palántanevelés körülményei

2.1 Tőzegkeverékben történő vetés

Fajtánként 10 magot, 10 cm átmérőjű cserepekben vetettünk el, egy palántaneveléshez is használatos tőzegkeverékbe (Kekkilä tőzegkeverék, 70% barna, 30%-os Sphagnum-moha tőzeg, $1,5 \text{ kg} \times \text{m}^{-3}$ Multi mix műtrágya (14-16-18+Me)). Ezt követően a nevelési idő alatt a palántákat három naponta locsoltuk cserepenként 200 ml csapvízzel. Nevelésük kontrollált körülmények között folyt, 28 napon keresztül Conviron fitotronban (Model S10H, Controlled Environments Ltd, Canada), $25 \text{ }^\circ\text{C}$ -on/sötét: $21 \text{ }^\circ\text{C}$, 55-60 % relatív páratartalom, $150 \mu\text{mol} \times \text{m}^{-2} \times \text{s}^{-1}$ fotoszintetikus fotonáram alkalmazása mellett (16 óra fény/ 8 óra sötét).

2.2 Perlitben történő vetés

Fajtánként négy - négy magot 12 cm átmérőjű perlittel megtöltött cserepekbe vetettünk el. A vetést megelőzően, a csírázás elősegítésére a magokat előáztattuk desztillált vízben 24 órán keresztül 25 °C-on. Általában az uborkamagok csírázása három napot vesz igénybe kevés fény mellett, (Kappel, 2011), ezért a vetést követően két napig sötétben inkubáltuk azokat. Ezt követően hosszú nappalos megvilágítás (16 óra fény/8 óra sötét, fotoszintetikus fotonáram: $150 \mu\text{mol}\times\text{m}^{-2}\times\text{s}^{-1}$) 25 °C/ sötét 21°C., 55-60 % relatív páratartalom mellett fényszobában neveltük őket 21 napig. A palánták öntözése cserepenként 200-250 ml desztillált vízzel történt kétnaponta.

2.3 Perlitben és kőzetgyapot kockában történő vetés

Fajtánként négy magot 20 cm átmérőjű cserepekben kb 120 g perlittel körülbélelt $7,5\times 7,5\times 6,5$ cm es kőzetgyapot kockába (Grodan, Netherlands) vetettünk el. Továbbiakban a 2.2 fejezetben foglaltak szerint jártunk el.

2.4 *In vitro* növénynevelés az ABA érzékenység vizsgálatához

Fajtánként 15-15 magot, szűrőpapírral bélelt 18 cm átmérőjű Petri-csészékbe vetettünk, majd 20 ml mock oldatot adtunk a kontroll, illetve 20 ml 5 μM koncentrációjú abszcizinsav oldatot adtunk az ABA kezelt növényekhez (az oldatok elkészítése lásd 3.3 fejezet). A növények nevelése 7 napon át hosszú nappalos megvilágítás (16 óra fény/8 óra sötét, fotoszintetikus fotonáram: $150 \mu\text{mol}\times\text{m}^{-2}\times\text{s}^{-1}$), 25 °C/ sötét 21°C, 55-60 % relatív páratartalom mellett fényszobában történt meg. A növények kezelése két naponta volt 30 ml mock oldattal és 5 μM ABA oldattal (részletesebben 3.3 fejezet).

3. A kísérletekhez felhasznált oldatok

3.1 Perlitben és kőzetgyapot kockán nevelt növények tápoldatozása

A 2. táblázat a kísérletekben, az uborkanövények öntözéséhez használt módosított Hoagland tápoldat pontos összetételét mutatja. A módosított oldat használatának oka kettős, egyrészt az uborka nagy nitrogén igényű (Kappel, 2011), valamint az ammónia felhalmozódását a táptalajban nem jól viseli, így nitrát formájában történő nitrogén bevitel javasolt (Matsumoto és Tamura, 1981; Alan, 1989). A növények öntözése két naponta történt meg cserepenként 200 ml tápoldattal.

2. táblázat. Tápelemek moláris koncentrációja különböző töménységű Hoagland (HG) oldatokban (Millner és Kitt, 1992 alapján).

Makroelemek	Különböző erősségű Hoagland oldatok koncentrációja					
	0,125×HG	0,5×HG	1×HG	1,5×HG	2×HG	2,5×HG
Ca(NO ₃) ₂	0,625 mM	2,5 mM	5,0 mM	7,5 mM	10,0 mM	12,5 mM
KNO ₃	0,625 mM	2,5 mM	5,0 mM	7,5 mM	10,0 mM	12,5 mM
MgSO ₄	0,25 mM	1,0 mM	2,0 mM	3,0 mM	4,0 mM	5,0 mM
KH ₂ PO ₄	0,125 mM	0,5 mM	1,0 mM	1,5 mM	2,0 mM	2,5 mM
Mikroelemek						
Na ₂ MoO ₄	1,25 µM	5,0 µM	10,0 µM	15,0 µM	20,0 µM	25,0 µM
ZnSO ₄	0,125 µM	0,5 µM	1,0 µM	1,5 µM	2,0 µM	2,5 µM
MnCl ₂	0,25 µM	1,0 µM	2,0 µM	3,0 µM	4,0 µM	5,0 µM
CuSO ₄	0,0625 µM	0,25 µM	0,5 µM	0,75 µM	1,0 µM	1,25 µM
CoCl ₂	0,025 µM	0,1 µM	0,2 µM	0,3 µM	0,4 µM	0,5 µM
NiSO ₄	0,025 µM	0,1 µM	0,2 µM	0,3 µM	0,4 µM	0,5 µM
NaFe-EDTA	1,25 µM	5,0 µM	10,0 µM	15,0 µM	20,0 µM	25,0 µM
H ₃ BO ₃	0,025 µM	0,1 µM	0,2 µM	0,3 µM	0,4 µM	0,5 µM
MES puffer oldat	0,5 mM	0,5 mM	0,5 mM	0,5 mM	0,5 mM	0,5 mM

Megjegyzés: az 1×HG oldat az irodalomban publikált összetételt és koncentrációkat jelöli.

3.2 Perlitben és kőzetgyapotkockán nevelt növények ABA kezelése

A 21 napos növények leveleit 5 µM koncentrációjú abszcizinsav (ABA) oldattal, permetezéssel kezeltük egyszeri alkalommal a növények leveleit. Kontrollként desztillált vizet és ABA nélküli (mock) oldatot használtuk. A mintavételnél (a növények második lombleveléből) a kezelést követően 12 óra után történt meg, amihez folyékony nitrogént használtunk, majd a mintákat -80 °C-on tároltuk a kísérletekig.

3.3 *In vitro* nevelt növények ABA kezelése

Az 5 µM ABA oldatot 3 mM ABA törzsoldból készítettük, ehhez a Duchefa Biochemie B.V. által előállított abszcizinsav készítményt használtuk fel. A törzsoldat készítése: 1,6 mg abszcizinsavat feloldottunk 2 ml 0,1 N NaOH oldatban. A kontroll növények kezeléséhez mock oldatot használtunk, mely elkészítésénél 210 ml desztillált vízhez 350 µl 0,1 N NaOH oldatot adtunk.

4. Morfológiai paraméterek vizsgálata

4.1 Növekedési paraméterek mérése

Uborkanövények hajtás megnyúlás hosszát (hajtáshossz), hipokotilhosszát, főgyökérzetének (leghosszabb gyökér) hosszát (gyökérhossz) állapítottuk meg 0,1 cm pontossággal.

4.2 Hajtás friss és száraztömegének meghatározása

A hajtások friss tömegéhez a növényekről a gyökereket eltávolítottuk, majd a hajtást megmértük analitikai mérleggel tömegüket 0,1 mg pontossággal határoztuk meg. A szárazanyag-tömeg méréséhez a növényekről szedett földfeletti hajtást, vagy gyökérzetet alufóliában csomagolva, 80 °C hőmérsékleten tömegállandóságig szárítottuk, ezt követően a szárított részek tömegét analitikai mérleggel tömegüket 0,1 mg pontossággal határoztuk meg.

4.4 Levélfelület mérése

A növényenkénti összlevélfelület meghatározásánál a palánták leveleit fehér háttérrel, merőlegesen felülről lefényképeztük, a levelek területét az ImageJ (ImageJ, Image Processing and Analysis in Java, USA). grafikai program határozta meg négyzetmilliméterben előre megadott méretarány segítségével. A sziklevek levélfelületét az LA (leaf area) = $k \times s \times h$ (s : szélesség, h : hosszúság, $k=0,857$ levélformára jellemző állandó) képlettel határoztuk meg cm^2 -ben megadva (Huzsvai et al., 2004). A tőzegben nevelt növények esetében egy, a perlitben neveltek morfológiai paraméter vizsgálatainál két biológiai ismétlés volt.

5. RNS izolálás és RT-PCR

5.1 RNS izolálás

Az RNS kivonása TRI reagenssel (Molecular Research Center, USA) és CTAB (cetil-trimetilammónium-bromid kivonó puffert alkalmazva) módszerrel (Jaakola et al., 2001) történt a gyártók által megadott instrukciók alapján. Az RNS kivonás minőségi ellenőrzéséhez EcoSafe festéket használva, 1%-os agaróz gélen megfutattuk a mintákat, majd az RNS koncentrációt Nanodrop készülékkel (NanoDrop 1000) ellenőriztük 260 nm-en. A DNS szennyezés eltávolításához DNase I (Thermo Scientific) enzimet használtunk (37°C, 30 perc inkubációval), az RNS koncentrációt 5 $\mu g/30 \mu l$ -re volt normalizáltuk.

5.2 RT-PCR

Az abszcizinsavval végzett kísérletek esetében, a cDNS szintézis a RevertAid First Strand cDNA Synthesis kit (Thermo Fisher Scientific Inc., USA) használatával valósult meg. Az RT-PCR-hez Taq DNS polimerázt használtunk (Thermo Fisher Scientific Inc.; Waltham, USA). Az amplifikáció 32 ciklusban történt a T100™ Thermal Cycler (BioRad) műszerrel. Az amplifikált termékeket 1%-os agaróz gélen választottuk szét. A qRT-PCR a StepOnePlus Real-Time PCR System (Applied Biosystems, USA) eszközön, HOT FIREPol EvaGreen qPCR Supermix (Solis BioDyne, Estonia) használatával történt meg. Az amplifikáció a HOT

FirePol polimeráz enzim aktiválásával kezdődött 95°C -on, ami 12 percen keresztül tartott. Ciklusonként a DNS denaturálása 15 másodpercig zajlott 95 °C-on. A primerek kitapadása 60 °C-on 1 percig, a termékdetektálás 72 °C-on 1 percig történt, 40 cikluson keresztül. A reakcióban felhasznált primerek (*CsDHN2*, *CsDHN3*) leírását a 3. táblázat tartalmazza, kontrollként a *CsActin-7* gént használtuk (Wan et al. (2010)). A reakcióelegy összetétele: 0,2 µl 10 µM primerek, 2µl HOTFire mestermix, 1µl cDNS, 10µl végtérfogatra hígítva desztillált vízzel. Az indukció mértékét a $\Delta\Delta Ct$ módszerrel határoztuk meg (Bookout és Mangelsdorf, 2003).

A különböző töménységű Hoagland oldatokkal nevelt növényeken végzet kísérleteknél a cDNS szintéziséhez (RT-PCR) 5 µg teljes RNS tartalomhoz M-MuLV RT enzimet adtuk, amelyet Maxima Reverse Transcriptase kit (Thermo Scientific) tartalmazott, oligo(dT)20 primerrel együtt. A szintézis a gyártó által megadott utasításoknak megfelelően történt meg. A primereket a *CsDHN1*, a *CsDHN2*, és a *CsDHN3* *CsAPX*, *CsGR*, *CsGPX*, uborka génekre és a kontrollként használt *CsAct-3* génre terveztük (3. táblázat). A PCR amplifikációt a GoTaq G2 DNS polimeráz enzim végezte (Promega USA), 30 ciklusos ismétléssel Master Cycler készülékben (Eppendorf AG, Hamburg, Germany). Egy ciklus 3 percig tartott, a cikluson belüli hőmérsékletek a következők voltak: 30 s: 95°C, 60 s: 58°C, 30 s: 72°C végezetül 7 perc 72°C. Az amplifikált termékeket 1,4 % (w/v) ethidium-bromiddal festett agaróz gélen futtattuk meg 1×TBE puffer oldatot használva. Az RT-PCR termékeket a gélből a Viogene Gel Advanced Kit (Viogene BioTek Corp., Taiwan) segítségével tisztítottuk meg, ehhez ExoSAP-IT™ PCR Product Cleanup Reagent (Applied Biosystems, USA) használtunk, majd megszekvenáltuk ABI PRISM 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems), ehhez BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) kitet és génspecifikus primereket használtunk. Az RT-qPCR-hez a CFX 96 Real-Time PCR System (Bio-Rad, USA) készüléket és SsoAdvanced Universal Inhibitor-Tolerant SYBR® Green Supermix (Bio-Rad) használtuk, a reakció végtérfogata 10 µl volt, amelyben 1 µl cDNS, 4 µl szupermix, 0,5 µl (100 µM) volt a primerek mennyisége, amikhez 4 µl desztillált vizet adtunk. Az amplifikáció a polimeráz aktiválásával és a DNS denaturálásával kezdődött, amely 95°C -on 30 másodpercig tartott, ezt 40 ciklus követte, ciklusonként a denaturáció 10 másodpercig tartott 95°C-on, a primerek kitapadása és a reakció 30 mp 60°C-on történt. Kontrollként az *CsActin-3* gént használtuk, az indukció mértékét a ΔCt relatív kvantifikációs módszerrel határoztuk meg (Bookout és Mangelsdorf, 2003). Kísérleteinket két biológiai és három technikai ismétlésben végeztük el.

3. táblázat. A RT-PCR-ben és RT-qPCR-ben használt primerek adatai.

Gén neve	Accession No.	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')	termék hossza
<i>CsDHN2</i>	XM_011654848	ATGGTGGCATACTTCATCGC	GTCGTGGTTGACACTGCTTG	154 bp
<i>CsDHN3</i>	XM_011659051	GTGGGCTCTTTGATTCTT	GACTAGGCTTCTTCTTCTT	165 bp
<i>CsDHN1</i>	XM_011656037.1	CTATCCAATTCGCCAGACCG	GATGTCCACTCCCATCCTCT	191 bp
<i>CsDHN4</i>	XM_004150027	TGATGGACAAGGCGGGAGG	GCATCACGAAAGCACCACC	124 bp
<i>CsGRI</i>	XM_011652579.2	TACGATCTCTGGCCGACAAGAG	ATGGGTGTATTCCAACAGTGCTG	182 bp
<i>CsAPX1</i>	XM_004149001	TCACACATTGGGTAGGGCA	TATGCTGCCGATGAGGATG	203 bp
<i>CsGPX1</i>	XM_004145445.3	ATCAAGTGCTGGAGGGTTT	GATGTTGTTGGTGGGTATCTC	105 bp
<i>CsAct-3</i>	DQ115883	GGCAGTGGTGGTGAACATG	GACTCACACCATCACCAGAA	151 bp
<i>CsAct-7</i>	XM_004147305	TCGTGCTTGACTCTGGTGATGG	TTTCCCGTTCGGCAGTGGTTGT	172 bp

6. Fotoszintetikus aktivitás és oxidatív stressz mérése

6.1 A fotoszintetikus aktivitás mérése

A fotoszintetikus aktivitás értékeit egy IRGA rendszerű fotoszintézis mérővel mértük (ADC Bioscientific Limited, LCi Console, szériaszám: 31926, Herts, UK). Az LCi műszerrel egyaránt végezhetőek mérések a növény teljesen kifejlett, vagy fiatal levelein. A műszer 4 gázkamrából épül fel, az egyes és kettes kamrában egy gázpumpa segítségével ismert összetételű gáz áramlik, amelynek a nyomását rögzíti a műszer. Ezt követően a hármas és négyes, zárt gázkamrákban a mérendő, ismeretlen összetételű gáz lesz áramoltatva, melynek a nyomása szintén meghatározható. A mérés alapelve, hogy a molekulák koncentrációjuknak megfelelő mértékben elnyelik az infravörös sugarakat, ennek okán a zárt kamrában az elnyelt sugarak hatására megnövekedik a gáz nyomása. A kamrák között egy membrán helyezkedik el, mely érzékeli a nyomásváltozást, így a két kamra közötti nyomáskülönbség mérhető, az elnyelést okozó molekula koncentrációja kiszámítható (Tamás et al. 2013). Az összes növény második levelének értékeit vettük fel, így vizsgáltuk a fotoszintézis aktivitást (A érték, $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$).

6.2 Antioxidáns kapacitás meghatározása FRAP módszerrel

Az uborka növények leveleiből készült extraktum antioxidáns kapacitásának meghatározása a FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma; „Antioxidant Power”) módszerével történt meg (Benzie és Strain, 1999). A mérési módszer egyszerű, gyors, jól reprodukálható és költséghatékony. Alapelve, hogy antioxidáns vegyületek hatására alacsony pH-n a szintelen Fe(III)-TPTZ (ferri-tripiridil-triazin) kék színű Fe(II)TPTZ (ferro-tripiridil-triazin) vegyületté redukálódik, mely mennyisége a minta antioxidáns tartalmával arányos és 593 nm-en fotometrálnak. Aszkorbinsavra történő kalibráció segítségével a vizsgált szövet antioxidáns tartalma meghatározható. Hátránya, hogy a fiziológiás pH-nál savanyúbb közeg jelenléte szükséges a reakció végbemeneteléhez (Benzie és Strain, 1999). A méréshez uborkanövények leveleiből levett, 0,2 g fagyasztott mintát 2 ml 70%-os etanol oldatban eldörzsöltük, majd az extraktumot 10 percen át centrifugáltuk 14 000 RPM-n. Az 50 µl felülúszót 250 µl FRAP reagenshez adtuk (0,3 M pH 3,6 ecetsav/Na-acetát puffert 10mM TPTZ oldatot 40 mM HCl oldatban oldva, 20 mM FeCl₃ oldatot elegyítve 10:1:1 térfogat arányban), majd az elegyet 37 °C-on 6 perc elteltével 593 nm hullámhosszúságú fényen fotometrálnak mikroplate spektrofotométer használatával (PowerWave XS2, BioTek, USA). A minták FRAP értékét a kalibrációs görbe alapján µM AA ekvivalens $\times g^{-1}$ FW ban adtuk meg (a kalibrációs görbe tartománya 100 -1000 µM; R²: 0,9988). Két biológiai és három technikai ismétlés volt.

6.3 Gvajakol peroxidáz (EC 1.11.1.7.) aktivitásának mérése (POD módszer)

A gvajakol peroxidáz enzim a sejtekben képződő H₂O₂ bomlását katalizálja hidrogendonorként különböző szubsztrátokat használva. Nevét egy mesterséges szubsztrátjáról, a gvajakolról kapta. Aktivitásának mérésére munkánk során a Chandrakar és mtsai által 2016-ban kidolgozott protokolt használtuk némi módosítással. 0,2 g frissen szedett levelet (2. ép lomblevél) mértünk be előhűtött dörzsmozárban, majd hozzáadtunk 1 ml izoláló puffert (10 mM kálium-foszfát puffer pH:7,2; 1 mM EDTA oldat, 2 mM dithiothreitol (DTT); 0,2% Triton-X 100 oldat). Ezt követően a mintát eldörzsöltük, majd a szuszpenziót 4 °C –on 13,000 RPM-en centrifugáltuk 20 percig. A felülúszót tiszta centrifugacsőbe helyeztük át, 20µl mennyiséget adtunk 138 µl desztillált vízhez. A reakció lejátszódásához a 158 µl hígított kivonatunkhoz 200 µl reakcióelegyet adtunk, amit 4 percen keresztül percenként fotometrálnak 470 nm-en mikroplate spektrofotométert (PowerWave XS2, BioTek, USA) használva. A reakcióelegy elkészítésénél a következő arányt vettük figyelembe: 1 ml 0,1 M kálium-foszfát puffer oldat pH=6, 1 ml 0,015 M H₂O₂ (frissen elkészült) oldat, 2,5 ml 0,02 M gvajakol oldat.

A mért abszorbanciákat felhasználva a gvajakol peroxidáz enzim aktivitását a következő képlet alapján számítottuk ki, eredményeinket $\mu\text{kat}\times\text{g}^{-1}$ fw egységben adtuk meg. Négy techniai és egy biológiai ismétlés volt.

$$\text{Enzim aktivitás} = (V_r/V_e)\times(1/\varepsilon)\times(\Delta A_{\text{min}}/60)\times(V_p/m_{\text{levél}})$$

A képletben szereplő jelölések a következők voltak:

V_r – az enzimreakció teljes térfogata (ml)

V_e - az enzimkivonat térfogata (ml)

ε - a reakció során képződő tetragvajakol moláris abszorpciós koefficiense (mM/cm^2) = 26,6

ΔA : A 3. percnél mért abszorbanciaérték és a 2. percnél mért abszorbanciaérték különbsége 470 nm-en mérve

V_p - a növényi kivonat térfogata (ml)

$m_{\text{levél}}$ - a növényi szövet tömege (g)

6.4 Lipidperoxidáció mérése TBARS tartalom meghatározásával

A telítetlen zsírsavak nem enzimatis oxidációjakor malondialdehid (MDA) keletkezik (lipidperoxidáció), ennek okán kiváló markere a lipidperoxidációs folyamatoknak a biológiai rendszerekben (Hodges et al., 1999). A malondialdehid tartalmat a tiobarbiturát reakción alapuló eljárás szerint határoztuk meg némi módosítással (Heath és Packer, 1968). 0,6 g friss növényi szövetet eldörzsöltünk 2 ml 0,1%-os tiobarbitursavval, ebből 1,8 ml-t átmértünk tiszta Eppendorf csőbe, ezt követően 40 μL BHT adtunk hozzá a lipidperoxidáció gátlásához. Vortexelést követően 10 percig centrifugáltuk 4 °C-on 13000 RPM-en. A felülúszó 250 μl mennyiségéhez adtunk további 1 ml 20% TCA és 0,5 % TBA oldatot, majd 30 percig 96 °C-on inkubáltuk az elegyet. Hűtést követően 5 percig centrifugáltuk 10000 RPM-en, majd 532 nm hullámhosszúságú fényen fotometráltuk mikroplate spektrofotométer használatával (PowerWave XS2, BioTek, USA). Az MDA tartalmat $156 \text{ mM}^{-1}\times\text{cm}^{-1}$ abszorpciós koefficienssel számoltuk, eredményeinket $\text{nmol}\times\text{g}^{-1}$ (friss tömeg) mértékegységben adtuk meg. Négy technikai és két biológiai ismétlés volt.

