



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

Doktori értekezés tézisei

DOI: 10.54598/000570

Oszlányi Réka

Budapest

2021

A doktori iskola

megnevezése:	Kertészettudományi Doktori Iskola
tudományága: tudományok	Növénytermesztési és kertészeti
vezetője: tanár,	Zámboriné dr. Németh Éva, DSc, egyetemi 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

A KUTATÁS ELŐZMÉNYEI, CÉLKITŰZÉSEK

A klímaváltozás éveiben hangsúlyossá váltak az abiotikus stresszek hatásaival kapcsolatos kutatások. A termesztésbe vont haszonnövényeink nagy része stressztűrésük javítására szorul. Így a növénynemesítés fókuszában már nem kizárólagosan a legjobb terméshozamú fajták előállítására, hanem a kedvezőtlenebb klíma hatásainak ellenállóbb genotípusok létrehozása is áll.

Az uborka (*Cucumis sativus* L.) a *Cucurbitaceae* család egyik legnagyobb mennyiségben nevelt, gazdasági szempontból fontos, nem klimaktérikus termésű (Jasso-Chaverria 2005; Wang et al, 2013), általában nyersen, vagy tartósított formában is fogyasztott zöldségféléje. Számos nemesített változata ismert (Wang et al, 2010). 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 tulajdonságait vizsgáló kutatásokkal elősegíthető új fajták létrehozása, ráadásul ezek az adatok hozzájárulhatnak korszerűbb termesztési technológiák kidolgozásához is.

A szárazföldi növények folyamatosan ki vannak téve a külső környezet hatásainak. Egy környezeti paraméter akkor tekinthető stresszhatásnak, ha annak intenzitása, fennállásának időtartalma, mértéke kívül esik a növény által preferált tartományból, ahol növekedés és a szaporodás optimális, azaz csak genetikailag korlátozott (Taiz et al, 2015). A növények jelentős anatómiai és fiziológiai változással reagálnak a megváltozott környezethez a túlélés érdekében (Maryan, 2019). A stresszhatásnak köszönhetően általában 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 elértől, így gazdaságilag fontos növényeknél jelentős károkkal számolhatunk.

A növényi szerveződés, mint komplex biológia rendszer, különböző gének, transzkripciós faktorok, egyéb fehérjék sokaságán keresztül alakítja ki alkalmazkodását a megváltozott környezethez. Az antioxidáns rendszer és a növényi hormonok által koordinált egyéb válaszok együttesen védelmet jelenthetnek a növények számára a stresszek ellen (Kellös et al, 2008). A szárazság másodlagos stressz tényezőket indukál, ezek az oxidatív és az ozmotikus stressz (Yu et al, 2018) ennek okán ezek a legtöbbit kutatott abiotikus stresszfaktorok között szerepelnek (Abedini et al, 2017). A szabadon hajtattott növények napi szinten ki vannak téve az abiotikus stresszeknek. Rosszul megválasztott termőterületen a hő-, hideg-, szárazság-, víz, só-, fagy-, vagy fénystressz kedvezőtlenül befolyásolhatják a növény növekedését, fejlődését. Az alkalmazkodás az abiotikus stresszekhez sok esetben az életfolyamatok károsodásával járhat együtt, amely termés mennyiségének és minőségének romlásához vezethet. Ennek okán a termesztésben bevont fajták stressztoleranciájának vizsgálata kulcsfontosságú, így a kapott eredmények ismeretében optimális termesztési körülmények dolgozhatók ki az adott fajtára nézve (Ördög és Molnár, 2011). Mint újonnan előtérbe kerülő stressztényező, fontos megemlítenünk, hogy 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 (túltrágyázás).

Az abszcizinsav egy olyan növényi stresszhormon, amely elősegíti a stresszek elleni akklimációs válasz kialakulását a növényekben. Hatása függ az aktív hormon mennyiségétől a célszövetben, valamint annak abszcizinsav érzékenységétől (Lorrai, 2018). Az ABA endogén módon történő termelődése végigkíséri a növény vízhiányos állapotát, valamint a magok érését (Fujita et al,

2011). Kiemelendő, hogy a szárazságstressz elleni tolerancia és az abszcizinsav érzékenység között szoros összefüggés van (Deák et al, 2017).

A stresszhatásra indukálódó, vagy külsőleg alkalmazott abszcizinsav dehidrin fehérjék termelődését idézheti elő. A dehidrinek (DHN) akkumulációját eddig főként a sejtek vízhiányos állapotában vagy hideghatás esetén vizsgálták (Kosová et al, 2014; Greather & Boddington, 2014; Azarkovich et al, 2016).

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, 2004).

Célkitűzések

1. Meg kívántuk határozni, hogy van-e különbség a növekedésre jellemző paraméterekben (hajtás-, hipokotil- és gyökérszet hossznövekedés, levélfelület kiterjedés, szárazanyag-tömeg gyarapodás) a szabadföldi ('Szatmár', 'Szenzáció', 'Joker') és üvegházi ('Americana', 'Prior', 'Oitol') termesztésre nemesített uborkafajták között.
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.

ANYAG ÉS MÓDSZER

Kísérletben felhasznált növények és nevelésük

A kísérletekhez három szabadföldi ('Joker', 'Szatmár', 'Szenzáció') és három üvegházi ('Prior', 'Oitol', 'Americana') uborkafajtával dolgoztunk. A palánták neveléséhez fajtánként négy magot 20 cm átmérőjű cserepekben kb 120 g perlittel körül bélelt 7,5×7,5×6,5 cm-es kőzetgyapot kockába (Grodan, Netherlands) vetettünk el. A palánták kezelése kísérletenként változott, lásd később.

