

Pál Magda

**Poliaminok szerepe a stressztűrésben és kapcsolata más védővegyületekkel
gabonanövényekben**

című MTA doktori értekezésének bírálata

Pál Magda MTA doktori értekezése sokéves, jól megtervezett, egymásra épülő kísérleteinek eredményeiről ad számot, melyek legfontosabb célkitűzése a gabonanövények stressztűrő képességében szerepet játszó vegyületek azonosítása. Kultúrnövényeink igen változatos és sok tekintetben egyre kifejezettebb mértékű biotikus és abiotikus stresszhatásoknak vannak kitéve, amelyek jelentős mértékben korlátozzák a növényi produkciót, a termesztés során elérhető termésmennyiséget, és a termés minőségét is károsíthatják. A bekövetkező fiziológiai válaszok súlyos gazdasági következményeire tekintettel a munka célkitűzése aktuális és fontos.

A gabonanövények között búza-, kukorica-, árpa-, zab- és rizsfajták vizsgálatára került sor a liztharmat, alacsony hőmérséklet és UV-B sugárzás okozta, valamint az ozmotikus és kadmiumstressz, illetve ezek kombinációinak hatása alatt. A kísérletes munka egy elkülönült szegmensét képezi a poliaminokkal, bizonyos poliaminok bioszintézisét gátló anyagokkal és más, abiotikus stresszfolyamatokban szerepet játszó vegyületekkel (pl. abszcizinsav) történő kezelések fiziológiai következményeinek feltárása és a növények stressztűrő képességére kifejtett hatásaik jellemzése.

Az MTA doktori értekezés formai tekintetben megfelel a követelményeknek. Az értekezés érdemi része 150 oldal terjedelmű, amit nyolcoldalas függelék egészít ki. Az értekezés a természettudományos dolgozatok esetében megszokott fejezetekre tagolódik, ezek belső arányai kiegyensúlyozottak: Bevezetés 1,5 oldal; Irodalmi áttekintés 21 oldal; Kutatási cél 1 oldal; Anyagok és módszerek 18 oldal; Eredmények 56 oldal; Eredmények megvitatása 24 oldal, Összefoglalás 4,5 oldal; Új tudományos eredmények 1 oldal; Felhasznált irodalom 15 oldal. Az értekezésben a Rövidítések jegyzéke és a Köszönetnyilvánítás című fejezetek is megtalálhatók.

A disszertációban leírtakkal kapcsolatban az észrevételeimet és technikai jellegű kérdéseimet a szövegben való előfordulás sorrendjében teszem meg.

Az értekezés címe nem túl hosszú, ugyanakkor alapvetően jól mutatja az elvégzett kísérleti munka leglényegesebb aspektusait. Mindazonáltal véleményem szerint grammatikailag nem sikerült tökéletes megoldást választani: a „Poliaminok szerepe a stressztűrésben és kapcsolata más védővegyületekkel” megfogalmazás tisztább lett volna ilyen formában: „Poliaminok szerepe a stressztűrésben és kapcsolatuk más védővegyületekkel”.

1. Bevezetés

A munka indokoltsága jól körvonalazódik a Bevezetés című fejezetben. A megfogalmazás és szóhasználat tekintetében már itt előfordul néhány olyan megoldás, amivel a későbbiekben is gyakran találkozhat az olvasó, és amit nem tartok szerencsésnek. A talajok sókoncentrációja inkább nagy, mint magas, bár az utóbbi években kíméletlenül terjed az angol „high-low” jelzők téves fordításaként ez a szóhasználat. A transzgenikus helyett magyarul szebb a transzgénikus jelző.

2. Irodalmi áttekintés

A fejezetben bemutatásra kerülnek a növényi stresszfolyamatok, majd azon stressztényezők, melyekkel kapcsolatban kísérletes munka történt. Külön alfejezet tárgyalja a poliaminok bioszintézisét és általános fiziológiai és stresszélettani szerepüket, más kisméretű védővegyületekkel való kapcsolatukat.

Az angol „crosstalk” lefordítása valóban nem könnyű, elfogadhatónak érzem az idézőjelekbe tett „áthallása” megoldást is, de talán megfelelőbb lett volna egy tudományos dolgozatban az összekapcsolódása, átfedése stb. kifejezések használata.

A 13. oldalon az szerepel, hogy a tilakoid membránok esetében a fluiditásváltozás feltételezhetően a lipid/fehérje arány megváltozásának az eredménye, amit egy 1983-ban megjelent publikációval támasztott alá a Jelölt. Kérdésem, hogy ezen a területen történt-e előrelépés az elmúlt 37 évben, és esetleg sikerült-e ezt a feltételezést igazolni?