6.5 Lipidperoxidáció mérése biofoton emissziós képalkotó vizsgálattal

A méréseket 21 napos uborkanövényeken végeztük el, Dr. Pónya Zsolt kutató fejlesztő (MATE Kaposvári Campus) közreműködésével, NightShade LB 985 Plant Imaging System (Berthold Technologies, Bad Wildbad, Germany) műszerrel. A növényekről szedett, hasonló méretű, ép levelekről készítettünk felvételek érzékeny, termoelektrikusan hűtött (-70 °C) CCD kamerával (NightOWLcam, Berthold Technologies), sötétkamrában. A növények leveleiből származó lumineszcencia emisszió detektálását egy speciális fényelnyelési spektrummal rendelkező, 90%-os kvantum hatékonyságú chip végezte. A detektáció érzékenységének növelése érdekében változtatható, 512×512 pixeles felbontású, 26×26 μm pixel méretű

felvételek készültek, lassú szkennelési módban. Az expozíciós idő 60 másodperc volt, a képfeldolgozáshoz az IndiGo programot (Software Version 2.0.5.0, Berthold Technologies, Germany) használtuk. A bemutatott képekhez a felvett fotók közül a legmagasabb detektációs jelintenzitással rendelkezőket választottuk ki minden egyes kísérletből.

7. Ozmotikus stressz vizsgálata

Az uborkanövények leveleinek setjnedvei ozmolalításának (c) meghatározását Martonvásáron végeztük el, Dr. Kocsy Gábor tudományos tanácsadó (ATK, Mezőgazdasági Kutató Intézet, Martonvásár) és Dr. Iman Mirmazloum egyetemi adjunktus közreműködésével. A mérésekhez fagyáspont mikro-ozmométert (Osmomat 030-D; Gonotec, Berlin, Germany) használtak, a mérési módszer háttérében a híg oldatok koncentráció függvényében bekövetkező fagyáspontcsökkenése áll, amely arányos az ozmolit tartalommal (Bajji et al., 2001). 0,5 g friss növényi levelet (kezelésenként három technikai ismétlésben) folyékony nitrogénben, előhűtött dörzsmozsárban eldörzsoltek, majd 0,1 grammonként 500 µl Milli-Q desztillált vizet adtak a mozsarak tartalmához. Ezt követően a szuszpenziót centrifugacsövekbe töltötték, 30 másodpercnyi vortexelés után 30 percig 14000 RPM-en centrifugálták, a felülúszónak az ozmolit tartalmát határozták meg, mintánként 5 párhuzamos mérést végezve. Az ozmotikus nyomás (OP- ozmotikus potenciál) (MPa) $= -c (\text{Osmol} \times \text{kg}^{-1}) \times 2.58 \times 10^{-3}$ formulával lett kiszámítva (Szira et al. 2008). Három technikai és két biológiai ismétlés volt.

8. A kapott adatok statisztikai értékelése

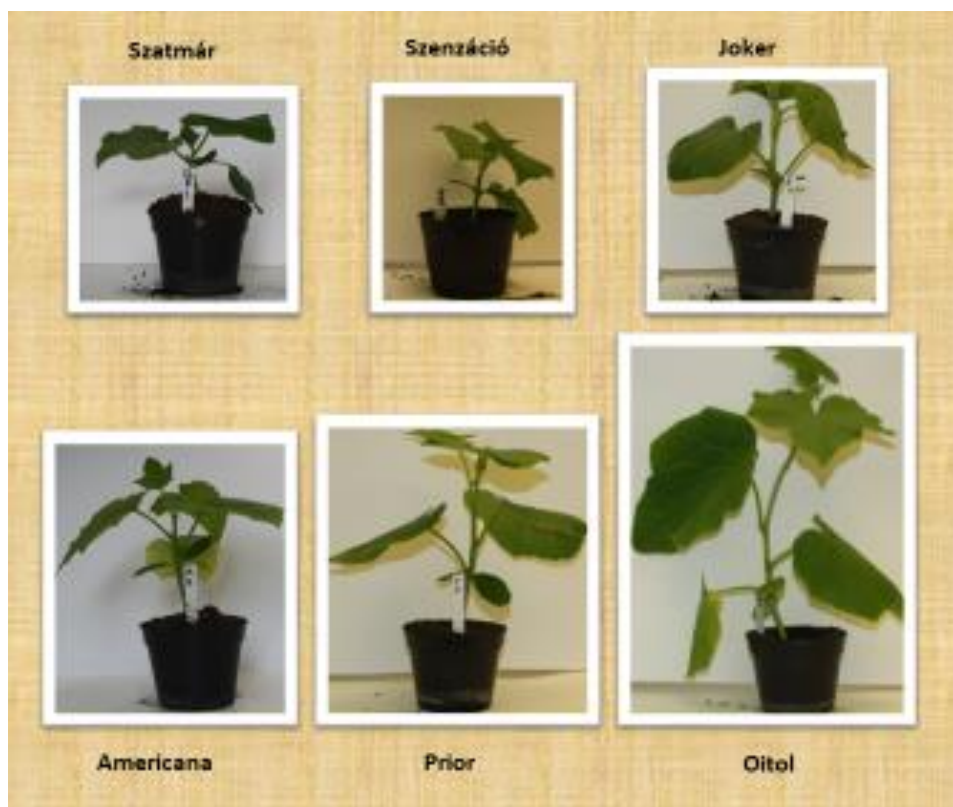
A kapott adatok kiértékelését a Microsoft Excel 2013 (Microsoft Corporation, 2013) táblázatkezelő programmal végeztük (átlag, szórás, grafikonok szerkesztése). A statisztikai elemzésként használt korreláció (Pearson korreláció) és egyszempontos ANOVA analízist és az ehhez kapcsolódó homogenitás vizsgálatot (Levene teszt), a normalitás vizsgálatot (Shapiro-Wilk teszt), továbbá a posthoc Tukey-b tesztet az IBM SPSS Statistics (2015, USA), valamint az R (R Development Core Team 2015) programokkal készítettük el, eredményeinket $p < 0,05$ szignifikancia szint mellett hasonlítottuk össze.

EREDMÉNYEK

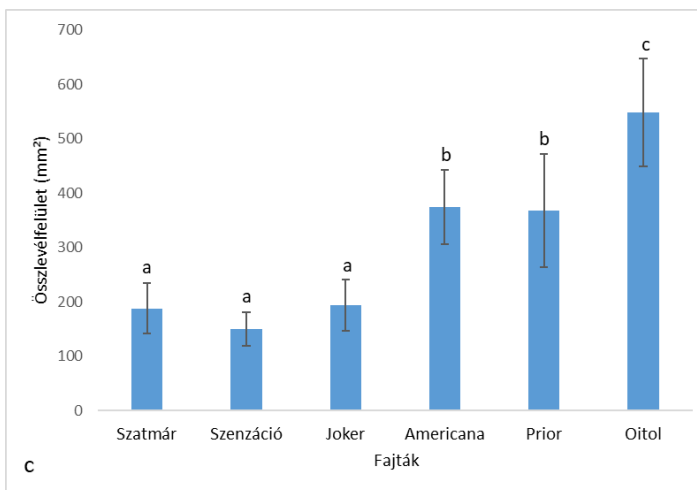
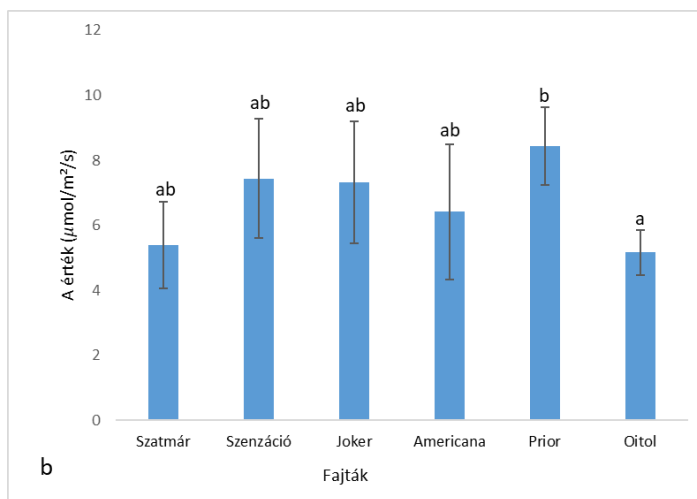
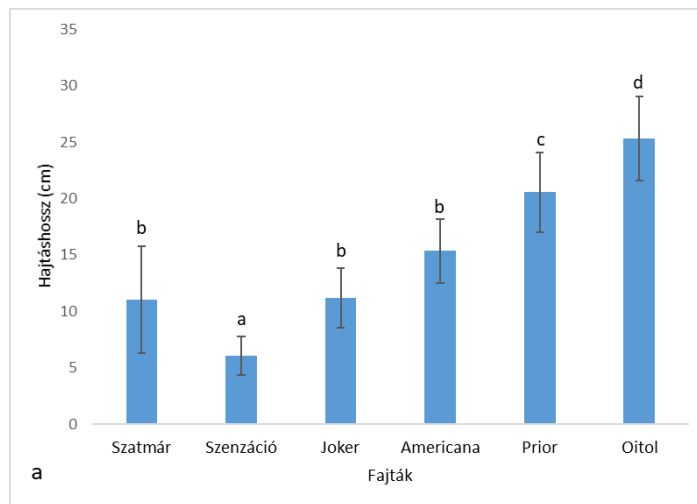
1. Növekedési paraméterek és fotoszintetikus aktivitás mérések eredményei tőzegkeverékben nevelt uborka növényeken

Három szabadföldi ('Szatmár', 'Szenzáció', 'Joker') és három üvegházi ('Americana', 'Prior', 'Oitol') uborkafajtát vetettünk el tőzegkeverékben, majd csapvizzel locsoltuk kétnaponként a palántákat. A 28 napos növényeknek mértük a hajtáshosszát, a fotoszintetikus aktivitását és a növényenkénti összlevél felületét. A nevelés során néhány növény elpusztult, ezért változó elemszámú minta állt rendelkezésünkre.

Az üvegházi fajták magasabb hajtáshossza az oldalnézetből készített fotókon is jól látható (8. ábra). Az 'Oitol' fajta átlag magassága (9/a ábra) szignifikánsan nagyobb volt a többi fajtához képest. Szignifikánsan nagyobb értékkel rendelkezik még a 'Prior' fajta is, a legalacsonyabb növekedésű a 'Szenzáció' fajta volt. A palánták betakarításának idején lévő növekedés stádiumban kacsok még nem voltak a növényeken.



8. ábra. Tőzegkeverékben nevelt uborkafajták oldalnézetből készített felvételei. A fényképek 28 napos növényekről készültek. A képeken megfigyelhető a fajták palántáinak eltérő magassága.



9. ábra. Tőzegkeverékben nevelt uborkafajták (a) hajtáshossz értékei; (b) fotoszintetikus aktivitás és (c) növényenkénti összlevélfelület értékei. Az „a” grafikonon az A érték a fotoszintetikusán aktív sugárzást fejezi ki (Photosynthetically Active Radiation =PAR, $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)

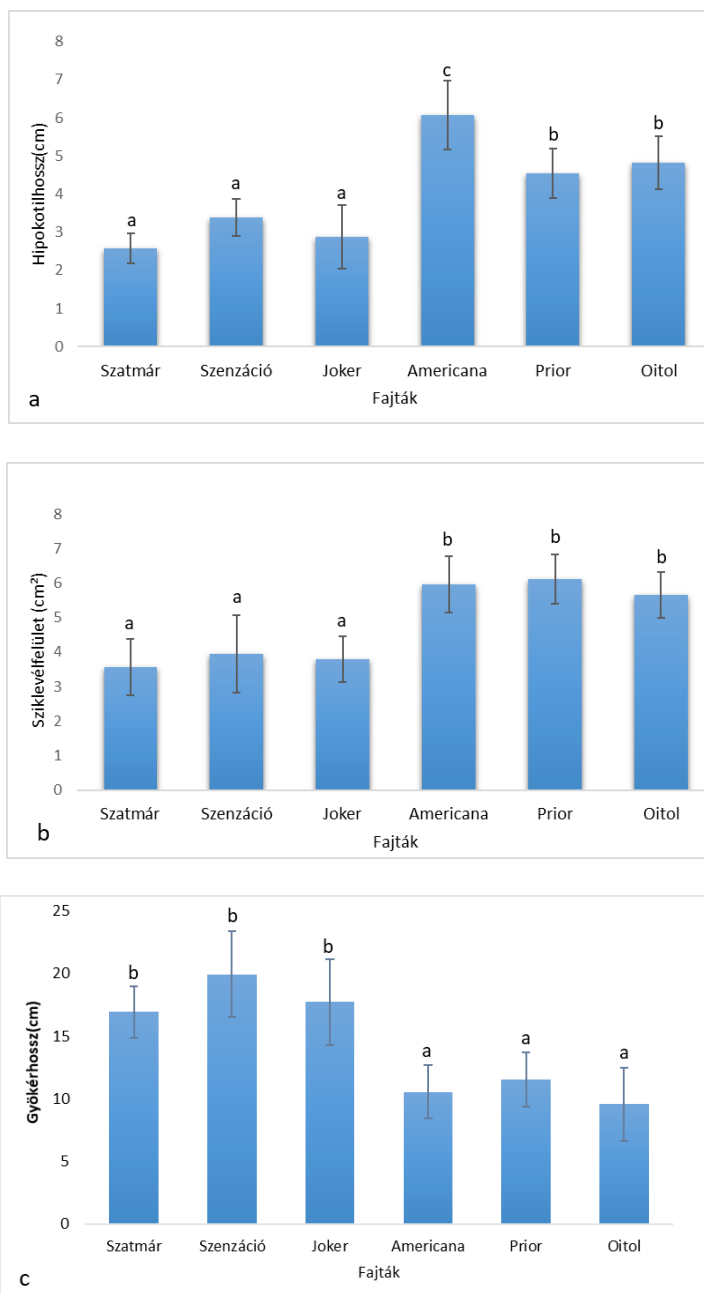
A fotoszintézis aktivitásának (A érték) megállapítására az IRGA rendszerű LCi berendezést használtuk. A 'Prior' fajta rendelkezett szignifikánsan magasabb értékkel a többi fajtától, legkisebb értéke a 'Oitol' fajtának volt (9/b ábra). Az összlevélfelületet tekintve az üvegháziak

rendelkeztek szignifikánsan nagyobb összszlevélfelülettel, mint a szabadföldiek. Az 'Oitol' fajta értéke már önmagában kitűnt az adatsorból a többihez képest. Legalacsonyabb átlaggal a 'Szenzáció' 'Joker' és a 'Szatmár' szabadföldi fajták rendelkeztek (9/c ábra).

1. Morfológiai paraméterek vizsgálata perlitben nevelt uborkafajtákon

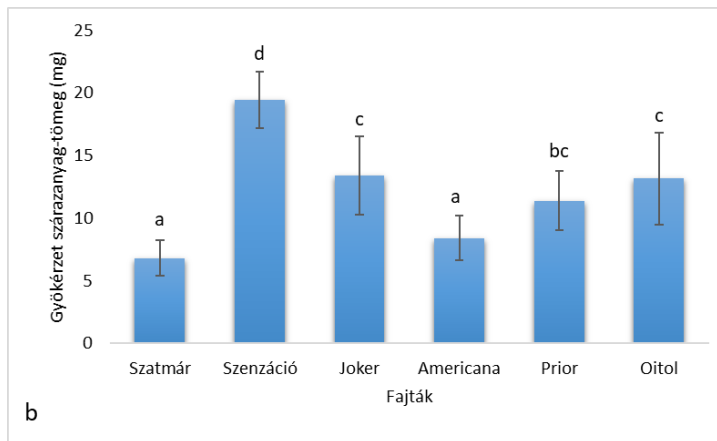
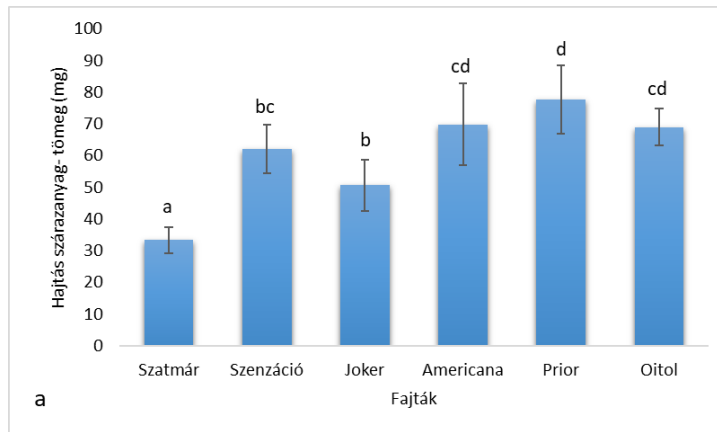
Három szabadföldi ('Szatmár', 'Szenzáció', 'Joker') és három üvegházi ('Americana', 'Prior', 'Oitol') uborkafajta palántáit az Anyag és Módszerek fejezetben leírtak szerint perlit közegben neveltük. A 21 napos növények hipokotil hosszát, sziklevelek felületét, gyökérzetének hosszát (10. ábra), ezt követően a palánták hajtásának és gyökérzetének szárazanyag-tömegét mértük le (11. ábra). A nevelés során néhány növény elpusztult, ezért változó elemszámú minta állt rendelkezésünkre. A hipokotilhosszok esetén szintén két csoport különíthető el (10/a ábra), itt az üvegházban hajtattak rendelkeztek nagyobb értékekkel, mint szabadföldben termesztett társaik. Kimagasló értékkel az 'Americana' fajta rendelkezett, a legalacsonyabbal a 'Szatmár'. Ami a sziklevelek felületét illeti (10/b ábra), a szabadföldben termesztett fajták kisebb mérete jól elkülöníthető az üvegházban neveltek nagyobb szikleveleitől.

A legnagyobb gyökérhossz méretet a 'Szenzáció' hibrid adja, de a 'Joker' és a 'Szatmár' is a nagyobb gyökérhosszal rendelkeztek. Az üvegházi hibridek ugyanakkor kisebb gyökérhossz értékeket mutattak. A 10/c ábra alapján állíthatjuk, hogy a szabadföldi fajták gyökere jellemzően hosszabb.



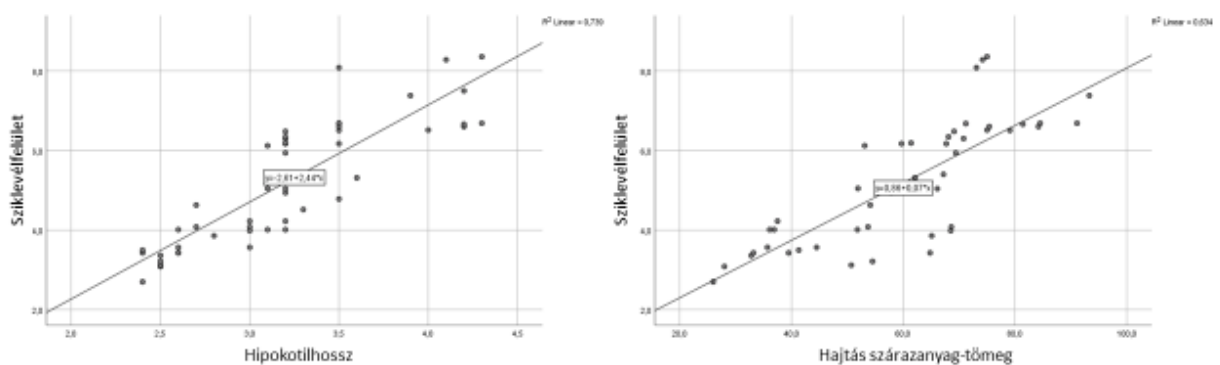
10. ábra. Perlitben nevelt uborkafajták (a) hipokotilhossz; (b) sziklevélfelület (c) gyökérhossz értékei.

Az üvegházi fajták hajtás szárazanyag-tömeg értékei szignifikánsan magasabbak a szabadföldiekénél, a két fajtacsoport jól elkülönül egymástól (11/a), a gyökérzet szárazanyag-tömeg értékei esetében viszont nem figyelhető meg egyértelmű különbség a két fajtatípus között (11/b ábra).



11. ábra. Perlitben nevelt uborka fajták (a): hajtás szárazanyag-tömeg; (b): gyökérzet szárazanyag-tömeg értékei.

A hipokotilhossz és a sziklevélfelület ($r=0,86$, $p<0,01$) és a hajtás száraztömeg és sziklevélfelület között ($r=0,739$, $p<0,01$) pozitív korreláció áll fenn (12. ábra).



12. ábra. Perlitben nevelt uborka fajták sziklevélfelület hipokotilhossz és hajtás szárazanyag-tömeg közötti korreláció-analízis eredményei.

3 A tápanyagellátottság mértékének hatása a két fajtcsoport növekedési paramétereire

Három szabadföldi ('Szatmár', 'Szenzáció', 'Joker') és három üvegházi ('Americana', 'Prior', 'Oitol') uborkafajtát vetettünk el perlittel bélelt, cserepekbe helyezett kőzetgyapot kockában. A palánták tápoldatozásuk kétnaponta történt, cserepenként 250 ml 0,125× és 0,5×HG oldattal. A vetéstől számított 21. napon történt a növények feldolgozása, hajtáshossz, hipokotilhossz, hajtás szárazanyag-tömeg és növényenkénti összlevélfelület lett meghatározva. A nevelés során néhány növény elpusztult, ezért változó elemszámú minta állt rendelkezésünkre.