Az *in vitro* kísérlethez fajtánként 15-15 magot, szűrőpapírral bélelt 18 cm átmérőjű petricsészékbe vetettünk, majd 20 ml Mock oldatot adtunk a kontroll, illetve 20 ml 5 μM koncentrációjú abszcizinsav oldatot az ABA kezelt növényekhez. A növények nevelése 7 napon át hosszú nappalos megvilágítás (16 óra fény/8 óra sötét, fényintenzitás: 150 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), valamint 25 °C hőmérséklet, 55-60 % relatív páratartalom mellett, fényszobában történt. A növények kezelése kétnaponta zajlott 30 ml Mock illetve 5 μM ABA oldattal.

Az uborkanövények öntözéséhez módosított Hoagland tápoladot használtunk (Kappel, 2011), (Matsumoto & Tamura, 1981; Alan, 1989).

Morfológiai paraméterek vizsgálata

Uborkanövények hajtáshosszát, hipokotilhosszát, gyökérhossz értékeit határoztuk meg. A perlitben nevelt palánták hajtásának és gyökérzetének szárazanyag-tömegét mértük meg, az ABA kísérletekhez a hajtások friss tömegét rögzítettük.

Levélfelület értékeket az ImageJ program segítségével számoltunk (ImageJ, Image Processing and Analysis in Java, USA). A sziklevelek felületét a $LA=k(s*h)$ (s: szélesség, h: hosszúság, $k=0,857$) képlettel határoztuk meg cm^2 -ben megadva.

RNS izolálás és RT-PCR

RNS kivonása TRI reagenssel (Molecular Research Center, USA) és CTAB módszerrel (Jaakola et al, 2001) történt a gyártók által megadott instrukciók által. Az abszcizinsavval végzett kísérletek esetében a cDNS szintézis a RevertAid First Strand cDNA Synthesis kit (Thermo Fisher Scientific Inc., USA) használatával valósult meg. A qRT-PCR reakciók StepOnePlus Real-Time PCR System (Applied Biosystems, USA) készüléken futottak. Az indukció mértékét $\Delta\Delta C_t$ módszerrel határoztuk meg (Bookout & Mangelsdorf, 2003). A különböző töménységű Hoagland oldatokkal nevelt növényeken végzett kísérleteknél a cDNS szintézishez Reverse Transcriptase kit (Thermo Scientific) kitet használtuk. A primereket a *CsDHN1*, a *CsDHN2*, és a *CsDHN3* *CsAPX*, *CsGR*, *CsGPX*, uborka génekre és a kontrollként használt *CsAct-3* génre terveztük.

A fotoszintetikus aktivitás mérése

A fotoszintetikus aktivitás értékeit egy IRGA rendszerű fotoszintézis mérővel mértük (ADC Bioscientific Limited, LCi Console, szériaszám: 31926, Herts, UK), a növények minden második levelének értékeit vettük fel, így vizsgáltuk a fotoszintézis aktivitást (A érték, $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$).

Antioxidáns kapacitás meghatározása FRAP módszerrel

Az uborka növények leveleiből készült extraktum antioxidáns kapacitásának meghatározása FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma) módszerrel történt (Benzie & Strain, 1999).

Gvajakol peroxidáz aktivitás mérése POD módszerrel

A gvajakol peroxidáz aktivitásának mérésére munkánk során a Chandrakar és mtsai által 2016-ban kidolgozott protokolt használtuk, némi módosítással.

Lipidperoxidáció mérése TBARS tartalom meghatározásával

A levélszövetekben az lipidperoxidáció során képződő MDA tartalmat határoztuk meg, koncentrációját nmol g⁻¹ (friss tömeg) mértékegységben adtuk meg (Hodges et al, 1999).

Lipidperoxidáció mérése biofoton emissziós képalkotó vizsgálattal

A méréseket 21 napos uborkanövényeken NightShade LB 985 Plant Imaging System (Berthold Technologies, Bad Wildbad, Germany) műszerrel végeztük. A növényekről szedett, hasonló méretű, ép levelekről sötétkamrában készültek felvételek érzékeny, termoelektrikusan hűtött (-70 °C) CCD kamerával (NightOWLcam, Berthold Technologies).

Ozmotikus stressz vizsgálata

A mérésekhez mikro-oszométert (Osmomat 030-D; Gonotec, Berlin, Germany) használtunk. A mérési módszer háttérében a híg oldatok koncentráció függvényében bekövetkező fagyáspontcsökkenése áll, amely arányos az ozmolit tartalommal (Bajji et al, 2001).