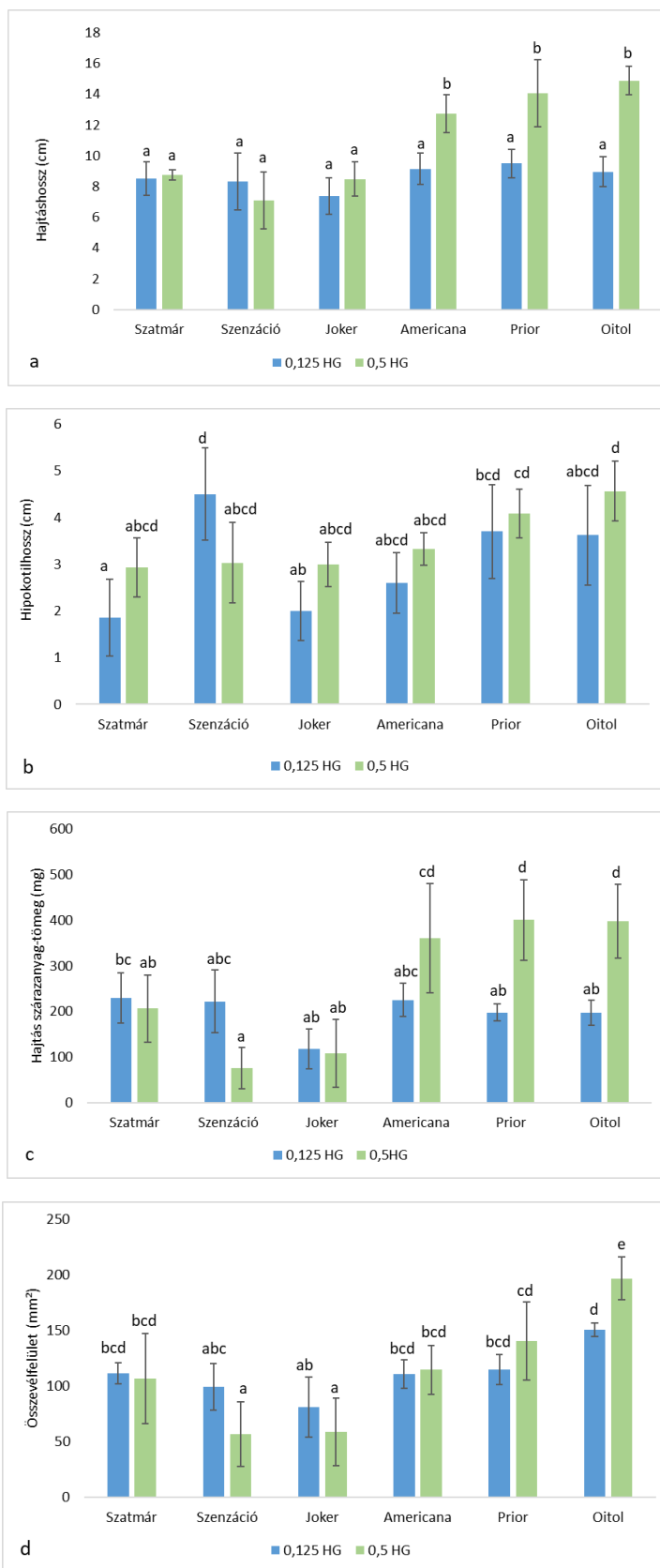
A növényekről készült felülnézeti fotókon is jól látható a két fajtcsoport növekedésében a különbség. Az üvegházi fajták magasabb növésűek és terebélyesebb lombozattal rendelkeznek, mint a szabadföldi társaik (13. ábra).

A hajtáshossz tekintetében az alacsonyabb tápoldaton nevelt növények méretei között nem volt szignifikáns különbség, azonban a 0,5×HG alkalmazása mellett az üvegházi fajtáknál nagyobb hajtáshossz értékkel rendelkeztek (14/a ábra). A hipokotilhossz esetében a különbségek a két fajtcsoportnál a különböző töménységű HG oldatok alkalmazásánál nem volt egyöntetű (14/b ábra).

Az alacsonyabb koncentrációjú Hoagland oldattal kezelt növények hajtás szárazanyag-tömegei között szignifikáns eltérés a 'Joker', 'Szatmár' és 'Americana' fajta esetében volt utóbbi javára (14/c ábra). Ellenben a normál tápoldatnak számító 0,5×HG oldattal kezeltéknél a szabadföldi és az üvegházi fajták között szignifikáns eltérés volt az üvegházi fajták javára.



13.ábra. A 0,125× és a 0,5×HG oldattal tápoldatozott (A) szabadföldi; (B) üvegházi uborkafajták egyedei felülnézetből. A képeken látható az üvegházi fajták erőteljesebb lombozattal rendelkeznek különösen a 0,5×HG tápoldatozást követően.

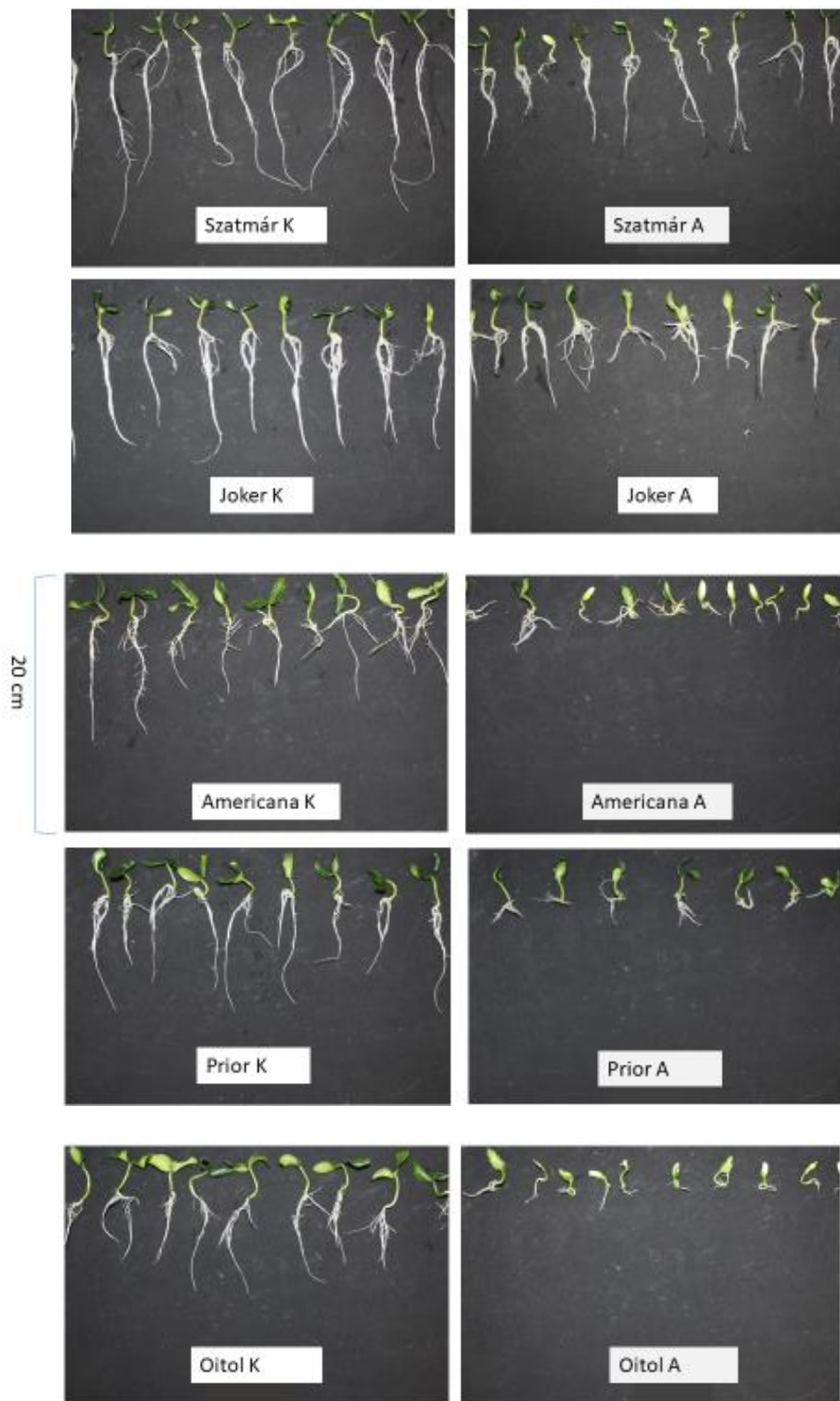


14. ábra. Perlitben nevelt uborkafajták (a): hajtáshossz; (b): hipopotilhossz; (c): száraztömeg; (d): növényenkénti összevélfelület értékei 0,125× és 0,5×HG oldattal történő tápoldatozást követően.

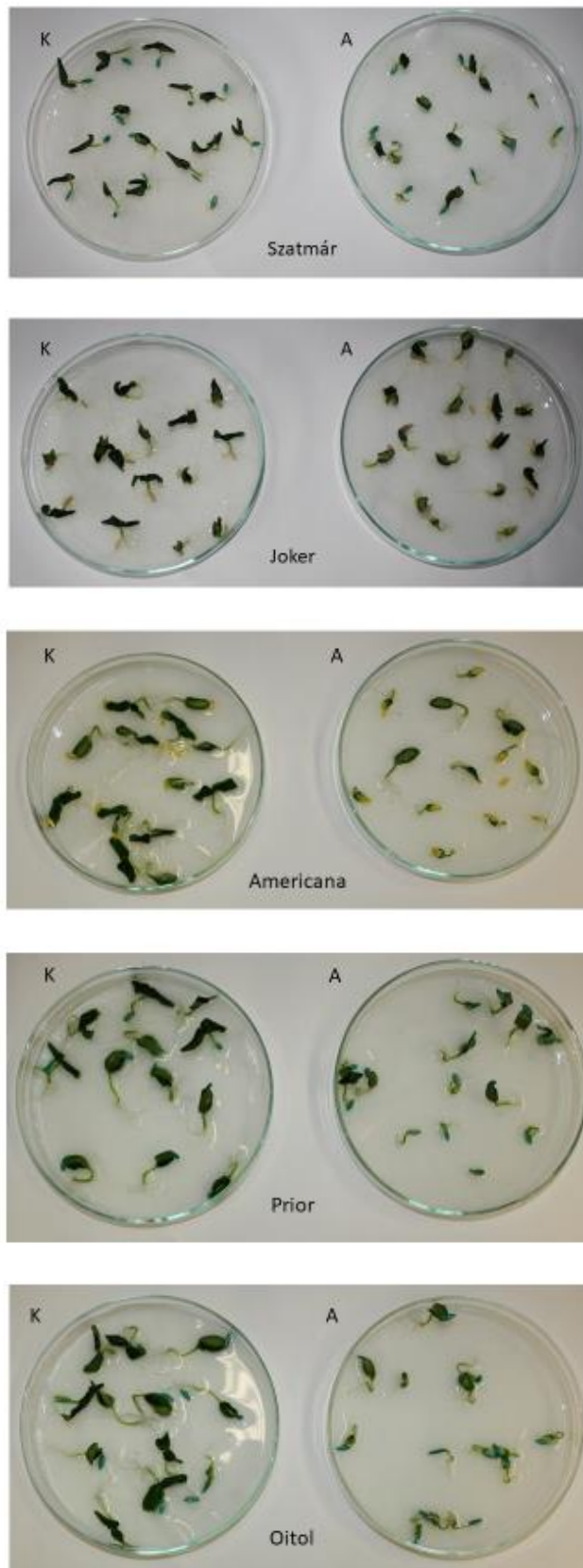
Az összlevélfelületek különbségei a két fajtacsoportnál kevésbé voltak egységesek. A 0,125×HG oldattal kezelt növények esetében az üvegházi fajtáknak nagyobb összlevélfelület értékei voltak, amely nem volt szignifikáns. A 0,5×HG oldattal kezelteknél az üvegháziak szignifikánsan nagyobb levélfelülettel rendelkeznek a szabadfölieknél (kivéve a 'Szatmár'-'Americana' között), míg a legnagyobbat az 'Oitol' üvegházi fajta esetében mértük (14/d ábra). Összességében elmondható, hogy a 0,5×HG oldattal öntözött növényeknél a vizsgált növekedési paraméterekre az üvegházi fajtáknál általában magasabb értékeket kaptunk.

4.1 *In vitro* körülmények között nevelt uborkafajták ABA érzékenységeinek vizsgálata

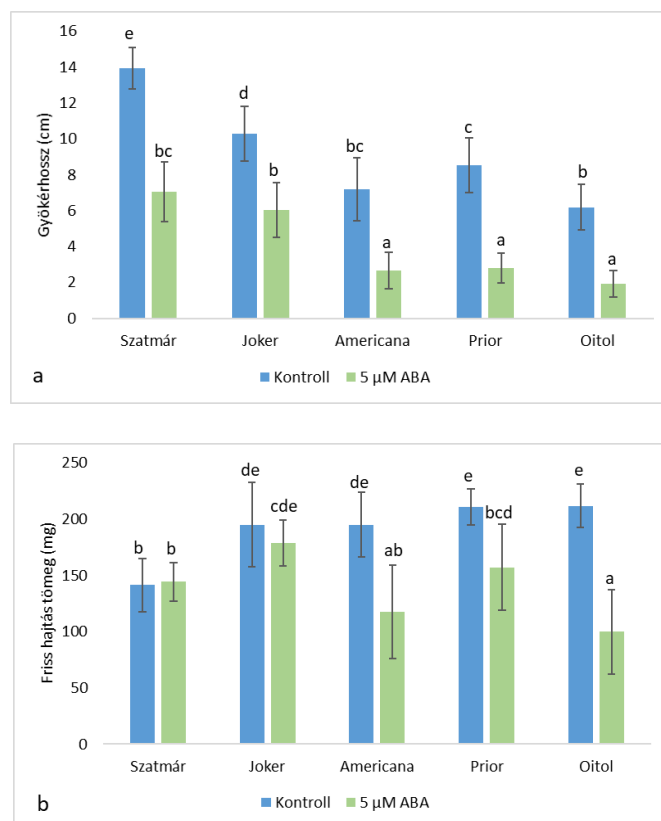
A hat fajtából 15-15 db magot vetettünk el 5 µM ABA és kontroll mock oldattal történő kezelésekhöz. Az alkalmazott kísérleti körülmények mellett a 'Szenzáció' fajta magjai rendkívül vontatottan csíráztak mindkét esetben. Ezért ebből a fajtából nem tudunk a statisztikai elemzéshez szükséges számú adatot nyerni, így a fajtát kivettük méréseinkből.



15. ábra. Petri- csészében nevelt 7 napos uborkafajták egyedei, „kiterített” állapotban („A”: 5 μM ABA, illetve „K”: kontroll/ mock oldattal kezelt). Az ABA mindegyik fajta esetében gátolta a gyökérmegnyúlást.



16. ábra. Petri-csészékben nevelt 7 napos uborkafajták felülnézetből („A”: 5 μ M ABA, illetve „K”: kontroll/mock oldattal kezelt). Az üvegházi fajták hajtásnövekedését az ABA jól láthatóan visszafogta.

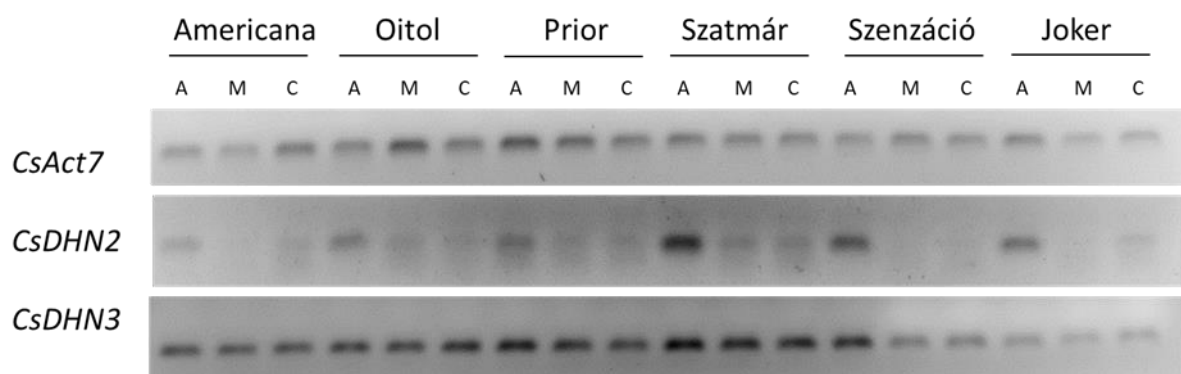


17. ábra. *In vitro* körülmények között nevelt uborkafajták: (a) a gyökérhossz és (b) hajtások friss tömegeinek értékei. A csíranövények kezelése 5 μM ABA, illetve mock oldattal történt.

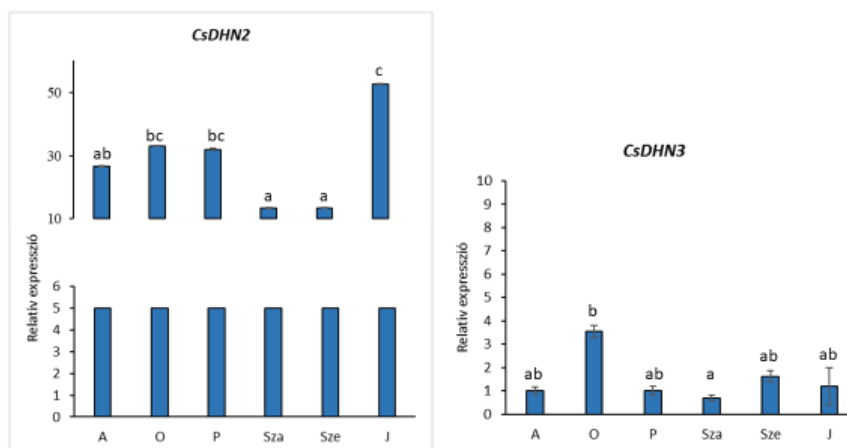
Az abszcizinsav számos fejlődési és növekedési mechanizmust irányít a növényekben. Egyik jól ismert hatása a gyökérmegnyúlást érinti. Külsőleg alkalmazott ABA oldattal kezelt csíranövények esetében a bekövetkező gátlás meghatározása segíthet a hormonérzékenység kimutatásában (Thole et al. 2014). Kísérleteink során a 7 napos csíranövények gyökérhosszát és a hajtások friss tömegét határoztuk meg. Ami a gyökérszár hosszát illeti, az összes fajta esetében szignifikáns különbség volt kimutatható a hormon hatására, különösen a 'Szatmár' 'Joker' és 'Prior' fajták esetében figyelhetünk meg erősebb gátlást. A gyökérmegnyúlást illetően az alkalmazott hormon hatása különböző mértékű. Az ABA oldat a 'Szatmár' és a 'Joker' fajták eleve erőteljesebb gyökérmegnyúlására fejtette ki leginkább gátló hatását (15., 17/a ábra). Az 17/b ábra alapján a szabadföldiek hajtása nem reagált ABA-ra, de az üvegháziak növekedését visszafogta. A hajtás növekedés tekintetében, szignifikáns eltérés volt az üvegházba hajtattott 'Prior' és 'Oitol' és 'Americana' fajtáknál a kezelt és kontroll vonalak között, ez a fajták erősebb hormon érzékenységet mutatta, ami szemmel is jól látható volt a Petri csészékről készült felülnézeti képeken (16. ábra).

4.2 Perlitben nevelt uborkafajták dehidrin génjeik expressziója külsőleg alkalmazott ABA oldattal történő egyszeri kezelés során

A dehidrinek az ozmotikus stresszválasz jellemzően kifejeződő molekuláris markerei, az abszcizinsav hatással van expressziójukra (Hanin et al., 2011). A *CsDHN2* és a *CsDHN3* dehidrin gének expresszióját vizsgáltuk külsőleg alkalmazott abszcizinsav (ABA) hatására. A hagyományos (szemi-kvantitatív) RT-PCR és kvantitatív RT-PCR eredményei alapján elmondható, hogy a *CsDHN2* gén indukciója erősebbnek bizonyult az ABA kezelés hatására (18. és 19. ábra). A *CsDHN3* expressziója a levélszövetben kontroll körülmények között is erős volt, így vélhetőleg kisebb szereppel bír maga a gén az ABA által szabályozott stresszválaszban a vizsgált genotípusokban. A RT-qPCR eredményei az összes vizsgált dehidrin gén esetében erőteljesebb expressziót mutattak az ABA kezelés hatására a *CsAct7* referencia génhez viszonyítva. A *CsDHN2* gén esetében az indukció erősebb volt, mint a *CsDHN3* génnél. A 18. ábra alapján elmondható, hogy az ABA hormonra főleg *DHN2* indukálódik, a *DHN3* közel egyenletesen expresszál. A fajták közötti különbség nem volt szignifikáns.



18. ábra. Perlitben nevelt uborkafajták *CSDHN2* és *CsDHN3* génjeinek szemikvantitatív RT-PCR eredményei egyszeri ABA kezelést követően. A: ABA kezelt, M: mock oldattal kezelt, C: desztillált vízzel kezelt minták.

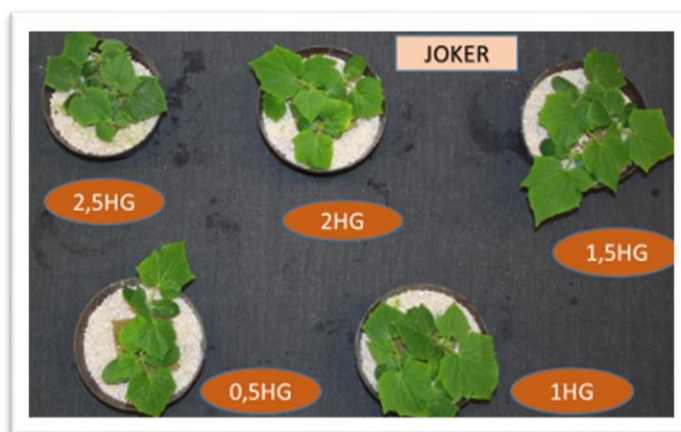
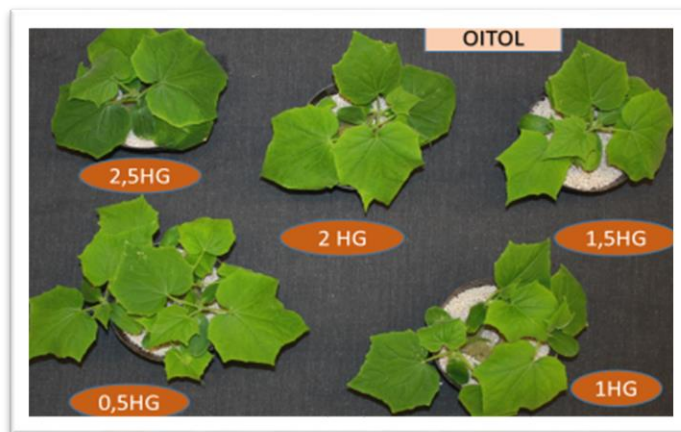


19. ábra. Perlitben nevelt uborkafajták *CsDHN2* és *CsDHN3* géneik kifejeződésének mértéke egyszeri ABA kezelést követően (az ábrán az ABA kezelt növényekből vett minták analízisének eredményei vannak feltüntetve a kontrol növények értékeihez és a *CsActin7*-hez viszonyítva) a sorrend a szemikvantitatív RT-PCR eredményekével azonos. A: Americana, O: Oitol, P: Prior, Sza: Szatmár, Sze: Szenzáció, J: Joker (RT-qPCR eredményeket $\Delta\Delta C_T$ módszerrel határoztuk meg).