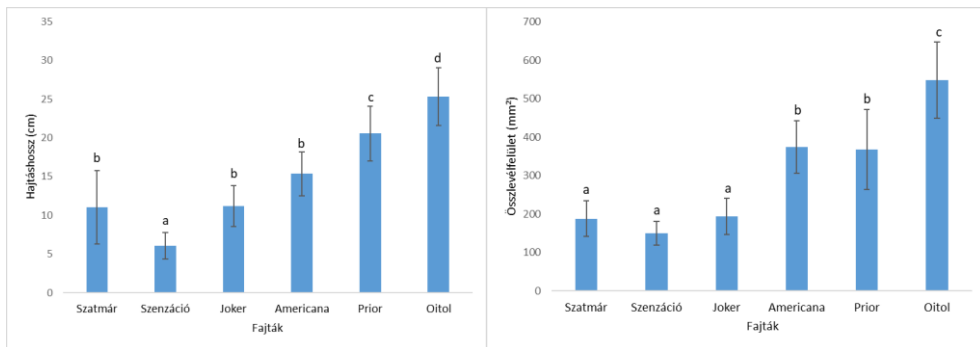
A kapott adatok statisztikai értékelése

A kapott adatok kiértékelését a Microsoft Excel 2013 (Microsoft Corporation, 2013) táblázatkezelő programmal a statisztikai elemzésként használt korreláció és egyszempontos ANOVA analízist és az ehhez kapcsolódó homogenitás vizsgálatot az IBM SPSS Statistics , valamint az R statisztikai programokkal készítettük el.

EREDMÉNYEK

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 csapvízzel locsoltuk kétnaponként a palántákat. Az 'Oitol' fajta átlag magassága nagyobb értéket vett fel a többihez képest, a legalacsonyabb növekedésű a 'Szenzáció' fajta volt.



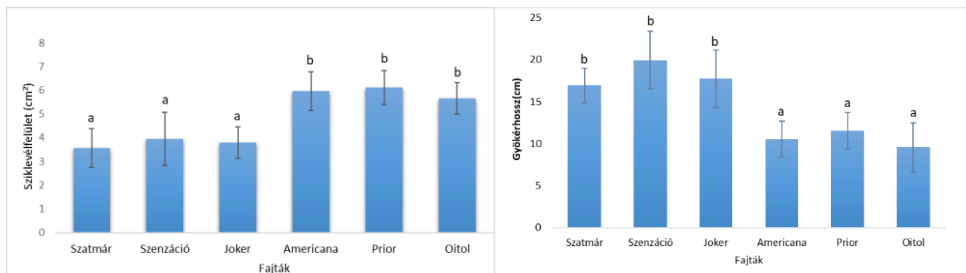
1. ábra. Tőzegkeverékben nevelt uborkafajták hajtáshossz és fotoszintetikus aktivitás értékei.

A 1 ábra alapján elmondható, hogy a fotoszintetikus aktivitás mérésénél jelentősebb különbség nem volt tapasztalható a vizsgált fajták között, egyedül a 'Prior' fajta különbözött szignifikánsan a többiektől. Az összlevél felület kiterjedésében kiemelkedő értéket adott az üvegházi fajták adják.

Morfológiai paraméterek vizsgálata perlitben nevelt uborkafajtákon

Három szabadföldi ('Szatmár', 'Szenzáció', 'Joker') és három üvegházi ('Americana', 'Prior', 'Oitol') uborkafajta palántáit perlit közegben neveltük. 21 napos növények gyökérzetének megnyúlását, hipokotil hosszát, hajtás hosszát,

majd a növényenkénti összlevél felületet, ezt követően a palánták hajtásának és gyökérzetének száraztömegét mértük le.

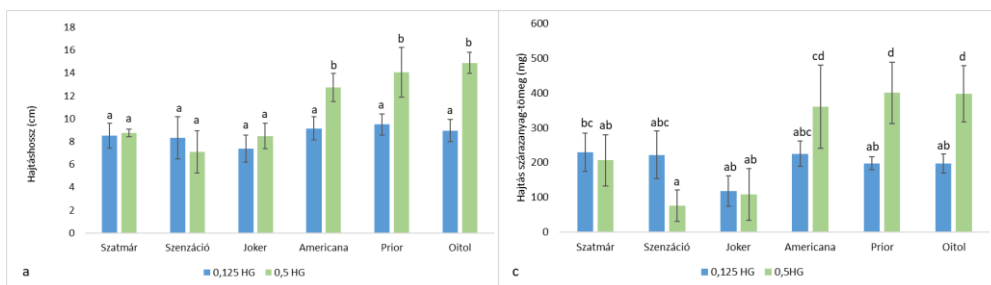


2. ábra. Perlitben nevelt uborka fajták növekedési paramétereit.

A gyökérhossz esetében a szárazföldi fajták, a hipokotilhosszok és a hajtás száraztömeg értékei esetén az üvegházban hajtattak rendelkeznek szignifikánsan nagyobb értékekkel. Ami a sziklevelek felületét illeti a szabadföldben hajtattott fajták kisebb mérete jól elkülöníthető az üvegházban neveltek nagyobb szikleveleitől. 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.

Tápanyagellátottság hatása 0,125x és 0,5x erősségű Hoagland oldat alkalmazásával

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 0,125x és 0,5xHG oldattal. A 21. napos növények hajtáshossz, hipokotilhossz, hajtás szárazanyag-tömeg és növényenkénti összlevélfelület határoztuk meg.

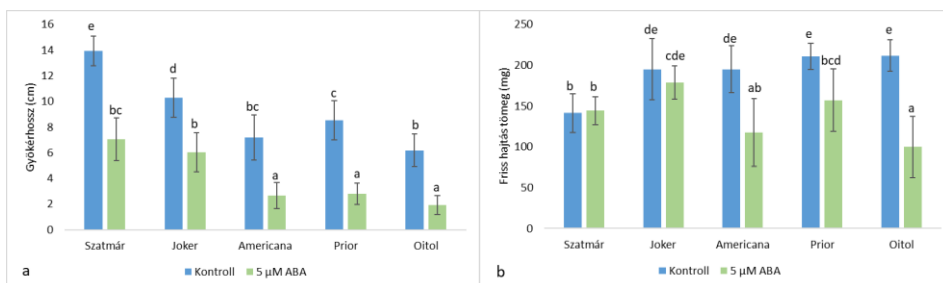


3. ábra A vizsgált uborka fajták növekedési paraméterei 0,125 x és 0,5 x Hoagland oldattal történő tápoldatozás során.

A 0,5x töménységű Hoagland oldattal öntözött növényeknél a hipokotilhossz és a hajtás szárazanyag-tömeg értékekre az üvegházi fajtáknál minden esetben magasabb értékeket kaptunk. Az összlevélfelületek különbségei kevésbé voltak egységesek, a legkisebb értékeket a szabadföldi fajtáknál, míg a legnagyobbat az 'Oitol' üvegházi hibrid esetében mértük a magasabb tápoldat koncentráció alkalmazásánál (3. ábra).

***In vitro* végzett kísérletek ABA érzékenység meghatározására**

A hat fajtát a Petri csészékben 5 μ M ABA és kontroll, mock oldattal kezeltük. A 'Szenzáció' fajtát kivettük méréseinkből a vontatott csírázása miatt.

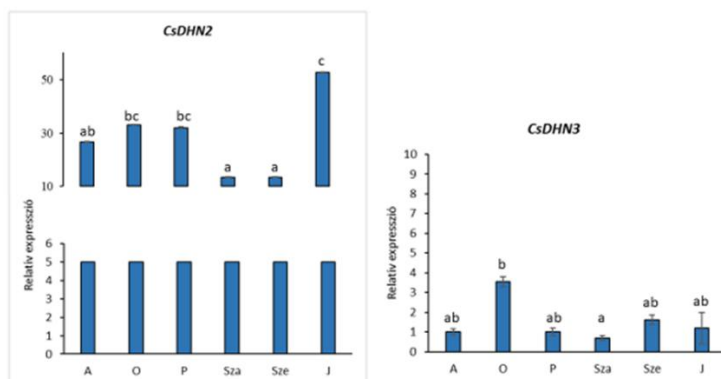


4. ábra. *In vitro* körülmények között nevelt uborka fajták ABA érzékenységének vizsgálatainak eredményei.

Ami a gyökérszár hosszát illeti, az összes fajta esetében szignifikáns különbség volt kimutatható a hormon hatására. A hajtás növekedés tekintetében, szignifikáns eltérés volt az üvegházba hajtattott 'Prior' és 'Oitol' és 'Americana' fajtáknál a kezelt és kontroll vonalak között (4 ábra).

Dehidrin gének átírásának mérése Real Time PCR-rel perlitben nevelt uborkafajtákon külsőleg alkalmazott ABA oldattal történő egyszeri kezelés során

Vizsgálatainkban a *CsDHN2* és a *CsDHN3* dehidrin gének expresszióját figyeltük meg külsőleg alkalmazott abszcizinsav (ABA) hatására. Az RT-PCR és kvantitatív RT-PCR eredményei alapján elmondható, hogy a *CsDHN2* gén indukciója erősebbnek bizonyult az ABA kezelés hatására. 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 fajták közötti különbség nem volt szignifikáns (5. ábra).



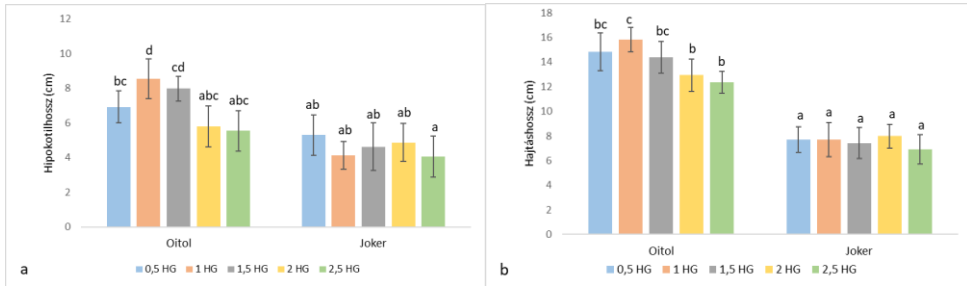
5. ábra. *CsDHN2* és *CsDHN3* génkifejeződés mérése RT-qPCR módszerrel a vizsgált uborkafajták ABA kezelés hatására.

Különböző koncentrációjú Hoagland oldattal kezelt uborkafajták vizsgálatai

Morfológiai paraméterek:

Két uborkafajtát (üvegházi 'Oitol', szabadföldi 'Joker') vizsgáltunk öt különböző töménységű Hoagland oldattal (0,5×, 1×, 1,5×, 2×, 2,5× HG) történő