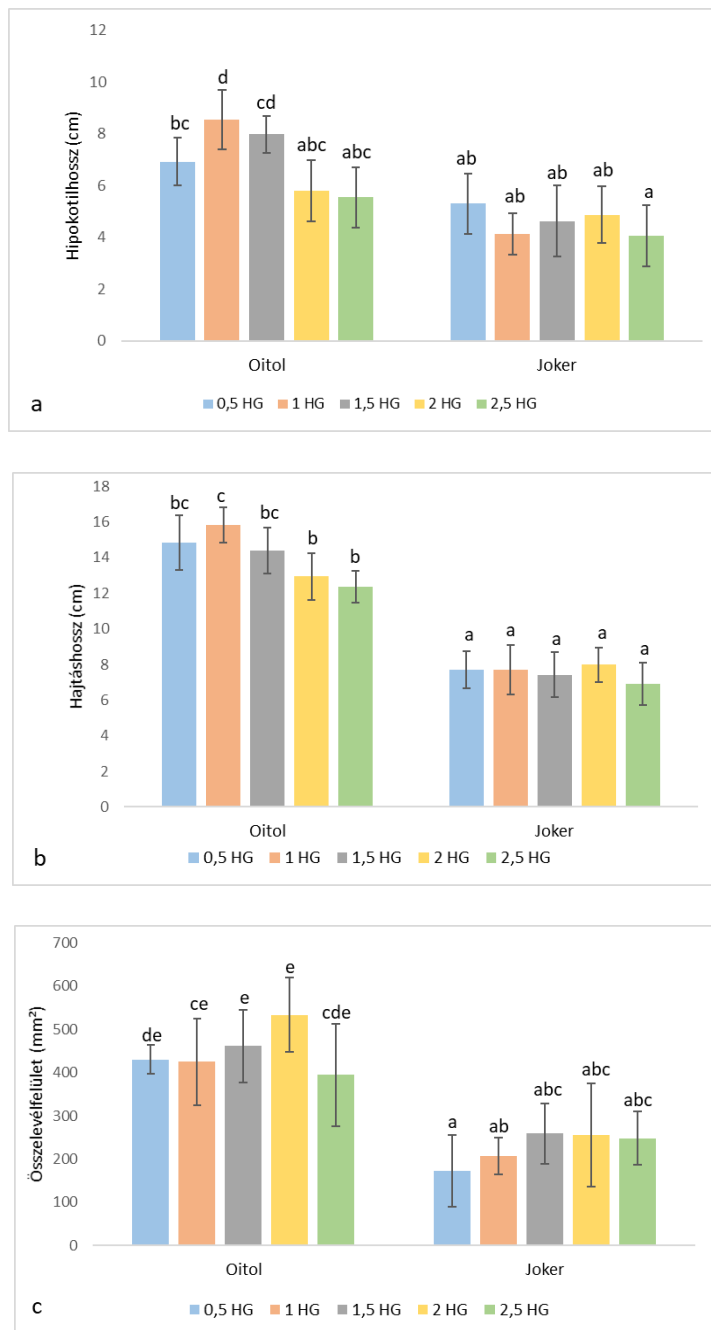
5. Különböző koncentrációjú Hoagland oldattal kezelt uborkafajták vizsgálatai

5.1 Morfológiai paraméterek vizsgálatai

Két uborkafajtát (üvegházi 'Oitol', szabadföldi 'Joker') vizsgáltunk öt különböző töménységű Hoagland oldattal (0,5×, 1×, 1,5×, 2×, 2,5×HG) történő tápoldatozást követően. A két fajta növekedése között jelentős különbséget találtunk, ez a 21 napos uborkanövényekről készült felvételeken is látszik, a 'Joker' fajta kisebb méretű „lombozattal” rendelkezik, mint az 'Oitol'. (20. ábra). Hajtáshossz, hipokotilhossz és összlevélfelület értékek szerint is az 'Oitol' fajta szignifikánsan gyorsabban nőtt, mint a 'Joker' (21/a,b,c ábra). Különböző tápanyag ellátottság mellett a fajtákon belül ugyanakkor szembeötlő különbség a növények növekedésében nem volt tapasztalható.



20. ábra 'Oitol' és 'Joker' uborkafajták különböző töménységű Hoagland oldattal történő tápoldatozást követően (0,5× - 2,5×HG). Az 'Oitol' fajta nagyobb lombozata szemmel látható volt.

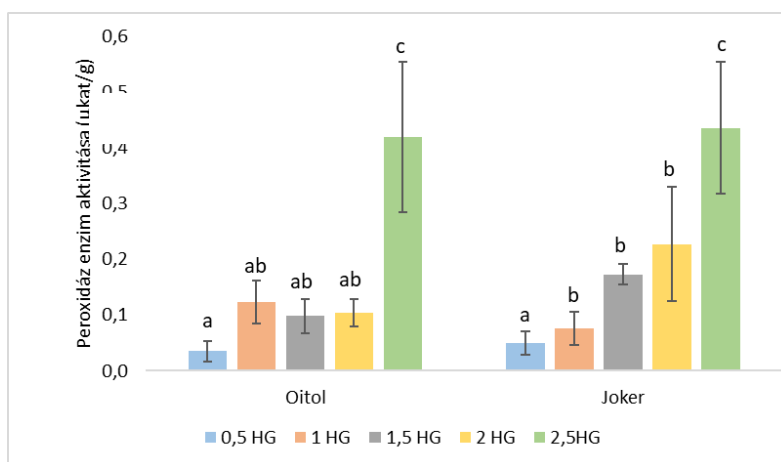


21. ábra. 'Oitol' és 'Joker' uborkafajták (a): hipokotilhossz; (b): hajtáshossz és (c): összlevélfelület értékei különböző töménységű Hoagland oldattal tápoldatozást követően (0,5× - 2,5×HG).

A hipokotilhossz és hajtáshossz alapján az 'Oitol' fajta növekedését az alkalmazott két legmagasabb tápoldat koncentráció (2× és 2,5×HG) a maximális növekedéshez képest (1×HG) már gátolta.(21/a,b ábra). Az összlevélfelület értékek esetében az 'Oitol' fajta szignifikánsan nagyobb értékekkel rendelkezik a 'Joker' fajtához képest mindegyik tápoldat koncentrációnál. Azonban a különböző töménységű tápoldatok alkalmazása egyik fajta esetében sem okozott szignifikáns összlevélfelület változást (21/c ábra).

5.2 Oxidatív stresszre jellemző molekuláris markerek vizsgálatai

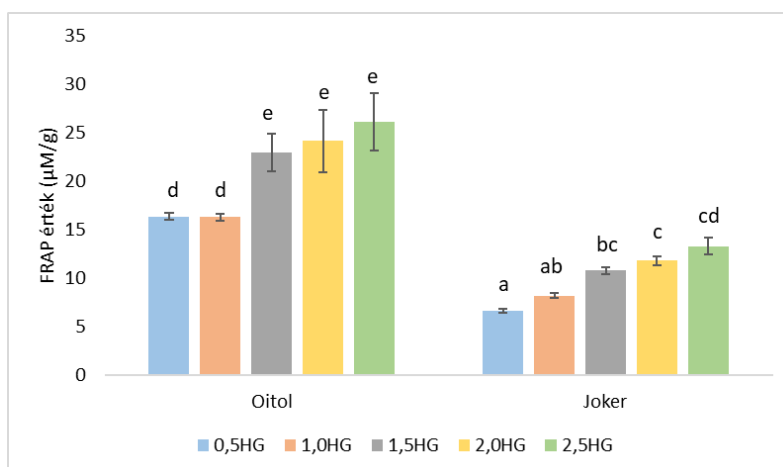
5.2.1 Gvajakol peroxidáz (POD) enzim aktivitása



22. ábra. 'Oitol' és 'Joker' uborkafajták gvajakol-peroxidáz aktivitása különböző töménységű Hoagland oldattal történő tápoldatozás követően (0,5× - 2,5×HG).

A gvajakol peroxidáz aktivitás mérése az Anyag és módszerben ismertetett eljárás szerint történt meg: Maga a mérés a frissen szedett 21. napos növények ('Oitol', 'Joker') leveleiből történt. A 22. ábrán is jól látható, hogy fajtákon belül a kezelések között a 2,5×HG tápoldatozást követően ugrik meg az enzimaktivitás értéke, a fajták között szignifikáns különbség azonban nem mutatható ki.

5.2.2 Antioxidáns kapacitás (FRAP) mértéke

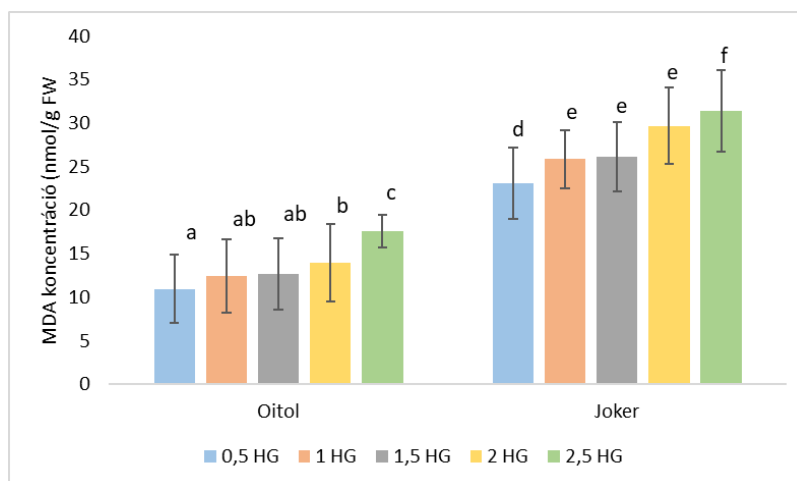


23. ábra. 'Oitol' és 'Joker' uborkafajták FRAP értékei különböző töménységű Hoagland oldattal történő tápoldatozást követően (0,5× - 2,5×HG).

Az antioxidáns kapacitás meghatározása a FRAP módszer alkalmazásával történt meg (Benzie és Strain, 1999). A 'Joker' fajta a standard, 0,5×HG, és megemelt tápoldatozás mellett is

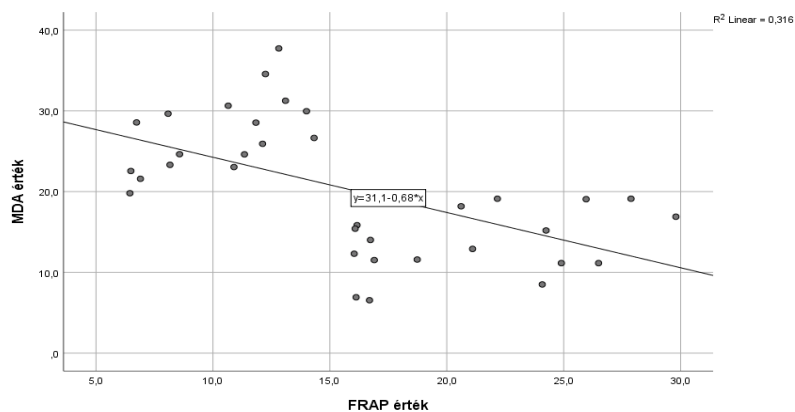
szignifikánsan alacsonyabb FRAP értékekkel rendelkeznek, mint az 'Oitol'. Fajtán belül mindkét esetben az 1,5×, 2× és 2,5×HG kezelés esetében szignifikánsan magasabb FRAP értékeket kaptunk, mint 0,5× és az 1×HG kezelés során (23. ábra).

5.2.3 Malondialdehid (TBARS/MDA) tartalom



24. ábra. 'Oitol' és 'Joker' uborkafajták MDA értékei különböző töménységű Hoagland oldattal történő tápoldatozást követően (0,5× - 2,5×HG).

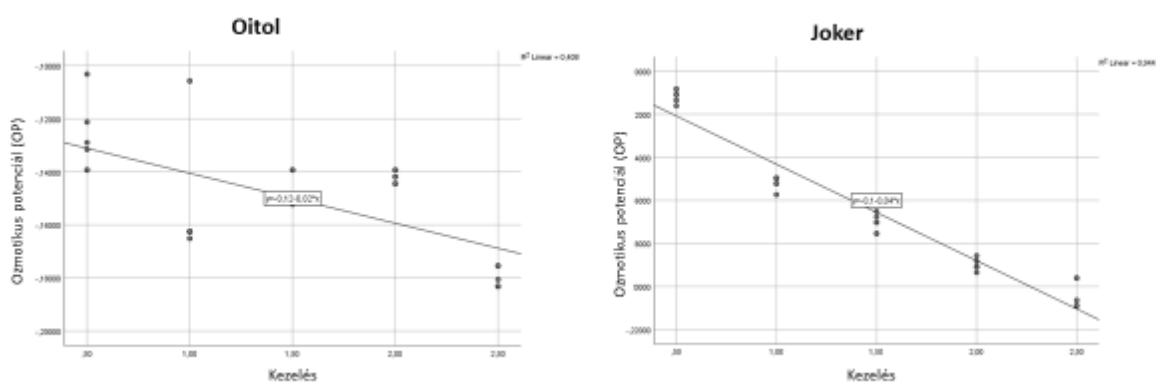
A lipidperoxidáció melléktermékként megjelenő MDA mennyiségét az Anyag és módszerek fejezetben leírt módszerrel határoztuk meg. A 'Joker' fajta esetében szignifikánsan magasabb MDA értékeket kaptunk az összes kezelést illetően. Fajtákon belül is tapasztalható volt különbség az eltérő töménységű HG oldatok alkalmazása után az eredményeket tekintve. Az 'Oitol' és 'Joker' fajtánál is a tápoldat koncentráció növekedésével a MDA tartalom szignifikánsan nőtt (24. ábra). Mindkét fajta esetében kimutatható volt, hogy a levelekben lezajló lipidperoxidáció mértéke és az alkalmazott magasabb tápoldat koncentráció között pozitív korreláció áll fenn (Joker esetében a korreláció értéke $r=0,658$ $p<0,04$; Oitol esetében $r=0,543$, $p<0,02$). A MDA tartalom és a FRAP érték között közepesen negatív korreláció áll fenn ($r= -0,562$, $p<0,01$, 25. ábra).



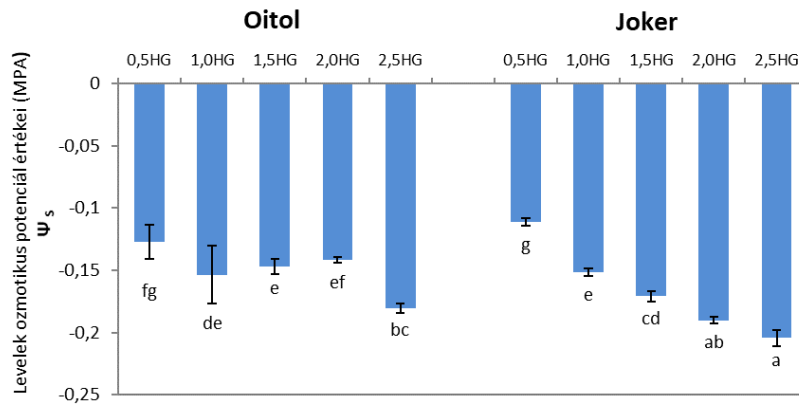
25. ábra. Az MDA értékek és a FRAP értékek között elvégzett Pearson féle korreláció analízis eredménye ($r = -0,562$, $p < 0,01$).

5.3 Ozmotikus potenciál meghatározása

Az ozmotikus viszonyok vizsgálata a két fajta esetében különböző koncentrációjú Hoagland oldatokkal történő tápoldatozást követően, az ozmotikus potenciál meghatározásával történt meg. Eredményeinket tekintve a 'Joker' fajta rendelkezett szignifikánsan alacsonyabb ozmotikus potenciál értékekkel mind az öt HG tápoldatozást követően, mint az 'Oitol' (27. ábra). Fajtákon belül is szignifikáns különbség volt, a töményebb (2-2,5×HG) Hoagland oldatokkal történő kezelés mindkét fajtánál alacsonyabb ozmotikus potenciált eredményezett. Ennek alapján elmondható, hogy a használt tápoldatok tápelem koncentrációja és a növényeken mért ozmotikus potenciál értékek között erős negatív korreláció áll fenn ('Oitol' $r = -0,639$, $p < 0,001$; 'Joker': $r = -0,971$, $p < 0,001$, 26. ábra).

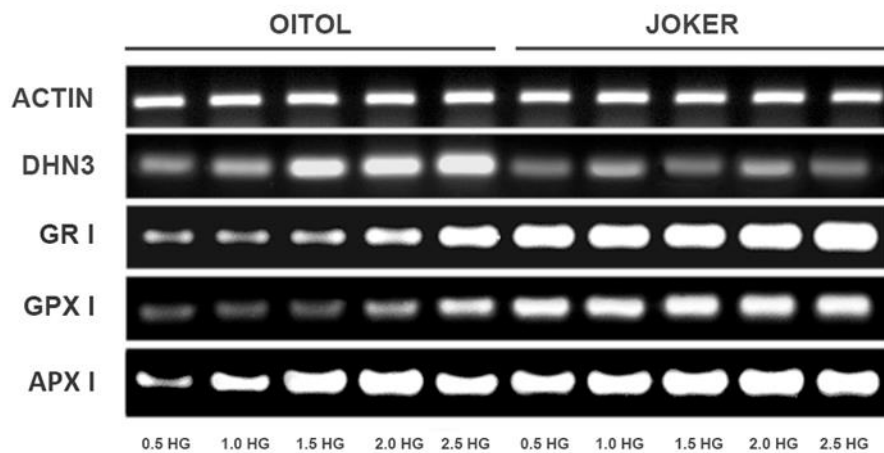


26. ábra. Az ozmotikus potenciál (OP) értékek és a használt tápelem koncentrációk között elvégzett korreláció analízis eredményei.



27. ábra. ‘Oitol’ és ‘Joker’ uborkafajták leveleinek ozmotikus potenciál értékei különböző töménységű Hoagland oldattal történő tápoldatozást követően (0,5× - 2,5×HG).

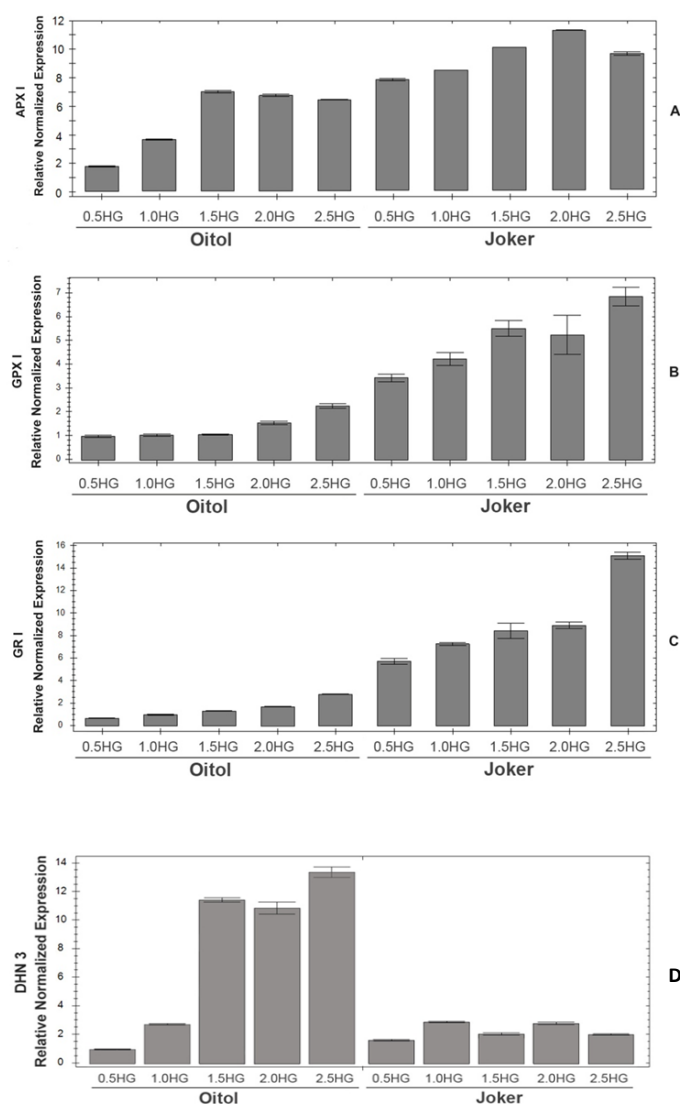
5.4 Antioxidáns enzimeket és dehidrin fehérjéket kódoló gének expressziójának vizsgálata



28. ábra. Az ‘Oitol’ és ‘Joker’ uborkafajták *CsDHN3*, *GRI*, *GPXI*, *APXI* és *Actin 3* gének amplifikációjának eredményei különböző töménységű Hoagland oldattal történő tápoldatozást követően (0,5× - 2,5×HG).

Öt, különböző töménységű Hoagland oldattal tápoldatozott ‘Oitol’ és ‘Joker’ uborka növényeken dehidrin gének és néhány antioxidáns enzim génjének transzkriptum analízise történt meg. Az uborkában négy dehidrin fehérjéket kódoló gén (*CsDHN*) található, melyek expressziója abiotikus stresszek hatására erőteljesebb lesz (Zhou et al., 2018). Ennek a négy *DHN* génnek (*CsDHN1*, *CsDHN2*, *CsDHN3*, és *CsDHN4*) az amplifikációját végeztük el az levél mintákon RT-PCR-rel. A négy *DHN* gén közül csak a *CsDHN3* kifejeződését sikerült

bizonyítanunk, a többi *DHN* gén esetében nem kaptunk terméket. A *CsDHN3* gén szemi kvantitatív RT-PCR eredményei alapján elmondható, hogy az 'Oitol' fajtánál az expresszió különösen erőteljes volt a 1,5×, 2× és 2,5×HG oldatokkal tápoldatozott növényeknél. Ez a trend a 'Joker' fajtánál nem volt megfigyelhető, a megemelkedett tápanyag mennyiség nem befolyásolta a *CsDHN3* gén aktivitását (28. ábra). A qPCR analízis eredményei ezt nagymértékben alátámasztják. A kvantitatív módszerrel szignifikáns különbség volt kimutatható az alacsony és magas koncentrációjú Hoagland oldatokkal tápoldatozott 'Oitol' növények esetében(29/A ábra).