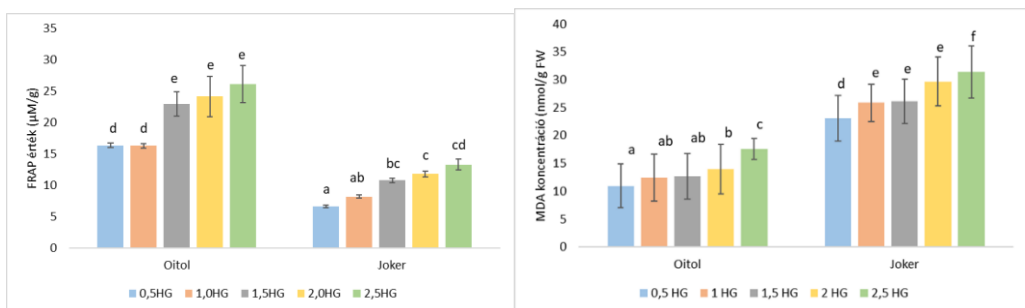
tápoldatozást követően. Hajtáshossz, hipokotilhossz és összlevélfelület értékek szerint is az 'Oitol' fajta szignifikánsan gyorsabban nőtt, mint a 'Joker'. Különböző tápanyag ellátottság mellett a fajtákon belül ugyanakkor szembeötlő különbség a növények növekedésében nem volt tapasztalható (6. ábra).



6. ábra. 'Oitol' és 'Joker' uborka fajták morfológiai paraméter értékei 5 különböző koncentrációjú Hoagland oldattal történő kezelés után.

Oxidatív stresszre jellemző molekuláris markerek vizsgálatai:

A gvajakol peroxidáz aktivitás mérése az Anyag és módszerek fejezetben ismertett eljárás szerint történt meg frissen vett 21. napos növények leveleiből. A 8. ábrán is jól látható, hogy fajtákon belül a kezelésekek között a 2,5 X HG tápoldatozást követően ugrik meg az enzimaktivitás értéke, a fajták között szignifikáns különbség azonban nem mutatható ki.



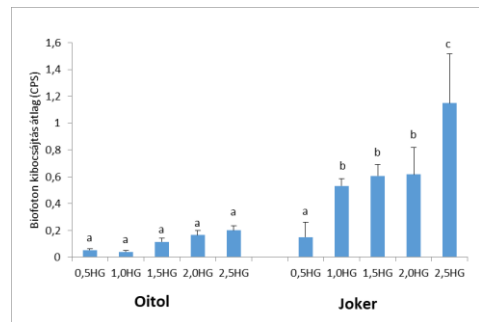
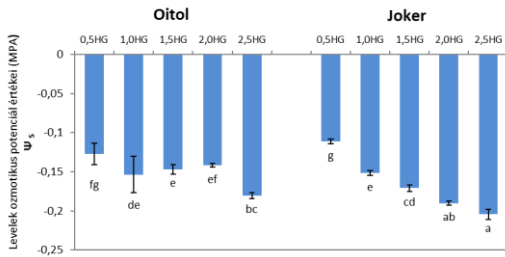
7. ábra. Különböző erősségű Hoagland oldattal kezelt 'Oitol' & 'Joker' genotípusok FRAP és MDA értékei.

A 'Joker' fajta a standard, 0,5x HG, és megemelt tápoldatozás mellett is szignifikánsan alacsonyabb FRAP értékekkel bír, mint az 'Oitol'. Fajtán belül mindkét esetben az 1,5x ,2x és 2,5x kezelés esetében szignifikánsan magasabb FRAP értékeket kaptunk, mint 0,5x és az 1x HG kezelés során.

A lipidperoxidáció mértékének mérésénél a 'Joker' fajta esetében szignifikánsan magasabb MDA értékeket kaptunk az összes kezelést illetően. Fajtákon belül is tapasztalható volt különbség az eredményeket tekintve. Az 'Oitol' és 'Joker' fajtánál is a tápoldat koncentráció növekedésével a malondialdehid tartalom szignifikánsan nőtt. Mindkét fajta esetében azt tapasztaltuk, hogy a levelekben lezajló lipidperoxidáció mértéke és az alkalmazott tápoldat koncentráció között pozitív kapcsolat áll fenn (7. 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).

Ozmotikus potenciál és biofoton emisszió

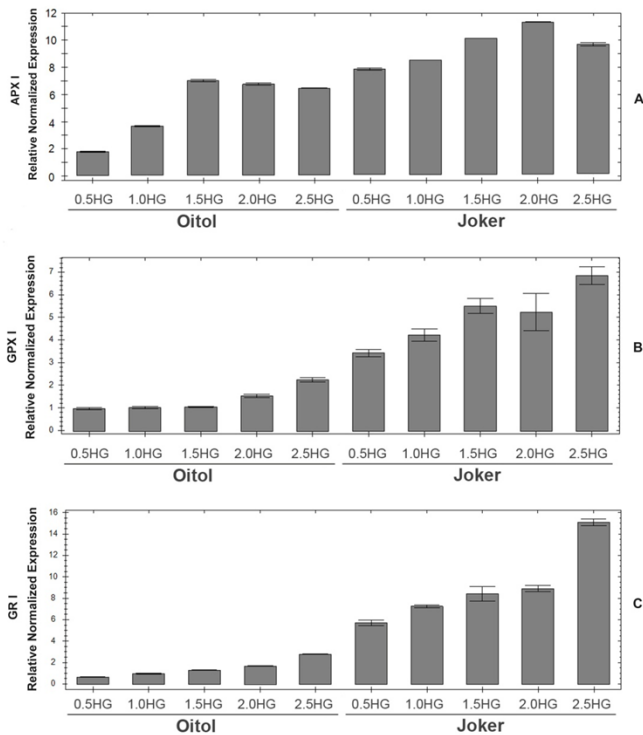
Az ozmotikus potenciál meghatározásánál a két fajta között szignifikáns eltérés volt tapasztalható, a 'Joker' fajta rendelkezett alacsonyabb értékekkel (11. ábra). Fajtákon belül is található volt szignifikáns különbség, a töményebb Hoagland oldatokkal történő kezelés mindkét fajtánál alacsonyabb ozmotikus potenciált eredményezett. A használt tápoldatok koncentrációja és a növényeken mért ozmotikus potenciál értékek között tehát negatív kapcsolat állt fenn.



8. ábra Különböző erősségű Hoagland oldattal kezelt 'Oitol' és 'Joker' genotípusok leveleinek ozmotikus potenciál és biofoton emisszió értékei.

Öt, különböző töménységű Hoagland oldattal tápoldatozott 'Oitol' és 'Joker' uborka növényeken dehidrin gének és néhány antioxidáns aktivitású enzim génjének transzkriptom analízise történt meg. A qPCR analízis során szignifikáns különbség volt kimutatható az alacsony és magas koncentrációjú Hoagland oldatokkal tápoldatozott 'Oitol' növények és a két vizsgált hibrid esetében a *DHN3* gén expresszióját illetően (8. ábra).

A lipidperoxidációs folyamatok vizsgálatához az ultra-gyenge biofoton emisszió (UPE) képalkotó analízist alkalmaztuk. A másodpercenként távozó biofotonok száma is meghatározásra került (CPS érték: count per second). Az 'Oitol' fajta esetében a különböző kezeléseknél kapott értékek között nincs szignifikáns különbség. A 'Joker' fajtánál a legalacsonyabb érték a 0,5 HG kezelésnél született, a következő értékcsoporthoz a 1 x, 1,5 x, valamint a 2 x HG oldattal kezelt növények adják, a kiugróan legmagasabb érték a 2,5 x HG kezelés során keletkezett (13. ábra).



9. ábra. Az 'Oitol' és 'Joker' hibridek *CsAPXI*(A), *CsGPXI*(B), *CsGRI*(C) és *CsDHN3*(D) génjeinek relatív normalizált expressziója emelkedő koncentrációjú Hoagland oldattal történő kezelés után.

Az *APXI* gén expressziója az 'Oitol' fajtánál a „normál” tápoldatozásnál alacsony expressziót mutat, míg a töményebb Hoagland oldatoknál a gén kifejeződése ugrásszerűen megnő. A 'Joker' fajtánál minden esetben magas kifejeződés jellemzi a vizsgált gént. A *GPXI* és a *GR I* gének esetében a két fajta között szintén 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 (9. ábra).

KÖVETKEZTETÉSEK

Morfológiai paraméterek tőzegkeverékben és perlitben nevelt uborkafajták esetében

Tőzegkeverékben nevelt növények

Hajtáshossz tekintetében az üvegházi fajták általában magasabb értékeket adtak, ez fokozott megnyúlásos növekedésükre utal. A szabadföldi és üvegházi fajták csoportjai levélfelület szerint is elkülönültek egymástól. Ennek magyarázata a fajta típusok eltérő igényei. Az egyes szabadföldi és üvegházi fajták más-más környezeti viszonyokhoz és nevelési körülményekhez kell, hogy alkalmazkodjanak termesztés technológiájukból adódóan. (Ackerl et al. 2004). A fotoszintetikus aktivitás esetében nem találtunk szignifikáns különbséget egyik fajta esetében sem. Ha az egységnyi felületre jutó fotoszintetikus aktivitások közel azonosak, a besugárzásnak jobban kitett 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.

Morfológiai paraméterek vizsgálata hat fajta alkalmazása és perlitbe vetett növények esetében

A morfológiai vizsgálatokat jobban kontrollálható nevelési rendszerben folytattuk. A fajtacsoportok közötti különbségek itt is jól láthatók. A megnyúlásos növekedésre jellemző hipokotil hossz esetében az üvegházi, a gyökérhossz esetében a szabadföldi fajták adtak magasabb értékeket. Feltehető, hogy az üvegházi fajták hajtásánál 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 sziklevel felületet a megnyúlásos növekedéssel korreláló, érzékeny paraméternek találtuk. Ez az egyszerűen lemérhető növényi rész a nemesítési

vonalak szelekciójában lehetőséget adhat a növekedési erély korai megállapítására.

Tápanyagellátottság hatása 0,125x és 0,5x erősségű Hoagland oldatok alkalmazásával

A különböző összetételű tápoldaton nevelt uborkák esetében jelentős különbségek voltak tapasztalhatók a morfológiai paraméterek tekintetében (Li & Cheng, 2015), ezt a tényt a hajtáshossz értékei alátámasztották, hogy az üvegházi uborkafajták nagyobb megnyúlásos növekedésre képesek (0,5x HG értékek). A tápoldat koncentráció lecsökkenését (0,125x HG) ugyanakkor jobban megsínylik, arra érzékenyebbek. A mért hipokotil hosszak is hasonló tendenciát mutattak, de kevésbé bizonyultak érzékeny paraméternek. A hajtás száraztömeg értékek normál (0,5x HG) tápoldatozásnál szintén az üvegházi hibrideknél voltak magasabbak. Mivel a száraztömeg és palántaméreték különbségei a fajtacsoportok között hangsúlyosabbak a levélfelület különbségeknél, ezért feltételezhető, hogy az üvegházi fajták erőteljesen megnyúló száraikban mutathatnak nagyobb biomassza gyarapodást. Az üvegházi fajták érzékenysége és a szabadföldiek érzéketlensége a tápoldatkoncentráció csökkentésére minden mért paraméter esetében megmutatkozott.