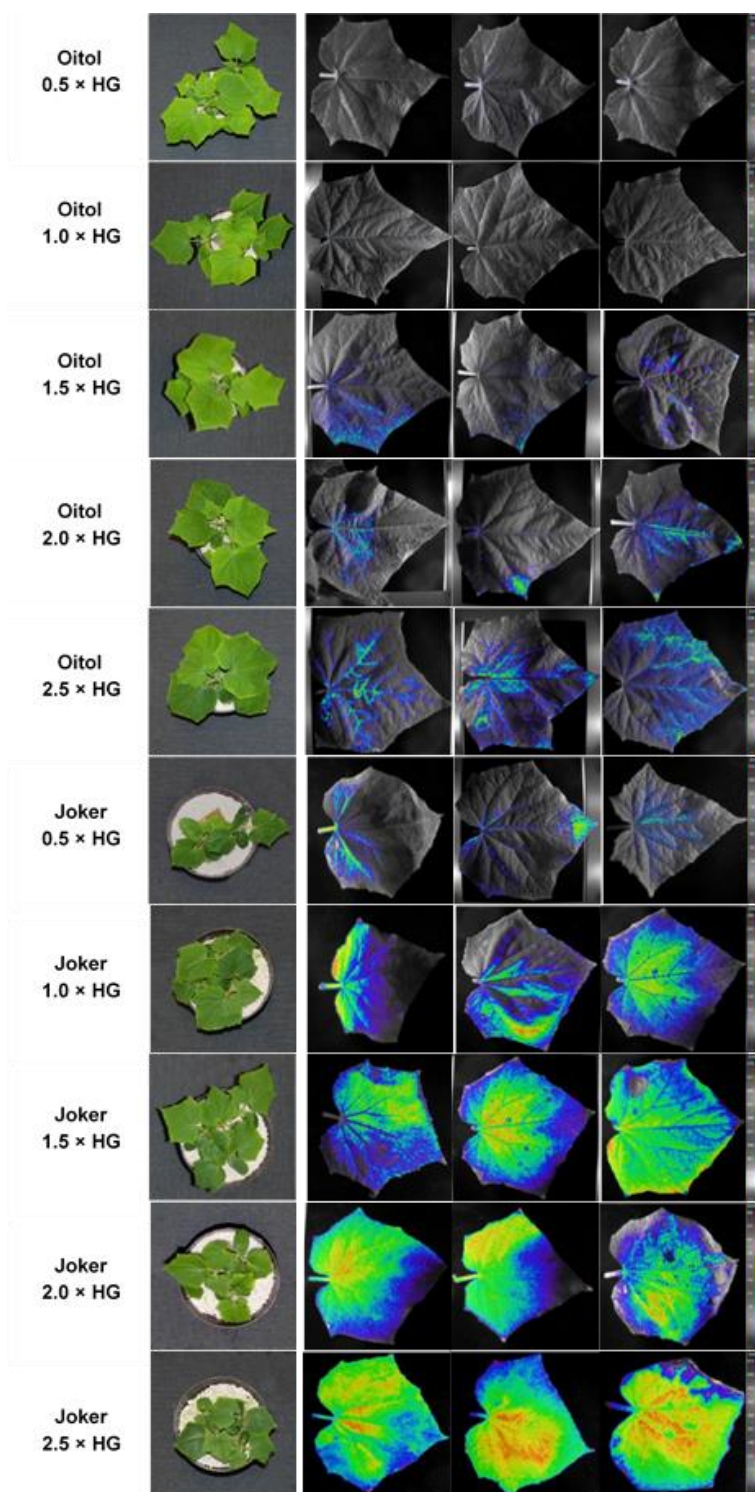


29. ábra. Az 'Oitol' és 'Joker' uborkafajták (A) *CsAPX1*; (B) *CsGPX1*; (C) *CsGRI* és (D) *CsDHN3* gének relatív normalizált expressziója ($\Delta\Delta C_T$ módszer) különböző töménységű Hoagland oldattal történő tápoldatozást követően (0,5× - 2,5×HG).

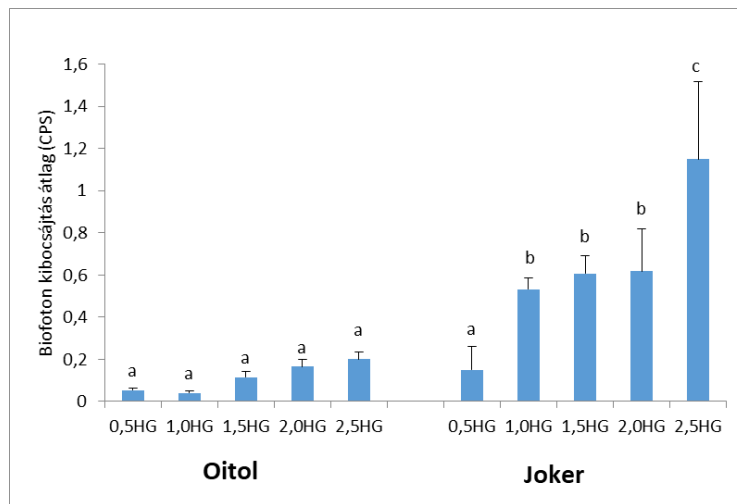
Az antioxidáns enzimeket kódoló gének expressziójának vizsgálata érdekes eredményt adott. Az *APXI* gén expressziója az 'Oitol' fajtánál a „normál” (0,5×HG) tápoldatozásánál alacsony expressziót ad, míg a töményebb Hoagland oldatoknál a gén kifejeződése ugrásszerűen megnő, mintegy négyszeresére az 1.5×HG és töményebb Hoagland oldatokkal történt kezelést követően. A 'Joker' fajtánál minden esetben magas kifejeződés jellemzi a vizsgált gént.

A *GPXI* és a *GRI* gének esetében a két fajta között markáns különbségek láthatók. Az 'Oitol' fajtánál nem látható nagyobb expresszió az egyre töményebb Hoagland oldattal történő tápoldatozás után. Ellenben a 'Joker' fajtánál erőteljesebb a gének kifejeződése, ráadásul az expresszió mértéke a tápoldat töménységével együtt nő. A 2,5×HG oldattal öntözött 'Joker' uborkanövények esetében kiugróan magas értékeket kaptunk, a szignifikáns különbségeket az eredményeken elvégzett Tukey teszt igazolta (p<0.001 Tukey test, Bio-RadCFX Maestro built-in Software, 29/B,C,D ábra).

5.5 Lipid peroxidáció mértékének vizsgálata biofoton emisszió méréssel



30. ábra. ‘Oitol’ és ‘Joker’ uborkafajták leveleiről készült biofoton emissziós felvételek különböző töménységű Hoagland oldattal történő tápoldatozást követően (0,5× - 2,5×HG). . A képkötő berendezés a fotonok mennyiségét vizuálisan pszeudoszinezéssel hasonlította össze 4092 felbontású színskálán, amely a jobb oldalon látható.



31. ábra. 'Oitol' és 'Joker' uborkafajták biofoton emisszió képalkotó analízis mennyiségi eredményei (másodpercenként kibocsájtott foton mennyisége: count per second CPS) különböző töménységű Hoagland oldattal történő tápoldatozást követően (0,5× - 2,5×HG).

Az eredmények a lipidperoxidáció mértékére utalnak.

A lipidperoxidációs folyamatok vizsgálatához az MDA módszer mellett, kiegészítésként az ultra-gyenge biofoton emisszió (UPE) képalkotó analízist alkalmaztuk. Az uborkanövények leveleiről készült felvételeken (30. ábra) alapján látható a 'Joker' fajta erélyesebb oxidatív károsodása a magasabb koncentrációjú Hoagland oldattal történő kezelés során. A mérést követően a levelekből a másodpercenként távozó biofotonok száma is meghatározásra került (CPS érték: count per second). Ezáltal a szabad szemmel nem látható különbségek is jól kimutathatóvá válnak. Az 'Oitol' fajta esetében a különböző kezeléseknél kapott értékek között nincs szignifikáns különbség, a felvételeken látottaknak ez nem mond ellent (30, 31. ábra). A 'Joker' fajtánál a legalacsonyabb érték a 0,5×HG kezelésnél született, a következő értékcsoporthoz a 1×, 1,5×, valamint a 2×HG oldattal kezelt növények adják, a kiugróan legmagasabb érték a 2,5×HG kezelés során keletkezett. Ez arra enged következtetni, hogy a 'Joker' fajta oxidatív károsodása jelentősen nagyobb, mint az 'Oitol' fajtáé különösen a legtöményebb, 2,5×HG tápoldatozás esetében. Összefoglalva eredményeinket elmondhatjuk, hogy a normál és emelkedő tápoldatozásnál az 'Oitol' antioxidáns kapacitása jellemzően nagyobb, lipidperoxidációja kisebb a 'Jokernél'. Koncentráltabb tápoldatozás az 'Oitolban' a *DHN3* gén expresszióját specifikusan megnöveli.

KÖVETKEZTETÉSEK

1. Élettani kísérletek tőzegbe vetett uborkák esetében

1.1 Morfológiai paraméterek

A kísérletek során három üvegházi és három szabadföldi uborkafajtát hasonlítottunk össze a vizsgált növekedési paraméterek (hipokotilhossz, hajtáshossz, gyökérhossz, szárazanyag-tömeg, összlevélfelület, sziklevélfelület) alapján. Feltételeztük a kísérlet beállításakor, hogy az üvegházi fajták értékei magasabbak lesznek minden paraméter esetében, mint a szabadföldieké.

Irodalmi adatok szerint, jellemzően az üvegházi fajták intenzívebb növekedésűek, támrendszeres természet mellett képesek magasra felkúszni, így növelik a tenyészterületüket és megfelelő tápanyagellátottság mellett a levélfelületüket is, mely által fokozódik az asszimiláció mértéke. A növény számára optimális levélfelülettel fokozódik a fotoszintézis mértéke és a termés mennyisége is nőhet (Futó, 2003). Hajtáshossz tekintetében az üvegházi fajták általában magasabb értékeket adtak a szabadföldiekhez képest, ez fokozott megnyúlásos növekedésükre utal. Az összlevélfelület értékek vizsgálatakor szignifikáns különbséget találtunk a szabadföldben termesztett fajták és az üvegházi fajták között, utóbbiak rendelkeztek magasabb értékekkel. A mérések során megfigyeltük, hogy az 'Oitol' üvegházi fajta értékei a hajtáshossz mellett a levélszám és összlevél felület tekintetében is magasabbak voltak a többinél. Az 'Oitol' növények azonos körülmények között több és nagyobb levelet tudtak nevelni, mint a másik öt fajta egyedei. Így ez az üvegházi fajta az alkalmazott körülmények között valóban erősebb megnyúlásos növekedésű és valószínűleg nagyobb termés produkcióra is lehet képes. A vizsgált 'Joker' hibrid ugyanakkor a szabadföldi fajtákra tipikusan jellemző módon viselkedett, megnyúlásos növekedése és levélfelület kiterjedése is visszafogott volt. A megnyúlásos növekedésre tett megfigyelést a fajta típusok eltérő igényei okozhatják. Az egyes szabadföldi és üvegházi fajták más-más környezeti viszonyokhoz és nevelési körülményekhez kell, hogy alkalmazkodjanak termesztéstechnológiájukból adódóan. Így feltételezhető, hogy emiatt másképp reagálnak az alkalmazott tápközegekre és kontrollált nevelési körülményekre (Ackerl et al. 2004).

1.2 A fotoszintetikus aktivitás mérése

Több kísérletben is alátámasztották, hogy a levélfelület és a fotoszintetikus teljesítmény kapcsolata jelentős a növekedésben és a termésképzésben is, illetve, hogy a megnövekedett levélterület pozitív hatással van a fotoszintézis volumenére. Így a növény kondíciója javulhat, betegségellenállósága és stressztűrése is nőhet (Vári, 2014; Skribanek et al. 2016). Jelen esetben az egységnyi felületre vonatkozó fotoszintetikus aktivitást mértük. A mérési eredményeinket tekintve nem volt található szignifikáns különbség a két fajtacsoport között.

Az üvegházi fajták egyedeinek fotoszintetikus aktivitása nem volt magasabb a szabadföldiekénél. Eredményeink azt mutatják, hogy az A értékek minden fajta esetében hasonlóak, egyedül a 'Prior' értékei haladják meg a többi fajtáét. Ha az egységnyi felületre jutó fotoszintetikus aktivitások közel azonosak, a nagy levélfelületű fajták teljes fotoasszimilációs produkció mértéke nagyobb lesz. Az ilyen üvegházi fajták nagyobb termés produkcióra lehetnek képesek, a szabadföldi fajtáknál a több fotoasszimilátum magasabb stressztűrő képességet eredményezhet. Eredményeinket érdemes lenne további kísérletekkel kiterjeszteni, több fajtán, nagy elemszámú mintákon tovább vizsgálni.

2. Élettani kísérletek perlitben vetett uborkák esetében

2.1 Morfológiai paraméterek

Kísérleteinket kontroláltabb közegben folytattuk, perlitben történő nevelést követően mértük a hat fajta növekedési paramétereit (Eredmények 2. fejezet). A fajtacsoportok közötti különbségek itt is jól láthatók. A hipokotilhossz esetében az üvegházi, a gyökérhossz esetében a szabadföldi fajták adtak magasabb értékeket. Feltehető, hogy az üvegházi fajtáknál tapasztalt erőteljesebb megnyúlásos növekedést a kontrollált környezeti feltételek teszik lehetővé, míg a szabadföldi fajtáknál a mélyre hatoló gyökérzet biztosíthatja a megfelelő víz utánpótlást. Érdekes módon a sziklevegfelületet a megnyúlásos növekedéssel korreláló, érzékeny paraméternek találtuk, ezt az adatokon végzett korreláció analízis eredményei is alátámasztották. Ez az egyszerűen lemérhető növényi rész a nemesítési vonalak szelekciójában lehetőséget adhat a növekedési erély korai megállapítására.

3. Tápanyagellátottság hatása 0,125× és 0,5× erősségű Hoagland oldatok alkalmazásával

A különböző összetételű tápoldaton nevelt uborkák esetében jelentős különbségek voltak tapasztalhatóak a morfológiai paraméterek tekintetében (Li and Cheng, 2015). A hajtáshossz mérések adatai jól alátámasztják azt a tényt, hogy az üvegházi uborkafajták nagyobb megnyúlásos növekedésre képesek (0,5×HG értékek). A tápoldat koncentráció lecsökkenését (0,125×HG) ugyanakkor jobban megsínylik, arra érzékenyebbek. A szabadföldi hibridek megnyúlása 0,5×HG-on kisebb mértékű, de az 0,125×HG-on nem változik. A mért hipokotil hosszak is hasonló tendenciát mutattak, de kevésbé bizonyultak érzékeny paraméternek. A hajtás szárazanyag-tömeg értékek normál (0,5×HG) tápoldatozásnál szintén az üvegházi hibrideknél voltak magasabbak. Mivel a szárazanyag-tömeg és hajtáshossz különbségei a fajtacsoportok között hangsúlyosabbak az összlevélfelület különbségeknél, ezért feltételezhető, hogy az üvegházi fajták erőteljesen megnyúló száraikban mutathatnak nagyobb biomassza gyarapodást. A száruk biomassza értékeit azonban kísérleteinkben külön nem vizsgáltuk. Az üvegházi fajták érzékenysége és a szabadföldi fajták érzéketlensége a

táploldatkoncentráció csökkentésére minden mért paraméter esetében megmutatkozott. Jellemzően az üvegházi fajták erősebb növekedésűek, támrendszeres termesztés mellett képesek magasra felkúszni, így növelik a tenyészterületüket (Futó, 2003). Eredményeink ezt a tényt nagyban alátámasztják, továbbá az üvegházi fajták tápanyaghiányra való fokozottabb érzékenységét is jelzik.

4. Külsőleg alkalmazott ABA hormonnal történő kezelés

4.1 *In vitro* kísérletek

A hajtás és gyökér növekedését számos tényező befolyásolja, többek között az abszcizinsav (ABA) hormon gátolhatja azokat. Ebből kifolyólag a hormon külsőleg történő alkalmazásával az előidézett gátlás mértékének vizsgálatával egy genotípus ABA érzékenysége, ezáltal a stresszel szembeni toleranciája is jól demonstrálható. Mindez a megvilágítástól független úton zajlik, a növekedés gátlása az aktív gibberellinek (GA) bioszintézisének gátlásán keresztül. Ezt *Arabidopsis thaliana* növényeken végzett kísérletek is nagyban alátámasztják (Lorrai et al., 2018). Méréseink kezdetén azt feltételeztük, hogy a szabadföldön termesztett fajták esetleg érzékenyebben reagálnak a külsőleg alkalmazott ABA-val történő kezelésre. Az ABA segíti a növényt a száraz időszakokban a jobb alkalmazkodáshoz a gázcsere nyílások záródásának szabályozásával, valamint például a hajtás növekedés gátlásával. Az üvegházban nevelt fajták közel optimális feltételek mellett növekednek, emiatt esetükben a stresszhormonok hatásai kevésbé kell, hogy megnyilvánuljanak. Eredményeink alapján elmondható, hogy az ABA kezelt és kontroll uborkafajták gyökérhossz értékei között találtunk szignifikáns különbséget. A szabadföldben természetesen és üvegházban hajatott fajták válaszai között azonban nem volt egyértelmű különbség. A gyökérhossz értéket tekintve bár a 'Szenzáció' fajta kiugró értéket adott, sajnálatos módon ez a fajta tűrte a legkevésbé az *in vitro* körülményeket, így kevés számú minta állt rendelkezésünkre az eredmények értékeléséhez. A gyökér hosszának mérése alapján tehát nem találtunk egyértelmű bizonyítékot az ABA érzékenység különbségére, ami az eltérő stressztűrőképességet magyarázhatná. A hajtás friss tömegének méréséből azonban az következtetés vonható le, hogy az üvegházi fajták érzékenyebben reagáltak az abszcizinsavra. Ez a megfigyelés arra utal, hogy esetleg a növények szöveti ABA koncentrációja lehet eltérő. Így a szabadföldi fajtáknál az eleve (feltételezhetően) magasabb szöveti szintű ABA hatásaihoz képest kisebb mértékű további növekedésgátlási választ látunk külső abszcizinsavas kezelésénél. A feltevést a vizsgált fajták szöveti ABA koncentrációinak meghatározása válaszolhatja meg.

4.2 A külsőleg alkalmazott abszcizinsav hatása a *CsDHN* fehérjék kifejeződésére perlitben vetett uborkáknál

A *DHN* géncsalád jelentős szerepét az abiotikus stresszválaszban kutatások bizonyítják. A dehidrinek abszcizinsav indukálhatósága fehérje és mRNS szinten is jól tanulmányozott folyamat, számos stresszfolyamatot kísér (Greather és Boddington, 2014). Kísérleteinkben a külsőleg alkalmazott ABA kezelés hatására mindegyik vizsgált fajta esetében a *CsDHN2* dehidrin gén erőteljes indukciója volt megfigyelhető. A *CsDHN3* kifejeződése ugyanakkor a kontroll növényekben is magas volt. A *CsDHN3* mindenkori megemelkedett expressziója magyarázható azzal, hogy poszttranszlációs módosításokon keresztül történik működésének szabályozása. Maga a gén kifejeződik stresszmentes esetekben, de a géntermék a stresszek fennállásakor lép működésben. Ezt a jelenséget korábbi kutatások is bizonyították (Kalemba és Pukacka 2014; Kosová et al., 2014). A megfigyelésünk ugyanakkor jelentheti azt is, hogy a géntermék feladata más, nem vesz részt a stresszválaszokban. Ellenben a *CsDHN2* dehidrin transzkripció szinten indukálódik ABA kezelés hatására. A dehidrinek fehérje szintű ABA indukcióját a tanszékünkön folyó Western blot vizsgálatok eredményei alátámasztották. A dehidrinek fehérje szintű indukciójában különbség volt fellelhető az üvegházi és a szabadföldben termesztett fajták között (Szegő et al., 2019), transzkripció szinten azonban hasonló különbséget nem sikerült kimutatni.

5. 'Oitol és 'Joker' uborkafajtákkal végzett kísérletek eredményei különböző töménységű Hoagland oldattal történő tápoldatozást követően

A szabadföldi és üvegházakban történő uborkatermesztés esetén lényeges különbség van a növények termesztési körülményeiben. Az üvegházi fajták rendre nagyobb tápanyagigénnyel és nagyobb méretű terméssel rendelkeznek, mint szabadföldben hajtattott társaik. Utóbbiak azonban jóval toleránsabbak a kedvezőtlen körülményekkel és a vízhiánnyal szemben. Kísérleteinkben a két eltérő termesztési típusú fajtacsoport élettani válaszai és az azok mögötti molekuláris különbségek, mechanizmusok feltárására törekedtünk. Elsőként a morfológiai különbségeket vizsgáltuk (pl. összlevélfelület, hajtás- és hipoktilhossz), ezt követően néhány molekuláris marker és génaktivitás között kerestünk különbségeket. Kísérleteink során eltérő tápoldat koncentrációnak tettük ki a genotípusokat, mert a növényanyag jellegéből adódóan a válaszaikban különbségeket vártunk.

5.1 Morfológiai paraméterek és a tápanyagellátottság

Korábban több kutatás irányult az optimális tápoldat összetételének és a benne található tápelemek megfelelő beviteli formájának kidolgozására számos növényfaj esetében (Hoagland and Arnon, 1950; Ingestad, 1973). A vizsgálatainkhoz az egyik leggyakrabban alkalmazott tápoldat típust, a Hoagland-ot választottuk, amelynek növekvő koncentrációjára

adott válaszokat figyeltük a vizsgált uborka típusokban. Elsődlegesen növekedési válaszokat vizsgáltunk, mert a növényeket érő stresszhatásoknak az egyik legjobb indikátora a gátolt növekedés (Zhang et al., 2017). Feltételeztük, hogy a túlzott tápanyagbevitelnek is lehet ilyen hatása. Ugyanakkor irodalmi adatok szerint üvegházban nevelt uborkánál az általánosan ajánlott koncentrációjú tápoldatnál 1,25× töményebb tápoldat alkalmazása erőteljesebb termésprodukción, növekedést és hozamot eredményezett (Feleafel et al., 2014).