Külsőleg alkalmazott ABA hormonnal történő kezelés

In vitro kísérletek

A hajtás és gyökér növekedését számos tényező befolyásolja, többek között az abszcizinsav (ABA) hormon gátolhatja azokat. (Lorrai et al, 2018). A vizsgált hibridek eltérő hormonérzékenysége utalhat a fajták eltérő stressztoleranciájára. Az üvegházban nevelt fajták közel optimális feltételek mellett növekednek, emiatt az ő esetükben a stresszhormonok hatásai kevésbé kell, hogy folyamatosan megnyilvánuljanak. Eredményeink alapján elmondható, hogy az ABA kezelt és kontroll uborkafajták gyökérzetének megnyúlása között találtunk szignifikáns különbséget. A szabadföldben termesztett és üvegházban nevelt fajták válasza

között azonban nem volt egyértelmű különbség. A hajtás friss tömegének mérésénél azonban az üvegházi fajták fokozott ABA érzékenységet mutattuk ki, itt tehát egyértelmű tendenciát találtunk a két típus válasza között. A környezeti stresszeknek kevésbé kitett üvegházi hibridekben az ABA stresszhormon látható módon jelentősebb választ volt képes kiváltani.

Külsőleg alkalmazott abszcizinsav hatása a *CsDHN* gének kifejeződésére perlitbe 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 & 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. Feltehetőleg a *CsDHN3* géntermék feladata más, nem vesz részt az ABA közvetített stresszválaszokban.

Két fajta öt különböző erősségű Hoagland oldattal kezelve

Morfológiai paraméterek és a tápanyagellátottság

Elsődlegesen növekedési válaszokat vizsgáltunk, mert a növényeket érő stresszhatásoknak az egyik legjobb indikátora a gátolt növekedés (Zhang et al, 2017), amely a túlzott tápanyagbevitelnek is lehet a következménye. Öt különböző erősségű (0,5x, 1x, 1,5x, 2x, 2,5x) Hoagland oldattal történő tápoldatozás hatásának vizsgálatát végeztük el 'Oitol' és 'Joker' uborkafajtákon. A mért adatok alapján megerősítettük korábbi eredményünket, hogy a két fajta közül az 'Oitol' rendelkezett stabilan és szignifikánsan magasabb levélfelület értékekkel. A töményebb Hoagland oldat alkalmazása azonban nem eredményezett szignifikánsan kiterjedtebb levélfelületet egyik fajta esetében sem. A hipokotil hossz és a palántaméret mindkét fajta esetében 1x HG koncentrációig nőtt, ez azonban csak az 'Oitol' hipokotil hossz esetében volt szignifikáns. A

növekedés hátterében a luxus tápanyag ellátás állhat. A hipokotil hossz és a palánta méret értékek szerint a magasabb tápoldat koncentrációknál növekedés visszaesés történt, ami az 'Oitol' fajta esetében szignifikáns is volt. Ezt több stresszélettani jelenség indokolhatja. A koncentrált tápoldat ozmotikus hatása következtében a vízpotenciál grádiens a talaj és gyökerek sejtjei között csökkenhetett. A vízfelvétel így gátlódik, a növényben ozmotikus stressz alakulhat ki (Zhang et al, 2017), amely hátrányosan befolyásolja a növekedést. A túlzott tápanyagfelvétel az ionok homeosztázisát is megbonthatja. Ez is magyarázhatja, hogy a 2,5x HG oldaton nevelt 'Oitol' növények kisebb méretűek voltak, mint az 1x HG-al tápoldatozottak.

Oxidatív stressz és a stressztolerancia kapcsolata

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 mértéke összefügghet az adott fajta stressztűrő képességével. A szabadföldön hajtattott uborkafajták magasabb stressztoleranciával rendelkeznek, mint az üvegházban neveltek (Szegő et al, 2019) termesztési technológiájuknak köszönhetően. Eredményeink alapján elmondható, hogy a magasabb koncentrációjú Hoagland oldatok alkalmazása a szabadföldi 'Joker' fajtánál erőteljesebb oxidatív választ generált, mint az üvegházi 'Oitol' esetében. Magyarázatként szolgálhat az, hogy az üvegházi fajták esetében a rendszeres, intenzív tápoldatozás mellett, gyakran talajnélküli közegben történő nevelés során ezek a fajták jobban alkalmazkodtak a túlzott tápanyagbevitelhez, mint a szabadföldiek..A szabadföldiek esetében a túlzott tápanyagbevitel erélyesebb stresszállapotot idézhet elő (ozmotikus stressz, oxidatív stressz). Ha az üvegházi fajta ('Oitol') gyorsabban növekvő szöveiteibe hatékonyabban építik be az ásványi elemeket, ez magasabb ozmotikus potenciállal jár együtt. Elmondható, hogy a két fajta ásványi tápanyaggazdálkodásában és az ozmolitok által kialakított ozmotikus egyensúly beállításában jelentős különbség van. A malondialdehid

(MDA) meghatározás és az antioxidáns kapacitás (FRAP) mérés eredményei együttesen utalnak a két fajta megemelt tápoldatozást követően kialakuló, eltérő toleranciájára. Az antioxidáns rendszer kevésbé tudta kivédeni a megemelkedett tápanyag szint hatásaként fellépő oxidatív stresszt a 'Joker' fajta esetében, kevesebb antioxidáns mellett jobban kialakulhatott a lipidperoxidáció és az egyéb, képződő ROS vegyületek szintje is magasabb. Az oxidatív stressz kialakulásához valószínűleg hozzájárult a megnövekedett tápanyagkoncentráció által kiváltott ozmotikus stressz, amely mértéke a 'Joker' esetében volt erősebb. A lipidperoxidációs folyamatokat aktív biofoton emisszió jellemzi. A biofotonok kibocsátásának mértékéből közvetve következtethetünk a vizsgált növény oxidatív állapotára (Birtic et al., 2011). A növekvő töménységű Hoagland oldat alkalmazása a 'Joker' fajta esetében erős biolumineszcenciát váltott ki, ami erőses oxidatív stresszre utal, míg az 'Oitol'-nál nem történt szignifikáns foton kibocsátás emelkedés. A dehidrinek nagymértékben segíthetik az egyes abiotikus stresszekkel szemben kialakuló toleranciát. (Allagulova et al, 2007; Yu et al, 2018). Az alkalmazott kísérleti körülmények mellett a *CsDHN3* gén expresszióját tudtuk kimutatni, ennek kifejeződése a 'Joker' fajta esetében alacsony volt. Az 'Oitol' esetében 1,5x HG tápelem koncentrációnál, és e fölött a *CsDHN3* gén kifejeződési szintjei magasabbak voltak. A DHN3 fehérje a dehidrin fehérjecsald egy olyan osztályába tartozik, aminek tagjai membránvédő funkcióval is rendelkeznek, így a lipidperoxidációs folyamatokat gátolhatják. Magasabb *CsDHN3* expresszió mellett az 'Oitol' fajta leveleiben a megnövekedett tápelem koncentráció hatására kialakuló lipidperoxidációs folyamatok nem voltak számottevők a 'Joker' fajtához képest. Ami az antioxidáns enzimek expresszióját illeti, mindhárom enzim génjeinek expressziója alapvetően nagyobb volt a 'Joker' fajtánál, már normál tápoldatozásnál is (0,5 ×HG, 1 ×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).

Új tudományos eredmények

Az uborka F1 hibridekkel 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 lelhetők fel a fajták között. Megállapítottuk, hogy a szabadföldi hibridek gyökere jellemzően nagyobb az üvegházban hajatott hibrideknél. A sziklevel felületet a megnyúlásos növekedéssel korreláló, érzékeny paraméternek találtuk. 2. A vizsgált fajták abszcizinsav érzékenysége különböző. Elmondható, hogy a külsőleg alkalmazott abszcizinsav a szabadföldi hibridek 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 oxidatív stresszállapotában jelentős különbségeket tártak fel, amely összefügghet a fajtacsoportok stresszekkel szembeni toleranciájának különbözőségével. Az eredmények tükrében megállapítható, hogy az emelt tápoldatozás a hibridek növekedését csak kismértékben befolyásolta. 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 szintre fejeződtek ki. Ezek az eredmények a 'Joker' magasabb oxidatív terhelését 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.

IRODALOM

ABEDINI R., GHANE GOLMOHAMMADI 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**:747–763p

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.

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.

BENZIE I. F. F., STRAIN J. J. (1996): 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.

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. *Cyca* ‘fordhook giant’ grown in hydroponic cultures. *African Journal of Biotechnology*. **12(16)**:2006-2012p.

GLITS M., GÓLYA E., GYÚRÓS J., GYÖRFI 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.

GRAETHER S. P., BODDINGTON K. F. (2014): Disorder and function: a review of the dehydrin protein family. *Frontiers in Plant Science*. **5**:576p.

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.

HOAGLAND D.R. & ARNON D.I. (1950): The Water-Culture Method for Growing Plants without Soil. *California Agricultural Experiment Station, Circular-347*. 1-31p.

JANDA TIBOR (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. *Horticultural Technology*. **15(3)**:565-571p.

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.

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.

MILLNER P.D., KITT D.G. (1992): The Beltsville method for soilless production of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*. **2**:9-15p.

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.

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

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

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

YU Z., WANG X., ZHANG L. (2018): Structural and functional dynamics of dehydrins: A plant protector protein under abiotic stressz. *International Journal of Molecular Sciences*. **19**:3420p.

WANG S., SIU X., HU L., SUN J., WEI Y., ZHANG Z. (2010): 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 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.

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. *The Plant Growth Regulation*. **56**:7–19p.

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..x.

A szerzőnek az értekezés témaköréhez kapcsolódó publikációi

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*. Vol 94, 6: 726-734
doi.org/10.1080/14620316.2019.1628665 IF: 0.64

Oszlányi, R.; Mirmazloum I.; Pónya Zs.; Szegő A; Bat-Erdene O.; Papp I.: Oxidative stress level and dehydrin gene expression pattern differentiate two contrasting cucumber F1 hybrids under high fertigation treatment. *International Journal of Biological Macromolecules* Volume:161, (15):864-874,
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.06.050> IF: 4,784

Oszlányi,R.; Papp I.,(2021): Uborka (*Cucumis sativus* L.) F1 hibridek növekedési paraméterei és abszcizinsav érzékenysége. *Kertgazdaság* 2021. évf. 1. szám