Öt különböző erősségű (0,5×, 1×, 1,5×, 2×, 2,5×) Hoagland oldattal történő tápoldatozás hatásának vizsgálatát végeztük el 'Oitol' és 'Joker' uborkafajtákon. A továbbiakban ezt a két fajtát használtuk, mert a korábbi kísérletek tapasztalatai alapján ezek mutatták stabilan a két termesztési típusra jellemző, eltérő növekedési tulajdonságokat. A mért eredmények alapján megerősítést nyert, hogy a két fajta közül az 'Oitol' rendelkezett szignifikánsan magasabb összlevélfelület értékekkel. A töményebb (1,5×, 2×, 2,5×) Hoagland oldat alkalmazása azonban nem eredményezett szignifikánsan nagyobb levélfelületet egyik fajta esetében sem. A hipokotilhossz és a hajtáshossz mindkét fajta esetében 1×HG koncentrációig nőtt, ez azonban csak az 'Oitol' hipokotilhossz esetében volt szignifikáns. A növekedés hátterében a tápanyagtöbblet állhat. Az összlevélfelület értékek a 2×HG koncentrációig nőttek, 2,5×HG esetében csökkentek, a különbségek azonban nem voltak szignifikánsak. A hipokotilhossz és a hajtáshossz értékek szerint a magasabb tápoldat koncentrációknál növekedés visszaesés történt, ami az 'Oitol' fajta esetében szignifikáns is volt. A magasabb koncentrációjú (1,5×, 2×, 2,5×) tápoldat esetében a növekedés visszaesés hátterében több tényező állhat. A tápoldat ozmotikus hatása következtében a vízpotenciál grádiens a talaj és gyökerek sejtszejtjei között csökkent. A vízfelvétel így gátlódik, a növényben ozmotikus stressz alakul ki (Zhang et al., 2017), amely hátrányosan befolyásolja a növekedést. A túlzott tápanyagfelvétel az ionok homeosztázisát is megbonthatja. Ez magyarázhatja, hogy a 2,5×HG oldaton nevelt 'Oitol' növények kisebb méretűek voltak, mint az 1×HG-al tápoldatozottak. A 2,5×HG oldaton nevelt növények levelei sötétebb zöld színűek voltak, mint az alacsonyabb koncentrációjú oldatokon nevelteké. Ez a megfigyelésünk azonban csak szemrevételezéssel történt, klorofill tartalmat a kísérletek során nem mértünk. A sötétebb szín a nitrogén NO_3^- formájában történő túlzott bevitelével magyarázható (Alan, 1989), amely a klorofill mennyiségének növekedését okozza a levelekben, így fokozott zöld pigmentáció figyelhető meg (de Bever et al., 2012).

5.2 Oxidatív stressz és a stressztolerancia kapcsolata

Számos stresszfolyamatot reaktív oxigénformák (ROS) megjelenése kísér a növényi szervezetben (You és Chan, 2015). Ennek egyik következménye a sejtek, szövetek károsodása, ha a ROS magas koncentrációban vannak jelen. Ellenben alacsonyabb

mennyiségű ROS szignál transzdukciós folyamatok beindításában és a stressz tolerancia kialakulásában vehetnek részt (Apel és Hirt, 2004; Goreta et al., 2008; Li et al., 2013).

A sejtszintű károsodás egyik fajtája a lipidperoxidáció, amely során malondialdehid képződik, ami kiváló markere a folyamatnak (Hegedűs és Stefanovicsné, 2012; Zhang et al., 2008; Zhu et al., 2008). Az oxidatív károsodás mértékéből következtethetünk az adott fajta stressztűrő képességére. Niu és munkatársai 10 uborkafajtán végzett kísérletei például a malondialdehid tartalom és a só-tűrés mértéke közötti negatív összefüggést mutatták ki (Niu et al., 2018).

A szabadföldben termesztett uborkafajták magasabb stressztoleranciával rendelkeznek, mint az üvegházban neveltek (Szegő et al., 2019). Termesztési technológiájuk miatt ezeknek a fajtáknak jobban kell alkalmazkodniuk a viszontagságosabb körülményekhez, mint üvegházban nevelt társaiknak. Az őket fokozottan érő, legjelentősebb stressztényezők az alacsony hőmérséklet és a csapadékhiány. Az üvegházban, gyakran talajmentes termesztőközegben nevelt növények más stressztényezőkkel szemben kell ellenállóknak lenniük. Az ilyen kultúrákat jellemzően intenzíven tápoldatozzák, ami túlzott tápanyagbevitel által okozott stresszt indukálhat. Feltételezésünk szerint az üvegházi fajták ezzel a stresszel szembeni fokozottabban ellenállóak. Ilyen irányú vizsgálataink a stressztolerancia oxidatív tényezőjére koncentráltak, mert a hasonló jellegű sóstressz és nitrát stressz esetében jól ismert az oxidatív stressz komponens megjelenése. Eredményeink alapján elmondható, hogy a magasabb koncentrációjú Hoagland oldatok alkalmazása a szabadföldi 'Joker' fajtánál erőteljesebb oxidatív választ generált, mint az üvegházi 'Oitol' esetében. Magyarozatként szolgálhat az, hogy az üvegházi fajták esetében a rendszeres, intenzív tápoldatozás hatására, gyakran talajnélküli közegben történő nevelés során ezek a fajták jobban alkalmazkodtak a túlzott tápanyagbevitelhez, mint a szabadföldiek. A megemelkedett mennyiségű ásványi anyagokat hatékonyabban hasznosítják, gyorsabban növekednek. A szabadföldiek esetében a túlzott tápanyagbevitel erélyesebb stresszállapotot idézhet elő (ozmotikus stressz, oxidatív stressz). Ha az üvegházi fajta ('Oitol') gyorsabban növekvő szöveteibe hatékonyabban építik be az ásványi elemeket, ez magasabb ozmotikus potenciállal jár együtt. A lassabban növvő 'Joker' fajta szöveteiben a felesleges sók tárolódhatnak (pl. vakuólumokban), így az ozmotikus potenciál is alacsonyabb. A 'Joker' fajtánál tapasztalt alacsonyabb ozmotikus potenciál értéke mögött az állhat, hogy a fajta jobban akkumulálja a feleslegben felvett ionokat, ellenben az 'Oitol' fajtával, amelynek fokozottabb tápanyaghasznosítása révén kevésbé halmozódhatnak fel az ionok, így ozmotikus stressz kevésbé alakul ki. Eredményeink alapján elmondható, hogy a két fajta ásványi tápanyaggazdálkodása között jelentős különbség van. Az ozmolitok által kialakított

ozmotikus egyensúly beállításában (osmotic adjustment: OA) különbségek valószínűsíthetőek, ennek vizsgálatához azonban további kísérletek szükségesek.

A malondialdehid (MDA) meghatározás és az antioxidáns kapacitás (FRAP) mérés eredményei együttesen utalnak a két fajta különböző tápoldatozást követően kialakuló, eltérő toleranciájára. Magasabb MDA tartalom erősebb lipidperoxidációra utal, amely összhangban van az alacsonyabb mértékű antioxidáns kapacitás értékekkel. Vélhetőleg az antioxidáns rendszer kevésbé tudta kivédeni a megnövekedett tápanyagok hatásaként fellépő oxidatív stresszt a 'Joker' fajta esetében, kevesebb antioxidáns mellett jobban kialakulhatott a lipidperoxidáció a képződő ROS vegyületek hatására. Az oxidatív stressz kialakulását a megnövekedett tápanyagkoncentráció által kiváltott ozmotikus stressz okozhatta, amely mértéke a 'Joker' esetében volt erősebb, amelynél alacsonyabb ozmotikus potenciált okozott a töményebb Hoagland oldatokkal (1,5×, 2×, 2,5×HG) történő tápoldatozás. A magasabb koncentrációjú tápelemek az ozmotikus stresszhatáson kívül másképp is okozhatnak oxidatív károsodást. A túlzott mennyiségben bevitt nitrogén (N) nitrát formájában önmagában is oxidatív stresszt indukál, számos kísérlet eredménye ezt igazolja (Yang et al., 2010; Zhang et al., 2017; Ueda et al., 2017; Chang et al., 2018; Sperling et al., 2019). A nitrát csökkenti az antioxidáns rendszerek aktivitását, ezzel a ROS vegyületek akkumulálódását segíti elő (Kong et al., 2017). Számos biológiai anyagcsere folyamatot spontán biofoton kibocsátás kísér. Többek között a lipidperoxidációs folyamatokat is aktív biofoton emisszió jellemzi. A biofotonok kibocsátásának mértékéből közvetve következtethetünk a vizsgált növény oxidatív állapotára (Birtic et al., 2011). A két fajta ('Oitol' és 'Joker') leveleiről a NightShade LB 985 kamera rendszer által készített felvételek segítségével jelentős különbség volt kimutatható a fajták között, különböző töménységű Hoagland oldattal való tápoldatozást követően. A növekvő töménységű Hoagland oldat alkalmazása a 'Joker' fajta esetében erőses oxidatív stresszt váltott ki, míg az 'Oitol'-nál nem történt szignifikáns foton kibocsátás emelkedés. Ez látható volt a felvételeken, amit a másodpercenkénti kibocsátott foton mennyiségek jól alátámasztottak. A dehidrinek nagymértékben segíthetik az egyes abiotikus stresszekkel szemben kialakuló toleranciát. Kifejeződésük mértéke szövetspecifikus, azonban különböző stresszhatások erőteljes expressziójukat vonja maga után (Allagulova et al., 2007; Yu et al., 2018). Uborkában négy *DHN* gént izoláltak (Zhou et al., 2018). Uborkafajtákban dehidrin gének különböző mértékű expresszióját figyelhettük meg vízmegvonás, valamint külsőleg alkalmazott ABA hatására (Szegő et al., 2019). Kísérleteinkben a *DHN* gének kifejeződését a 'Joker' és 'Oitol' fajtáknál vizsgáltuk, fokozott tápoldatozás mellett. A kísérleti körülményeink mellett a *CsDHN1*, 2 és 4 gének kifejeződése nem volt kimutatható.

A *CsDHN3* gén expresszióját ki tudtuk mutatni, ennek kifejeződése a 'Joker' fajta esetében alacsony volt. Ennél a fajtánál a kontroll körülmények és a tápelem stresszhatás során mért *CsDHN3* gén expresszió mértékek között nem volt szignifikáns különbség. Ellenben az 'Oitol' esetében 1,5x HG tápelem koncentrációnál, és e fölött a gén kifejeződési szintjei már jelentősen magasabbak voltak. A megfigyelés a DHN3 fehérje valószínűsíthető ozmotikus, illetve oxidatív stressz ellen védő funkciójával hozható összefüggésben. A dehidrinek egyik fő feladata a K szegmenshez köthető, amely membránokhoz kapcsolódó szerepet lát el (Abedini et al., 2017; Yu et al., 2018). Továbbá a DHN3 fehérje az SKn típusú dehidrinek közé sorolható, amelyek membránvédő funkcióval is rendelkeznek, így a lipidperoxidációs folyamatokat gátolhatják. Ez a megállapítás jól illeszthető a lipidperoxidáció mértékére irányuló vizsgálataink eredményeivel. Az eredmények alapján tehát a túlzott tápanyagbevitel során fellépő stressz elleni védelemben valószínűsíthető a DHN3 fehérje szerepe. Így az 'Oitol' fajtánál tapasztalt alacsonyabb szintű oxidatív károsodás (és biofoton emisszió) jól megmagyarázhatóak. Magasabb *CsDHN3* expresszió mellett az 'Oitol' fajta leveleiben a megnövekedett tápelem koncentráció hatására kialakuló lipidperoxidációs folyamatok nem voltak számottevőek a 'Joker' fajtához képest. A *CsDHN* gének kifejeződési mintázatát Zhou és mtsai vizsgálták 2018-ban, eredményeik alapján a *CsDHN2* és 3 gének kifejeződési mintázatát hasonlóknak találták, ami leginkább a szár, termés, virág szöveteiben volt erőteljes, a gyökérben, levelekben kevésbé. Eredményeik összevethetők a saját adatainkkal, ahol *CsDHN3* gén mRNS-e alap tápoldat koncentráció esetén kis mennyiségben volt jelen a levelekben. A *DHN2* YnSKn típusú, glicinben és hisztidinben gazdag dehidrin, amely ROS elimináló funkcióval bír. Fokozott tápoldat stressz esetén azonban ennek a génnek az indukcióját nem tudtuk kimutatni. A *CsDHN1* gén nem fejeződött ki (valószínűleg pszeudogén). A *CsDHN4* kifejeződését levelekben találták meg, ezt azonban mi nem tudtuk megerősíteni sem normál, sem megemelt tápoldatozás mellett. Az idézett eredmények és saját adataink arra utalnak, hogy a négy uborka DHN fehérje szerepe biztosan különböző a növény életében és stresszválaszai során (Zhou et al., 2018). Ezek közül kísérleteink a DHN3 különleges szerepét bizonyítják magas tápelem ellátás okozta stressz esetén.

Mivel eredményeink a két vizsgált fajta oxidatív stressz állapotában jelentős különbségeket tártak fel, vizsgáltuk az antioxidáns rendszerekben szereplő gének kifejeződését is. Az egyik legfontosabb ilyen rendszer az aszkorbát glutation ciklus, amelynek egyik kulcs szereplője az aszkorbát (APX) enzim, amely a hidrogén peroxid eliminálásában vesznek részt a növényi sejtekben (Janda, 2004). Abiotikus stresszek esetén az APX és a GPX gének erőteljesebb expressziója figyelhető meg (Hu et al., 2008). A glutation reduktáz (GR) az oxidált glutation

(GSSG) regenerációját végzi, a stressz tolerancia kialakulásában jelentős szerepe van (Davey et al., 2000). Mindhárom enzim génjeinek expressziója alapvetően nagyobb volt a 'Joker' fajtánál, már normál tápoldatozásnál is ($0,5 \times \text{HG}$, $1 \times \text{HG}$), mint az 'Oitol' esetében. Magasabb tápoldat koncentrációk esetén az antioxidáns enzimek génkifejeződése jellemzően emelkedett, a 'Joker' fajta esetén mindig magasabb szinten, mint az 'Oitol'-nál. Ez a 'Joker' fajtában lévő erőteljesebb oxidatív stressz jelenlétére utal (fokozott aszkorbát-glutation ciklus áll fenn). Összességében elmondható, hogy a 'Joker' fajta nehezebben birkózik meg a túlzott tápanyag bevitel által kiváltott oxidatív stresszel. A ROS felszaporodásának egyik oka lehet az alacsonyabb ozmotikus potenciál értékeket is okozó ionok nagyobb mennyisége, amelyek már toxikus hatásúak lehetnek. Az 'Oitol' fajtánál a dehidrin (*DHN3*) gén indukciója feltehetően hozzájárul a stressz védelemhez.

ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

Az uborkafajtákkal történő kísérletsorozataink eredményei tükrében a következő új tudományos eredményeket állapíthatjuk meg:

1. A három szabadföldi ('Szatmár', 'Szenzáció', 'Joker') és a három üvegházi uborkafajtákat ('Americana', 'Prior', 'Oitol') részletesebben vizsgáltuk morfológiai paramétereiket tekintve, és jelentős különbségek lehettek fel a fajták között. Megállapítottuk, hogy a szabadföldi fajták gyökere jellemzően hosszabb az üvegházban hajtított fajtáknál. A sziklevelelfületet a megnyúlásos növekedéssel korreláló, érzékeny paraméternek találtuk. Ez az egyszerűen lemérhető növényi rész a nemesítési vonalak szelekciójában lehetőséget adhat a növekedési erély korai megállapítására.
2. A vizsgált fajták abszcizinsav érzékenysége különböző. Elmondható, hogy a külsőleg alkalmazott abszcizinsav a szabadföldi fajták hajtás megnyúlását alig befolyásolja, azonban az üvegháziak növekedését jelentősen visszafogja. Ami az ABA növényi hormonra indukálódó *DHN3* és a *DHN2* gének expresszióját illeti, legerőteljesebben *DHN2* indukálódik, a *DHN3* közel egyenletesen expresszál.
3. Kísérleteink a két kiválasztott fajta ('Oitol' és 'Joker') oxidatív stresszállapotában (FRAP érték, MDA tartalom, lipidperoxidáció erélye, antioxidáns enzimek kifejeződésének mértéke) jelentős különbségeket tártak fel, amely összefügghet a fajtacsoportok stresszekkel szembeni toleranciájának különbözőségével. Kiemelten vizsgáltuk a túlzott tápanyagellátás által kiváltott stresszt. Az eredmények tükrében megállapítható, hogy az töményebb tápoldatok használata a fajták növekedését csak kismértékben befolyásolja. Normál és emelkedő tápoldatozásnál az 'Oitol' antioxidáns kapacitása jellemzően nagyobb, lipidperoxidációjának mértéke kisebb volt a 'Jokernél'. Az oxidatív stressz elleni védelemben szerepet játszó enzimek génjei a 'Joker' hibridben magasabb szinten fejeződtek ki. Ezek az eredmények a 'Joker'fajtában lévő magasabb oxidatív stressz jelenlétét bizonyítják. Fokozott tápoldatozás mellett az oxidatív terhelést jelző paraméterek (pl. lipidperoxidáció) szintje emelkedett. Továbbá a koncentráltabb tápoldatozás az 'Oitol' hibridben a *DHN3* gén expresszióját specifikusan megnövelte.

ÖSSZEFOGLALÁS

Az uborka (*Cucumis sativus* L.) világszerte közkedvelt haszonnövény, amely terméshozamára a napjainkban is zajló klímaváltozás jelentős hatással van. Abiotikus és biotikus stresszhatások zöme teheti tönkre az egész éves terméshozamot, ennek okán ellenállóbb genotípusokra van szükség. A jelenleg termesztésbe vont fajták zöme így további nemesítésre szorul, amihez a stresszekkel szembeni toleranciájuk mélyrehatóbb megismerése nélkülözhetetlen.

Az uborka esetében a termesztett fajták termesztési rendszerenként, de azon belül is morfológiai és élettani szempontból nagy változatosságot mutatnak. Ezt a változatosságot igyekeztünk kihasználni, hogy az egyes tulajdonságok molekuláris alapjaira fényt derítsünk. Kísérleteinket három szabadföldi ('Szatmár', 'Szenzáció', 'Joker') és három üvegházban hajtattott ('Americana', 'Prior', 'Oitol') fajtaival végeztük. Elsőként a fajták morfológiai paramétereinek közötti különbség bemutatása volt fókuszban. Eredményeinkből jól látható a fajták között fennálló növekedésbeli különbségek, amelyek összefügghetnek a stresszekkel szembeni toleranciával.

Az abszcizinsav (ABA) a stresszekkel szembeni tolerancia egyik fontos komponense. Egyes abiotikus stresszhatásokra mennyisége jelentősen megnő, elsősorban, vízhiányos állapot esetén. Alapvető funkciója a sztómák záródása és egyéb válaszreakciók kialakulásában szereplő jelátviteli útvonalak aktiválása. Hatására jónéhány transzkripciós faktor és gén működésbe lendül, így a dehidratációs állapot káros hatásai kivédhetőbbek lesznek. A gyors válaszreakció kialakulásának szempontjából az adott genotípus ABA érzékenysége kulcsfontosságú. Ez nyomon követhető a hormon által kiváltott növekedésgátlás mértékének megállapításával. Az általunk kiválasztott genotípusok hipokotil és gyökérzet megnyúlásából próbáltunk következtetni a fajták eltérő ABA érzékenységére, amiben azonban nem találtunk fajta típusra jellemző különbséget. A vizsgálatokat az ABA indukálta *DHN* gének expressziójának mérésével egészítettük ki. Itt sem találtunk olyan transzkripciós szintű mintázatot, ami megkülönböztetné a szabadföldi és üvegházi uborka fajtákat.

Napjainkban használatos uborkafajták termesztése kontrollált körülmények között zajlik. Talajmentes nevelőközegek, a növények igényeihez igazított tápelem özetételű tápoldatok állnak rendelkezésünkre a nagyobb terméshozam eléréséhez. A kutatásokban is az egyik leggyakrabban használt tápoldat a Hoagland oldat, amelyet az 1950-es években dolgoztak ki. Az eredeti özetételű oldat az uborka tápanyagigényeit csak részben fedezi, így módosításokra volt szükség a használatos tápanyagok és koncentrációjuk tekintetében

egyaránt. Azonban további vizsgálatok szükségesek az akár fajtánként is eltérő optimális tápoldat erősség (eredeti összetételhez képest) beállításához. Első kísérleteink két különböző koncentrációjú Hoagland oldattal (0,125 x és 0,5 x HG) történő tápolatozás és a perlit/közetgyapot tápközeg használata mellett történtek meg a hat fajta bevonásával, főként növekedési paraméterek megállapítására. Eredményeink alapján elmondható, hogy a megfelelő tápelem koncentráció feltétlenül szükséges az adott fajta optimális növekedéséhez, az üvegházi termesztésű fajták pedig érzékenyebbek az alacsony koncentrációjú tápoldat alkalmazására.

A haszonnövények műtrágyázása / tápoldatozása során napjaink egyik fő problémája a túlzott tápanyag bevitel lehet. Amellett, hogy a nem hasznosuló tápelemek erősen szennyeznek a környezetet, a tápanyagok túlzott bevitele a tápanyaghiányhoz hasonlóan stresszhatásként érheti a növényt. Ez szintén a termés mennyiségének és minőségének romlásával járhat együtt. Mint számos abiotikus stresszhatást, a túlzott tápelem bevitt is a reaktív oxigénformák (ROS) mennyiségének növekedése kísérheti. Egy adott genotípus toleranciája a stresszekkel szemben abban is megnyilvánulhat, mennyire képes megbirkózni a feldúsult ROS vegyületek által okozott oxidatív stresszel. Az ROS molekulák káros hatásait kivédő enzimatis és a nem enzimatis védelmi rendszer mozgósítását jónéhány molekuláris markerrel és génexpressziós vizsgálattal lehet nyomonkövetni növényi, állati és humán szervezetekben egyaránt. Az eredmények tükrében teljesebb képet alkothatunk az adott faj/fajta toleranciájáról.

A két fajtacsoportot jól reprezentáló egy egy fajtát választottunk ki, a szabadföldi 'Jokert' és az üvegházi 'Oitolt'. Öt különböző töménységű (0,5x, 1x, 1,5x, 2x, 2,5x) Hoagland oldattal tápoldatoztuk azokat, itt már magasabb koncentrációkat is alkalmaztunk, így vélhetőleg a tápanyagok túlzott bevitele stresszként hatott a növényekre. A növekedési paraméterek mellett az antioxidáns válasz komponenseit vizsgáltuk: antioxidáns kapacitás (FRAP), POD enzimaktivitás, lipidperoxidáció erélye (MDA), biofoton-emisszió, génexpressziós vizsgálatok (dehidrinek, antioxidáns enzimek: *GRI*, *APXI*, *GPXI*) segítségével próbáltuk feltárni a két fajta közötti különbségeket és az ezek háttérében álló molekuláris folyamatokat. Eredményeink a két részletesen vizsgált fajta esetében feltárták a fajtatípusokra jellemző tulajdonságok háttérében feltehetően álló néhány mechanizmust. Ezek a lassabban növekvő szabadföldi fajta esetében alacsonyabb antioxidáns kapacitást, magasabb lipid peroxidációs szintet és magasabb antioxidáns génkifejeződést jelentettek. Fokozott tápanyag bevitel esetén mindkét fajtában nőtt az antioxidáns kapacitás, a lipidperoxidáció mértéke, az antioxidáns gének kifejeződése és csökkent az ozmotikus potenciál. Az üvegházi ('Oitolt') fajtában magas

tápoldatozásnál erőteljesen és specifikusan megjelent a *DHN3* gén transzkripciója, a szabadföldi ('Joker') fajtában viszont ugyanekkor erős biofoton emissziót tapasztaltunk. Mindezek a jelenségek a két fajtatípus különböző molekuláris mechanizmusait jelzik fokozott tápoldatozás esetén.

SUMMARY

Cucumber (*Cucumis sativus* L.) is an economically and nutritionally important vegetable crop, cultivated worldwide. The present climate change profoundly affects the annual crop production, as plants are frequently challenged by abiotic stresses which causes impaired growth and development. Thus, it is important to examine how cucumber hybrids are adapted to their respective production system which may reflect their responses to stresses. For this reason the aim of this research has been to help design more tolerant genotypes against environmental abiotic stresses. Some cucumber hybrids are cultivated in open field and others in greenhouses. Growth and environmental conditions differ widely between these two production systems. Modern hybrids have been bred to be adapted to either of the production systems. Therefore it is expected that they may respond differently to some growth conditions, e.g. to high level of mineral nutrients. Our investigation's aim was to clarify if there is any difference between morphological traits and behavior of selected commercial open field cultivated hybrids 'Szatmár', 'Szenzáció', 'Joker' and greenhouse grown hybrids 'Americana', 'Prior', 'Oitol'. In our experiments plants were grown in soilless medium composed of perlite or rockwool and perlite. Our results showed variable growth rates among the genotypes, confirming assumptions about intraspecies diversity in this respect that may coincide different stress responses of the cultivars.

Abscisic acid (ABA) is a phytohormone that has multiple roles in plant growth and development. It is involved in various biological processes in plants, especially in the regulation of seed maturation, dormancy, abiotic stress signaling and responses. Therefore it has strong relationship with crop yield. ABA may affect expression of some transcription factors and effector genes that help to overcome dehydration. ABA can promote or inhibit root development and decrease shoot growth, as part of the stress tolerance response. ABA sensitivity of different cultivars may be measurable through the degree of growth inhibition. The root length and hypocotil elongation of the above mentioned genotypes were used for measuring ABA sensitivity. The experiments were completed with expression studies on putative dehydrin genes (*CsDHNs*), which was investigated after external ABA treatment. F1 hybrids of the same cultivation type did not form distinct groups according to their transcriptional responses to the ABA treatment applied.

Plants were grown and harvested under controlled conditions. Soilless growth media and nutrient solutions were applied according to the needs of plants. Adequate fertigation solutions have been developed and recommended for crops mostly considering maximized yield and

preserving the taste and quality of the products. One of the most commonly used nutrient formulation is Hoagland solution, which was developed in the 1950s. The solution with the original composition exceeds the nutrient requirements of cucumber, thus modifications were needed in both the types and concentrations of salts used. To develop of appropriate nutrient solution for cucumbers, our first experiments were performed with applying of two different concentrations of Hoagland solution (0.125x and 0.5x HG) and using perlite / rock wool medium with our six cultivars and mainly measuring their growth parameters. Our results revealed the importance of using an adequate nutrient solution, furthermore greenhouse-grown varieties proved more sensitive to low levels of nutrient solution.

Fertigation is required for efficient and productive agricultural systems. However, it is important to emphasize the environmental consequences of excessive fertigation such as secondary soil salinization and contamination of water resources. Moreover, overfertilization often makes the work of growers difficult. Excessive intake of nutrients, like nutrient deficiencies, can affect plants as a stressor, reducing crop yield. A correlation between elevated concentration of components of fertigation solutions and an increase of stress level is becoming evident in some plant species. Increased stress level may be accompanied by high level of ROS generation which can lead to tissue damages. The tolerance of a particular genotype may be manifested in its ability to cope with oxidative stress caused by overdosed fertigation. The mobilization of the enzymatic and non-enzymatic redox defense systems may be monitored by some molecular markers and gene expression assays in plants, giving a broader perspective to determine stress tolerance and dynamics in those cultivars.

From the six previously studied cultivars we selected two representative hybrids, the open field cultivated 'Joker' and the greenhouse grown 'Oitol'. The experiments were designed to elucidate how the treatment with different levels of Hoagland solutions ($0,5 - 2,5 \times$ HG) affects some physiological and molecular parameters of two commercial F1 hybrid cultivars. To this end expression of stress associated dehydrin genes (*DHNs*) and antioxidant enzyme coding genes (*GRI*, *APXI*, *GPXI*) were quantified and results were discussed. Different molecular indicators (FRAP, MDA, POD) assays were measured reflecting the stress level of plants by phytochemical analysis of the molecules generated during lipid peroxidation and oxidative metabolism. These experiments were supplemented by an autoluminescence detection technology. Results revealed unrelated stress responses of the two selected cultivars suggesting that the background of characteristics of each cultivar are different. The open field 'Joker' exhibited slower growth, lower values for antioxidant/reducing power (FRAP) and higher level of lipid peroxidation (MDA) indicating more oxidative stress which was also

generally associated with more concentrated Hoagland nutrition. Moreover, elevated fertigation caused deeper osmotic potential to 'Joker', promoting osmotic stress as a likely explanation for the more strained oxidative status of this hybrid. As far as dehydrins are concerned, *CsDHN3* displayed specific induction under high nutrition in 'Oitol' hybrid only. This suggests unique role of this protein in protecting plants from the nutrient induced oxidative damage. Biophoton emission imaging was successfully used to confirm biochemical data about oxidative damage in the leaves that showed especially higher value on 'Joker'. These data indicates differential activation of molecular tolerance mechanisms in the two cultivars in case of elevated nutrient provision.

IRODALOMJEGYZÉK

ABDESHAHIAN M., NABIPOUR M., MESKARBASHEE M. (2010): Chlorophyll fluorescence as criterion for the diagnosis salt stress in wheat (*Triticum aestivum*) plants. *World Academy of Science, Engineering and Technology International Journal of Nuclear and Quantum Engineering*. **4(11)**:569-571p.

ABDOLLAHI M. R., NAJAFI S., SARIKHANI S., MOOSAVI S. (2016): Induction and development of anther-derived gametic embryos in cucumber (*Cucumis sativus* L.) by optimizing the macronutrient and agar concentrations in culture medium. *Turkish Journal of Biology*. **40**:571-579p.

ABEDINI R., GHANEGOLMOHAMMADI F., PISHKAM RAD R. (2017): Plant dehydrins: shedding light on structure and expression patterns of dehydrin gene family in barley. *Journal of Plant Research*. **130(4)**:747–763p.

ABU-ROMMAN S., SUWWAN M., SHADI ADEH A., HASAN H. (2012). Effects of osmotic stress on cucumber (*Cucumis sativus* L.) microshoots cultured on proliferation medium. *World Applied Sciences Journal*. **20**:177-181p.

ACKERL I., BALÁZS S., BITTSÁNSZKY J., FARKAS J., FEHÉR B., FILIUS I., GYÚRÓS J., HODOSSI S., HÓDOSY S., KAPPELLER K., NAGY J., SZABÓ I., SZALAY F., TARJÁNYI F., TERBE I., VELICH I., ZATYKÓ L. (2004): Zöldségtermesztők kézikönyve. 2004. *Mezőgazda Kiadó Kft.* Budapest 65-85p.

AHMAD R., ZAHEER S., H., ISMAIL S. (1992): Role of silicon in salt tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Science*. **85(1)**:43-50p.

ALAN R. (1989): The effect of nitrogen nutrition on growth, chemical composition and response of cucumbers (*Cucumis sativus* L.) to nitrogen forms in solution culture, *Journal of Horticultural Science*. **64(4)**: 467-474p.

ALLAGULOVA C.R., MASLENNIKOVA D.R., AVALBAEV A.M., FEDOROVA K.A., YULDASHEV R.A, SHAKIROVA F.M.(2015): Influence of 24-epibrassinolide on growth of wheat plants and the content of dehydrins under cadmium stress, *Russian Journal of Plant Physiology*. **62**:465-571p.

ALLAGULOVA C.R., GIMALOV F.R., AVALBAEV A.M. YULDASHEV R.A., SHAKIROVA F.M. (2007): Structure of the *TaDHN* gene for dehydrin-like protein of soft

wheat and activation of its expression by ABA and 24-epibrassinolide. *Russian Journal of Plant Physiology*. **54**:115-120p.

ALTUNOGLU C.Y., BALOGLU P., YER E.N. (2016): Identification and expression analysis of LEA gene family members in cucumber genome. *Plant Growth Regulation*. **80**:225–241p.

AMIROSSADAT Z., GHEHSAREH M. A., MOJIRI A. (2012): Impact of silicon on decreasing of salinity stress in greenhouse cucumber (*Cucumis sativus* L.) in soilless culture. *Journal of Biological & Environmental Sciences*. **6(17)**:171-174 p.

APEL K., HIRT H. (2004): Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology*. **55**:373–399p.

AZARKOVICH M. I. (2016): Stress induced proteins in recalcitrant seeds during deep dormancy and early germination. *13. Chapter*, 317-328p. In: *Abiotic and Biotic Stress in Plants: Recent Advances and Future Perspectives*. Eds: Arun Shanker, Chitra Shanker

BAJJI M., LUTTS S., KINET J.M. (2001): Water deficit effects on solute contribution to osmotic adjustment as a function of leaf ageing in three durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars performing differently in arid conditions. *Plant Science*. **160(4)**:669–681p.

BALÁZS S. (1994): Zöldségtermesztők kézikönyve. *Mezőgazda Kiadó*, Budapes. 77-84p. ISBN: 9632340205

BALLESTA J., NAVARRO G., GIMÉNEZ G. (2017): Pedological characteristics of cucumber (*Cucumis sativus* L.) crops in mediterranean environment (Huete, Spain). *International Journal of Horticulture & Agriculture*. **2(1)**: 1-3p.

BENZIE I. F. F., STRAIN J. J. (1999): The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*. **239(1)**:70-76p.

BIRTIC S., KSAS B., GENTY B., MUELLER M.J., TRIANTAPHYLIDÉS C., HAVAUX M. (2011): Using spontaneous photon emission to image lipid oxidation patterns in plant tissues. *The Plant Journal*. **67(6)**:1103–1115p.

BLUM A. (1988): Drought Resistance. In: *Blum A. (editor): Plant Breeding for Environmental Stresses*. C.R.C. Press Boca Raton, Florida, 43-77p.

BOOKOUT A.L., MANGELSDORF D.J. (2003). Quantitative real-time PCR protocol for analysis of nuclear receptor signaling pathways. *Nuclear Receptor Signaling*. **1**:12p.

- BRINI F., HANIN M., LUMBRERA V. (2007): Overexpression of wheat dehydrin DHN-5 enhances tolerance to salt and osmotic stress in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Reports*. **26**:2017–2026p.
- BURZYŃSKI M., KŁOBUS G. (2004): Changes of photosynthetic parameters in cucumber leaves under Cu, Cd, and Pb stress. *Photosynthetica*. **42**:505–510 p.
- CABOT C., SIBOLE S.V., BARCELO J., POSHENRIEDER C. (2014): Lessons from crop plants struggling with salinity. *Plant Science*. **226**:2-13p.
- CARSTENSEN A., HERDEAN A., SCHMIDT S.B. ET AL (2018): The impacts of phosphorus deficiency on the photosynthetic electron transport chain. *Plant Physiology*. **177**:271–284p.
- CAVAGNARO, P.F., SENALIK, D.A., YANG, L. ; SIMON P.,V.; HARKINS T., T.; KODIRA C.,D.; HUANG S.; WENG Y. (2010): Genome-wide characterization of simple sequence repeats in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *BMC Genomics* **11**:569p.
- CAVERZAN A., PASSAIA G. R., SILVIA B., RIBEIRO C. W., LAZZAROTTO F., MARGIS-PINHEIRO M. (2012): Plant responses to stresses: role of ascorbate peroxidase in the antioxidant protection. *Genetics and Molecular Biology*. **35(4)**:1011-1019p.
- CHANDRAKAR V., DUBEY A., KESHAVKANT S. (2016): Modulation of antioxidant enzymes by salicylic acid in arsenic exposed Glycine max L. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. **16 (3)**:662-676p.
- CHANG, T., ZHANG, Y., XU, H.L., SHAO, X., XU, Q., LI, F., YU, L., ZHANG, Z. (2018): Osmotic adjustment and up-regulation expression of stress-responsive genes in tomato induced by soil salinity resulted from nitrate fertilization. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*. 126–136p.
- CHEN C.S., PLANT A. L. (1999): Salt-induced protein synthesis in tomato roots: the role of ABA. *Journal of Experimental Botany*. **50(334)**:677–687p.
- CHEN WL, XING D, TAN S, TANG Y, HE Y. (2003): Imaging of ultraweak bioluminescence and singlet oxygen generation in germinating soybean in response to wounding. *Luminescence*. **18**:37–41p.
- CHOUDHURY K.C., RIVERO M. R., BLUMWALD E., MITTLER R. (2017): Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination. *The Plant Journal*. **90**:856-867p.

COLLI L., FACCHINI U. (1954): Light emission by germinating plants. *Nuovo Cimento* **12**:150–153

CUI J.X., ZHOU Y.H., DING J.G., XIA X.J., SHI K., CHEN S.C., ASAMI T., CHEN Z., YU J.Q. (2011): Role of nitric oxide in hydrogen peroxide-dependent induction of abiotic stress tolerance by brassinosteroids in cucumber. *Plant Cell Environment*. **34**:347-358p.

DHAKAL, S., KARKI, M., SUBEDI, P. AARATI, G.C. (2019). Effect of ethephon doses on vegetative characters, sex expression and yield of cucumber (*Cucumis sativus* cv. Bhaktapur Local). *International Journal of Applied Sciences and Biotechnology*. **7(3)**:370-377p.

DAVIES, PETER (2010): The plant hormones: their nature, occurrence, and functions. Plant hormones. In: *Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*. 1-15p.

DAVEY M.W., MONTAGU M.V. INZE D, SANMARTIN M., KANELLIS A. SMIRNOFF N. BENZIE I.J. STRAIN J.J, FAVELL D., FLETCHER J. (2000): Plant L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. **80(7)**:825–860p.

DE BEVER A, NDAKIDEMI P. A., LAUBSCHER C. P (2012): Effects of different combinations of Hoagland's solution and *Azolla filiculoides* on photosynthesis and chlorophyll content in *Beta vulgaris* subsp. *Cycla* 'fordhook giant' grown in hydroponic cultures. *African Journal of Biotechnology*. **12(16)**:2006-2012p.

DEÁK C., JÄGER K., NAGY V. A., OSZLÁNYI R., BARNABÁS B., PAPP I. (2017): C-repeat binding factor and dehydrin genes are induced co-ordinately in drought tolerance response of wheat cultivars. *Journal of Agricultural Science*. **9(2)**:18-26p.

DIAB Y. A. A., MOUSA A. A. M., ABBAS H. S. (2016): Greenhouse grown cucumber as an alternative to field production and its economic feasibility in Aswan Governorate Egypt. Assiut. *Journal of Agricultural Sciences*. **47(1)**:122-135p.

EL HALLOFN., SÁRVÁRI M. (2006): Az évjárat és a műtrágyázás hatása az eltérő genetikai adottságú kukoricahibridek termésére, a fotoszintézis és a levélterület alakulására. *Agrártudományi Közlemények*. **23**.szám

FARIAS-SOARES F.L., BURRIEZA H.P., STEINER N. (2013): Immunoanalysis of dehydrins in *Araucaria angustifolia* embryos. *Protoplasma*. **250**:911–918p.

- FELEAFEL M.N., MIRDAD Z.M., HASSAN A.S. (2014): Effects of NPK fertigation rate and starter fertilizer on the growth and yield of cucumber grown in greenhouse. *The Journal of Agricultural Science*. **6**:81-92p.
- FINKELSTEIN R. (2013): Abscisic acid synthesis and response. *The Arabidopsis Book*. **11**:166p.
- FUJITA Y., FUJITA M., SHINOZAKI K. et al (2011): ABA-mediated transcriptional regulation in response to osmotic stress in plants. *Journal of Plant Research*. **124**:509–525p.
- FUTÓ Z. (2003): A levélterület hatása a kukorica terméseredményére trágyázási kísérletben. *Növénytermelés*. **52(3-4)**:317-328p.
- GALLEP C.M. (2014). Ultraweak, spontaneous photon emission in seedlings: Toxicological and chronobiological applications. *The Journal of Biological and Chemical Luminescence*. **29(8)**:963-968p.
- GLITS M., GÓLYA E., GYÚRÓS J., GYŐRFI J., HODOSSY S., HOLB I., HRASKÓ I., KOVÁCS A., KOVÁCSNÉ GYENES M., NAGY GY., NAGY J., NÉMETHY Z., OMBÓDI A., PÉNZES B., SLEZÁK K., SZŐRINÉ Z. A., TERBE I., ZATYKÓ F. (2005): Zöldségtermesztés termesztőberendezésekben. *SZIE Kertészettudományi Kar Zöldség- és Gombatermesztési Tanszék*. Budapest, 32-40p.
- GONZÁLEZ A., MARTIN I., AYERBE L. (2008): Yield and osmotic adjustment capacity of barley under terminal water stress. *Journal of Agronomy and Crop Science*. **194**:81–91p.
- GORETA S., BUCEVIC-POPOVIC V., SELAK G.V., PAVELA-VRANCIC M., PERICA S. (2008): Vegetative growth, superoxide dismutase activity and ion concentration of salt-stressed watermelon as influenced by rootstock. *The Journal of Agricultural Science*. **146(6)**:695–704p.
- GRAETHER S. P., BODDINGTON K. F. (2014): Disorder and function: a review of the dehydrin protein family. *Frontiers in Plant Science*. **5**:576p.
- GUO W., CHEN S., HUSSAIN N., CONG Y., LIANG Z., CHEN, K. (2015): Magnesium stress signaling in plant: just a beginning. *Plant Signaling & Behavior*. **10(3)**: e992287.
- HAVAUX M., TRIANTAPHYLIDES C., GENTY B. (2006): Autoluminescence imaging: a non-invasive tool for mapping oxidative stress. *Trends in Plant Science*. **11(10)**:480–484p.

HANIN M., BRINI F., EBEL C., TODA Y., TAKEDA S., MASMOUDI K. (2011): Plant dehydrins and stress tolerance: versatile proteins for complex mechanisms. *Plant Signaling & Behavior*. **6(10)**:1503–1509p.

HEGEDŰS ATTILA, STEFANOVITSNÉ BÁNYAI ÉVA (2012): Természetes antioxidáns forrásunk: a gyümölcs. *Debreceni Egyetem, AGTC, Kertészettudományi Intézet* ISBN 978-615-5183-26-3, 26-31 p.

HELYES L., KASSAI T., KOCZKA N., OMBÓDI A., PÉK Z., VARGA I., GONDA I., SZENTPÉTERI T., DREMÁK P., VÉGVÁRI GY., LÉVAI P., TURINÉ FARKAS ZS., HORVÁTH ZS. (2007): Kertészet. *Debreceni Egyetem Agrár- és Műszaki Tudományok Centruma, Agrárgazdasági és Vidékfejlesztési Kar, Debrecen, 2007, ISBN 978-963-9732-43-8, HEFOP 3.3.1-P.-2004-06-0071/1.0*

HOAGLAND D.R., ARNON D.I. (1950): The water-culture method for growing plants without soil. *California Agricultural Experiment Station, Circular-347*. 1-31p.

HODGES D. M., DELONG J. M., FORNEY C. F., PRANGE P. K. (1999): Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. *Planta*. **207**:604–611p.

HOLAPPA L.D., BLUM A. (1991): Effects of exogenously applied ferulic acid, a potential allelopathic compound, on leaf growth, water utilization, and endogenous abscisic acid levels of tomato, cucumber, and bean. *Journal of Chemical Ecology*. **5(17)**:865p.

HU W.H., SONG X.S., SHI K., XIA X.J., ZHOU Y.H., YU J.Q. (2008): Changes in electron transport, superoxide dismutase and ascorbate peroxidase isoenzymes in chloroplasts and mitochondria of cucumber leaves as influenced by chilling, *Photosynthetica*. **46(4)**:581–588p.

HU L., YANG Y., JIANG L., LIU S. (2016): The catalase gene family in cucumber: genome-wide identification and organization. *Genetics and Molecular Biology*. **39(3)**:408–415p.

HUANG Y., BIE Z., HE S., HUA B., ZHEN A., LIU Z. (2010): Improving cucumber tolerance to major nutrient-induced salinity by grafting onto *Cucurbita ficifolia*. *Environmental and Experimental Botany*. **69**: 32- 38p.

HUANG S., LI R., ZHANG Z., LI L., GU X., FAN W., LI S. (2009): The genome of the cucumber (*Cucumis sativus* L.) *Nature Genetics*. **41(12)**:1275-1281p.

HUZSVAI, L., RAJKAI, K., SZÁSZ, G. (2004): Az agroökológia modellezéstechnikája. Debrecen, Debreceni Egyetem Agrártudományi Centrum

- INCROCCIL., MASSA D., PARDOSSI A. (2017): New trends in the fertigation management of irrigated vegetable crops. *Horticulturae*. **3**:37p.
- INGESTAD T. (1973): Mineral nutrient requirements of *Vaccinium vitis idaea* and *V. myrtillus*. *Physiologia Plantarum*.**29(2)**:239-246p.
- JAAKOLA L., PIRTTILÄ A.M., HALONEN M., HOHTOLA A. (2001): Isolation of high-quality RNA from bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) fruit. *Molecular Biotechnology*. **19**:201–203p.
- JANDA T. (2007): Termesztett növények abiotikus stresszfolyamatai és egyes védekező mechanizmusai, különös tekintettel az antioxidáns rendszerekre. Akadémiai Doktori Értekezés, MTA Mezőgazdasági Kutatóintézete Martonvásár, 2007
- JASSO-CHAVERRIA C., HOCHMUTH G. J., HOCHMUTH R. C., SARGENT S. A. (2005): Fruit yield, size, and color responses of two greenhouse cucumber types to nitrogen fertilization in perlite soilless culture. *HortTechnology*. **15(3)**:565-571p.
- JIANG W., YANG L., HE Y., ZHANG H., LI W., CHEN H., MA D., YIN J. (2019): Genome-wide identification and transcriptional expression analysis of superoxide dismutase (SOD) family in wheat (*Triticum aestivum*). *Plant Biology*. **7**:8062p.
- JING H., LI C., MA F., MA J. H., KHAN A., WANG X. (2016): Genome-wide identification, expression diversification of dehydrin gene family and characterization of *CaDHN3* in pepper (*Capsicum annuum* L.). *PLoS ONE* **11(8)**:0161073p.
- KALEMBA E.M., PUKACKA S. (2014): Carbonylated proteins accumulated as vitality decreases during long-term storage of beech (*Fagus sylvatica* L.) seeds. *Trees*. **28(2)**: 503-515p.
- KANG H., PARK K., SALTVEIT M.E. (2002): Elevated growing temperatures during the day improve the postharvest chilling tolerance of greenhouse-grown cucumber (*Cucumis sativus*) fruit. *Postharvest Biology and Technology*. **24 (1)**:49-57p.
- KAPPEL N. (szerk.) (2011): Tökfélék termesztése. *Mezőgazda Kiadó Kft.* Budapest 55-58p.
- KELLŐS T., TÍMÁR I., SZILÁGYI V., SZALAI G., GALIBA G., KOCSY G. (2008): Stress hormones and abiotic stresses have different effects on antioxidants in maize lines with different sensitivity. *Plant Biology*. **10(5)**:563-72p.

- KONG L., XIE Y., HU L. (2017): Excessive nitrogen application dampens antioxidant capacity and grain filling in wheat as revealed by metabolic and physiological analyses. *Scientific Reports*. **7**:43363p.
- KOSOVÁ K., VÍTÁMVÁS P., PRÁŠIL I.T. (2014): Wheat and barley dehydrins under cold, drought, and salinity—what can LEA-II proteins tell us about plant stress response. *Frontiers in Plant Science*. **5**:343p.
- LEE S.C., LEE W.K., ALI A., KUMAR M., YANG T.J., SONG K. (2017): Genome-wide identification of the dehydrin genes in the cucurbitaceae species. *Plant Breeding and Biotechnology*. **5(4)**:282-292p.
- LEI B., HUANG Y., XIE J.J., LIU Z. X., ZHEN A., FAN M.L., BIE Z.L. (2014): Increased cucumber salt tolerance by grafting on pumpkin rootstock and after application of calcium. *Biologia Plantarum*. **58 (1)**:179-184p.
- LI H., WANG X.M., CHEN L., AHAMMED G.J., XIA X.J., SHI K., CONSIDIN, M.J., YU J.Q., ZHOU Y.H. (2013): Growth temperature-induced changes in biomass accumulation, photosynthesis and glutathione redox homeostasis as influenced by hydrogen peroxide in cucumber. *Plant Physiology and Biochemistry*. **71**:1–10p.
- LI H., CHENG Z. (2015): Hoagland nutrient solution promotes the growth of cucumber seedlings under light-emitting diode light. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B Soil & Plant Science*. **65(1)**:74-82p.
- LORRAI R., BOCCACCINI A., RUTA V., POSSENTI M., COSTANTINO P., VITTORIOSO P. (2018): Abscisic acid inhibits hypocotyl elongation acting on gibberellins, DELLA proteins and auxin. *AoB Plants*. **10(5)**:061p.
- MAGLOVSKI M., GERŠI Z., RYBANSKÝ L., BARDÁČOVÁ M., MORAVČÍKOVÁ J., BUJDOŠ M., DOBRIKOVA A., APOSTOLOVA E., KRAIC J., BLEHOVÁ A., MATUŠÍKOVÁ I. (2019): Effects of nutrition on wheat photosynthetic pigment responses to arsenic stress. *Polish Journal of Environmental Studies*. **28(3)**:1821-1829p.
- MALAKOUTI M. J. (2008): The effect of micronutrients in ensuring efficient use of macronutrients. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. **32**:215-220p.
- MARSIC K.N., JAKSE M. (2010): Growth and yield of grafted cucumber (*Cucumis sativus* L.) on different soilless substrates. *Journal of Food, Agriculture & Environment*. **8(2)**: 654-658p.

- MARYAN E. K., LAHIJI S. H., FARROKHI N., KOMELEH H. H.(2019): Analysis of *Brassica napus* dehydrins and their co-expression regulatory networks in relation to cold stress. *Gene Expression Patterns*. **31**:7-17p.
- MATSUMOTO H., TAMURA K. (1981): Respiratory stress in cucumber roots treated with ammonium or nitrate nitrogen. *Plant and Soil*. **60**:195-204p.
- MILLNER P.D., KITT D.G. (1992): The Beltsville method for soilless production of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*. **2**:9-15p.
- MOUMITA- MAHMUD J. A., BISWAS P.K., NAHAR K., FUJITA M., HASANUZZAMAN M. (2019): Exogenous application of gibberellic acid mitigates drought-induced damage in spring wheat. *Acta Agrobotany*. **72(2)**:1776p.
- MUSLAT M.M., ABD-ALRAHMAN E.B. (2018): Evaluation of organic fertilization with date palm waste and spraying with extract of decomposing date palm seeds on cucumber yield under open field conditions. *Plant Archives*. **18(2)**:1974-1978p.
- NAGARAJU M., KUMAR S. A., REDDY S. P., KUMAR A., RAO M., D KISHOR K. B. P (2019): Genome scale identification, classification, and tissue specific expression analysis os late embryogenesis abundant (LEA) genes under abiotic stress conditions of *Sorghum bicolor* L. *Plos One*.
- NIEDER R., BENBI D.K., REICHL F.X. (2018): Microelements and their role in human health. *In: Soil Components and Human Health. Springer, Dordrecht*. 317-374p.
- NIU M., XIE J., CHEN C., CAO H., SUN J., KONG Q., SHABALA S., SHABALA L., HUANG Y., BIE, Z. (2018): An early ABA-induced stomatal closure, Na⁺ sequestration in leaf vein and K⁺ retention in mesophyll confer salt tissue tolerance in cucurbita species. *Journal of Experimental Botany*. **69(20)**:4945–4960p.
- Nowicka B., Ciura J., Szymańska R., Kruk J. (2018): Improving photosynthesis, plant productivity and abiotic stress tolerance – current trends and future perspectives. *Journal of Plant Physiology*. **231**:415-433p.
- OKA M., SHIMODA Y., SATO N., INOUE J., YAMAZAKI T., SHIMOMURA N., FUJIYAMA H. (2012): Abscisic acid substantially inhibits senescence of cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) grown under low nitrogen conditions. *Journal of Plant Physiology*. **169(8)**: 789-796p.

OHYA T. KURASHIGE, H., OKABE H., KAI, S. (2000): Early detection of salt stress damage by biophotons in red bean seedling. *Japanese Journal of Applied Physics*. **39**:3696-3700p.

ÖRDÖG V., MOLNÁR Z. (2011): Növényélettan. *Debreceni Egyetem. Nyugat-Magyarországi Egyetem. Pannon Egyetem*, Debrecen

PAPP I. (2014): A génkifejeződés, szárazságtűrés és vízvesztés egyes mechanizmusai és összefüggései modell- és haszonnövényekben. BCE Növényélettan és Növényi Biokémia Tanszék. Akadémiai doktori értekezés

PAWEŁKOWICZ M. E., SKARZYŃSKA A., PLAĐER W., PRZYBECKI Z. (2019): Genetic and molecular bases of cucumber (*Cucumis sativus* L.) sex determination. *Molecular Breeding*. **39**: Article number:50

SATTLER S. E., MÈNE-SAFFRANÉ L., FARMER E. E., KRISCHKE M., MUELLER M. J., DELLAPENNA D. (2006): Nonenzymatic lipid peroxidation reprograms gene expression and activates defense markers in Arabidopsis tocopherol-deficient mutants. *The Plant Cell*. **18(12)**:3706–3720p.

SAVVAS D., GIOTIS D., CHATZIEUSTRATIOU E., BAKEA M., PATAKIOUTAS G. (2009): Silicon supply in soilless cultivations of zucchini alleviates stress induced by salinity and powdery mildew infections. *Environmental and Experimental Botany*. **65(1)**:11-17p.

SEBASTIAN, P., SCHAEFER, H., TELFORD, I. R., RENNER, S. S. (2010): Cucumber (*Cucumis sativus*) and melon (*C. melo*) have numerous wild relatives in Asia and Australia, and the sister species of melon is from Australia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. **107(32)**:14269–14273.

SHAKIROVA F., ALLAGULOVA C., MASLENNIKOVA D., FEDOROVA K., YULDASHEV R., LUBYANOVA A., BEZRUKOVA M., AVALBAEV A. (2016): Involvement of dehydrins in 24-epibrassinolide-induced protection of wheat plants against drought stress. *Plant Physiology and Biochemistry*. **108**:539-548p.

SILBER A., XU G., LEVKOVITCH I., SORIANO S., BILU A., WALLACH R. (2003): High fertigation frequency: The effects on uptake of nutrients, water and plant growth. *Plant and Soil*. **253**:467-477p.

- SINGH A.L. (2005): Macronutrient stresses and interaction of nutrients in plants. In *Physiology Of Abiotic Stresses In Plants (Eds P. Dwivedi and R.S. Dwivedi)*. Agrobios (India) Publishers, Jodhpur, India. 117-170p.
- SINGH M. C., SINGH J.P., PANDEY S. K., MAHAY D., SHRIVASTVA V. (2017): Factors affecting greenhouse cucumber cultivation- a review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. **6(10)**:2304-2323p.
- SRIKANTH N., JOIS K., PRASAD N., D`SOUZA L. (2017): Morphology of cucumber plants as influenced by pranic agriculture. *Asian Journal of Agricultural Research*. **11**:33-35p.
- SUI X., SHAN N., HU L., ZHANG C., YU C., REN H., TURGEON R., ZHANG Z. (2017): The complex character of photosynthesis in cucumber fruit. *Journal of Experimental Botany*. **68(7)**: 1625–1637p.
- SUN C., LIU L., LU L., JIN C., LIN X. (2018): Nitric oxide acts downstream of hydrogen peroxide in regulating aluminum-induced antioxidant defense that enhances aluminum resistance in wheat seedlings. *Environmental and Experimental Botany*. **145**:95-103p.
- SUZUKI N., RIVERO R. M., SHULAEV V., BLUMWALD E., MITTLER R.(2014): Abiotic and biotic stress combinations. *New Phytologist*. **203**:32-43p.
- SYTAR, O., KUMARI, P., YADAV, S. (2019): Phytohormone priming: regulator for heavy metal stress in plants. *Journal of Plant Growth Regulation*. **38**:739–752 p.
- SMETHURST C.F., SHABALA S. (2003): Screening methods for waterlogging tolerance in lucerne: comparative analysis of waterlogging effects on chlorophyll fluorescence, photosynthesis, biomass and chlorophyll content. *Functional Plant Biology*. **30**:335–343p.
- SMITHA K., SUNIL K. M. (2016): Influence of growing environment on growth characters of cucumber (*Cucumis sativus*). *Journal Tropical Agriculture*. **54(2)**:201-203.
- SPERLING O., KARUANAKARAN R., EREL R., YASUOR H., KLIPCAN L., YERMIYAHU U. (2019): Excessive nitrogen impairs hydraulics, limits photosynthesis, and alters the metabolic composition of almond trees. *Plant Physiology and Biochemistry*. **143**:265–274p.
- SZEGŐ A., BADICS E., GUBALA D., OSZLÁNYI R., BAT-ERDENE O., KAPPEL N., PAPP I., KISS-BÁBA E. (2019): Diverse responsiveness of dehydrin genes to abscisic acid and water stress treatments in cucumber F1 cultivar hybrids. *The Journal of Horticultural Science & Biotechnology*. **94(6)**:726-734

- SZIRA F., BALINT A.F., BÖRNER A., GALIBA G. (2008): Evaluation of drought-related traits and screening methods at different developmental stages in spring barley. *Journal of Agronomy and Crop Science*. **194(5)**:334–342.
- TALANOVA V. V., TOPCHIEVA L. V., TITOV A. F. (2006): Effect of abscisic acid on the resistance of cucumber seedlings to combined exposure to high temperature and chloride. *Biology Bulletin*. **33(6)**:619–622p.
- TAIZ L., ZEIGER E., MOLLER I. M., MURPHY A. (2015): 24 th Chapter: Abiotic stress. *In Plant Physiology and Development. 6th Edition*. ISBN10 1605352551
- THOLE J. M., BEISNER E.R., LIU J., VENKOVA S. V., STRADER L. C. (2014): Abscisic acid regulates root elongation through the activities of auxin and ethylene in *Arabidopsis thaliana*. *G3 GENES, GENOMES, GENETICS*. **4(7)**:1259-74p.
- UEDA Y., KONISHI M., YANAGISAWA S. (2017): Molecular basis of the nitrogen response in plants. *Soil Science and Plant Nutrition*. **63(4)**:329–341p.
- VALCÁRCEL J. V., PÉREZ-DE-CASTRO A., DÍEZ M., J., PEIRÓ R. (2018): Molecular characterization of the cucumber (*Cucumis sativus* L.) accessions held at the COMAV's genebank. *Spanish Journal of Agricultural Research*. **16(1)**:11 p.
- VÁRI E. (2014): Ökológiai és agrotechnikai tényezők hatásának összehasonlító vizsgálata eltérő fiziológiájú gabonanövényeknél. Hajnóczy Jenő Növénytermesztési, Kertészeti és Élelmiszertudományok Doktori Iskola, doktori értekezés. Debrecen
- WANG S., SIU X., HU L., SUN J., WEI Y., ZHANG Z. (2010a): Effects of exogenous abscisic acid pre-treatment of cucumber (*Cucumis sativus*) seeds on seedling growth and water-stress tolerance. *New Zealand Journal of Crop Horticultural Science*. **38(1)**:7-18p.
- WANG H., ZHAO Z., QIAN C., SUI Y., MALIK A. A., CHEN J. (2010b): Selection of appropriate reference genes for gene expression studies by quantitative real-time polymerase chain reaction in cucumber. *Analytical Biochemistry*. **399(2)**:257-261p.
- WANG Y., JI K., DAI S., HU Y., SUN L., LI Q., CHEN P., SUN Y., DUAN C., WU Y, LUO H., ZHANG D., GUO Y., LENG P. (2013): The role of abscisic acid in regulating cucumber fruit development and ripening and its transcriptional regulation. *Plant Physiology and Biochemistry*. **64**: 70-79p.

- WANG H., LI J., CHENG M., ZHANG F., WANG X., FAN J., WU L., FANG D., ZOU H., XIANG Y. (2019): Optimal drip fertigation management improves yield, quality, water and nitrogen use efficiency of greenhouse cucumber. *Scientia Horticulturae*. **243(3)**:357-366p.
- WHITE P. J., BROADLEY M. R. (2003): Calcium in plants. *Annals of Botany*. **92(4)**:487–511.
- XIA X.J., WANG Y.J., ZHOU Y.H., TAO Y., MAO W.H., SHI K., ASAMI T., CHEN Z., YU J.Q. (2009): Reactive oxygen species are involved in brassinosteroid-induced stress tolerance in cucumber. *Plant Physiology*. **150(2)**:801–814p.
- XUE S., DONG M., XU S., PANG J., ZHANG W., WENG Y., REN H. (2019): Classification of fruit trichomes in cucumber and effects of plant hormones on type II fruit trichome development. *Planta*. **249**:407–416p.
- YAN S., CHE G., DING L., CHEN Z., LIU X., WANG H., ZHANG X. (2016): Different cucumber CsYUC genes regulate response to abiotic stresses and flower development. *Scientific Reports*. **6**:20760p.
- YANG X., WANG X., WEI M., HIKOSAKA S., GOTO E. (2009): Changes in growth and photosynthetic capacity of cucumber seedlings in response to nitrate stress. *Brazilian Journal of Plant Physiology*. **21(4)**:146-152p.
- YOU J. , CHAN Z. (2015): ROS regulation during abiotic stress responses in crop plants. *Frontiers in Plant Science*. **6**:1092p.
- YU Z., WANG X., ZHANG L. (2018): Structural and functional dynamics of dehydrins: A plant protector protein under abiotic stress. *International Journal of Molecular Sciences*. **19**:3420p.
- ZANDALINAS S. I., MITTLER R., BALFAGÓNA D., ARBONAA V., GÓMEZ-CADENAS A. (2018): Plant adaptations to the combination of drought and high temperatures. *Physiologia Plantarum*. **162**: 2–12p.
- ZHANG G.W., LIU ZL., ZHOU JG., ZHU YL. (2008): Effects of Ca(NO₃)₂ stress on oxidative damage, antioxidant enzymes activities and polyamine contents in roots of grafted and non-grafted tomato plants. *Plant Growth Regulation*. **56**:7–19p.
- ZHANG R., SUN Y., LIU Z., JIN W., SUN Y. (2017): Effects of melatonin on seedling growth, mineral nutrition, and nitrogen metabolism in cucumber under nitrate stress. *Journal of Pineal Research*. 12403p.

ZHAO X., PANG J., FU J. (2017): Application of spontaneous photon emission in the growth ages and varieties screening of fresh chinese herbal medicines. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine: Ecam.* **5**:1-10p.

ZHOU Y., HU L., YE S. (2018a): Genome-wide identification of glutathione peroxidase (GPX) gene family and their response to abiotic stress in cucumber. *Biotechnology.* **8**:159p.

ZHOU Y., HU L., XU S., JIANG L., LIU, S. (2018b): Identification and transcriptional analysis of dehydrin gene family in cucumber (*Cucumis sativus*). *Acta Physiologicae Plantarum.* **40**: 144p.

ZHU J.K., HASEGAWA P. M, BRESSAN R. A., BOHNERT H.J. (1997): Molecular aspects of osmotic stress in plants. *Critical Reviews in Plant Sciences.* **16(3)**: 253-277p.

ZHU J., BIE Z.L., LI Y.N. (2008): Physiological and growth responses of two different salt-sensitive cucumber cultivars to NaCl stress. *Soil Science & Plant Nutrition.* **5(3)**:400–407p.

Internetes oldalak:

FAOSTAT (2019):Global Production of Cucumbers and gherkins. FAO.

http://www.fao.org/faostat/en/#rankings/countries_by_commodity. Accessed 20 March 2019

www.szentesimag.hu

<http://zki.hu/uborkak>

[Zöldség-, fűszer- és gyógynövény termékkatalógus, 2012, Réde](#)

uniprot.org/uniprot/A0A0A0LQ87

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Elsőként szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek és volt tanszékvezetőmnek, Dr. Papp István egyetemi tanárnak a szakmai irányításáért, tanácsaiért, melyek nélkül jelen dolgozat nem készülhetett volna el, valamint hálás vagyok, hogy a tanszéken folyó munkálatokban PhD hallgatóként, majd munkatársként részt vehettem, bizalmat kaptam Tőle, hogy PhD fokozatomat megszerezhessem

Rendkívüli hálával tartozom Növényélettan és Növényi Biokémia Tanszéken dolgozó Dr. Szegő Anitának, akinek érdemeit itt a korlátozott terjedelemnek köszönhetően nem tudom felsorolni. annyit elmondhatok, hogy remek kolléga, remek szakember és Nélküle ez a dolgozat nem készült volna el.

Hasonló erélyű hálával tartozom szintén, a Tanszék adjunktusának, Dr. Iman Mirmazlounnak, akivel igaz rövid ideig együtt dolgoztunk a kísérleteket illetően, de önzetlen magatartásával és cikk elkészülésében való segítségnyújtásával szintén hozzájárult, hogy a dolgozat sikeresen elkészüljön.

Továbbá hálás vagyok jelenleg munkatársamnak, Dr. Stefanovicsné Bányai Évának, aki szárnyai alá vett a jelenlegi munkahelyemen.

Köszönettel tartozom mindenkori kollégáimnak és egyben barátnőmnek, Dr. Deák Csillának, akivel számos kellemes órát töltöttünk együtt, mind formai, mind tartalmi szempontból is hathatós segítséget nyújtott a dolgozat írása közben. Továbbá Dorogi Barbarának, aki a konferenciáimat, utazásaimat és egyéb beszerzésekkel kapcsolatos ügyeket intézte.

Köszönettel tartozom a tanszék szakdolgozóinak Pápai Bánknak, Szántó Fruzsínának és Sahid Jamalnak, akik segítettek munkámat és nem kevés vidám órát tölthettünk együtt a mérések során.

Külön köszönet illeti a mostani munkahelyemen lévő kollégáknak, közülük Lippai Erzsébetnek, Rédei Rékának és Dr. Abrankó László jelenlegi tanszékvezetőmnek, aki lehetőséget adott, hogy befejezhessem a dolgozatom elkészítését.

Nem utolsósorban családomnak, akiknek ezt személyesen teszem meg, majd ha végeztem méltó ünneplés keretein belül.