A 14. oldalon az elemzés kitér arra, hogy a poliaminok polikationos tulajdonságuk révén negatív töltésű makromolekulákhoz képesek kötődni, de a nukleinsavak nem szerepelnek a példák között. A későbbiekben említésre kerül a DNS és a poliaminok közötti kapcsolat (20. oldal), de felmerül a kérdés, hogy az RNS-molekulákkal történő kapcsolódásra és ennek lehetséges következményeire vonatkozóan vannak-e adatok?

A 14. oldalon található hivatkozás (Mahgoub, Abd El Azis, és Mazhar 2011) formátuma eltér a normál Harvard-típusú hivatkozástól, és a hivatkozott irodalmat nem találtam meg az Irodalomjegyzékben.

Magyar kutatók igen jelentős eredményeket értek el a fotoszintetikus pigmentek bioszintézisére és stabilitására vonatkozó információk feltárása terén kadmium okozta stresszhatás esetén. Kár, hogy az értekezés 16. oldalán, amikor a kadmium fotoszintézisre gyakorolt hatásait összegzi a Jelölt, elmaradt néhány, ide illeszkedő és fontos közlemény megemlítése, például a klorofill-bioszintézis gátlására illetve a stabil pigment-protein komplexek kialakulására vonatkozóan:

Böddi, B., Oravecz, A. R., & Lehoczki, E. (1995). Effect of cadmium on organization and photoreduction of protochlorophyllide in dark-grown leaves and etioplast inner membrane preparations of wheat. *Photosynthetica*, 31: 411-420.

Horváth, G., Droppa, M., Oravecz, Á., Raskin, V. I., & Marder, J. B. (1996). Formation of the photosynthetic apparatus during greening of cadmium-poisoned barley leaves. *Planta*, 199(2), 238-243.

A 26. oldalon úgy esik szó arról, hogy microarray vizsgálatok kimutatták a poliamin-tartalom bizonyos gének kifejeződésére gyakorolt hatását, hogy nincs hivatkozás a forrásra.

4. Anyagok és módszerek

Az értekezés egyik megkérdőjelezhetetlen erőssége az alaposan átgondolt kísérleti rendszer, a felhasznált módszerek sokszínűsége (fotoszintézis paraméterek, oxidatív stresszmarkerek, kadmiumtartalom, poliamin-tartalom, szalicilsav-tartalom, abszizinsav-tartalom, aszkorbinsav-tartalom, glutationtartalom, zsírsavanalízis, fitokelatinok meghatározása és fitokelatin-szintáz enzimaktivitás valamint génexpressziós vizsgálatok) és az elérhető legkorszerűbb technikák használata. Mindez jelentősen megnöveli a mért adatok és feltárt összefüggések megbízhatóságát.

A lisztharmatfertőzés vizsgálata során miért érdekes, hogy a kísérletekhez felhasznált búzavonalak milyen levélrozsdá-rezisztenciáért felelős géneket hordoztak? Az őszi búza, zab és árpa esetében fajtákat használtak az alacsony hőmérséklet okozta stressz vizsgálatát célzó kísérletekhez, nem „változatok”-at, ahogyan az a 31. oldalon szerepel.

Hiányzik a módosított Hoagland-tápoldat és a rizstápoldat 2. illetve 3. táblázatban feltüntetett összetételére vonatkozó irodalmi forrás. A kétféle tápoldat között a mikroelem-tartalomban több nagyságrendnyi különbség látható a legtöbb komponens tekintetében, ennek mi az oka? A 38. oldalon a mM/g dimenziót véleményem szerint mmol/g-ként kellett volna jelölni. A mM önmagában koncentrációt jelent: mmol/dm³.

A 8. táblázatban a „tervezett” megjelölés a saját tervezésű primerre vonatkozik? Jó lett volna megadni ebben a táblázatban az amplifikált fragmentumok méretét, a primerek tapadási hőmérsékletét is. A referenciagént jelölni kellett volna. Ha jól látom, az ubikvitin gént használták referenciagénként, miért erre a háztartási génre esett a választás?

A statisztikai elemzések között a vizsgált paraméterek közötti kapcsolat értékelése során az SPSS programot használta, de nem világos, hogy milyen korrelációs együtthatót számított ki (Pearson-féle?).

5. Eredmények

Az Eredmények fejezet logikus sorrendben ismerteti a külön alkalmazott és kombinált stresszhatások során jelentkező fiziológiai következményeket, majd a poliamin-kezelések hatását és ezek összefüggését más védővegyületekkel bizonyos abiotikus stresszfolyamatok során.

A poliamin-tartalomban a lisztharmat fertőzés hatására bekövetkező változások leírásakor olyan megállapítások szerepelnek több ízben, mint például: „A szabad PUT mennyisége a 3 napos kontroll növényekben nem különbözött egymástól jelentősen, szignifikáns eltérést csak a TC9 és TC26 vonalak között tapasztaltunk.” A 7. ábra B részében jól látszik, hogy a TC26 értéke jóval kisebb, mint a TC9 vonalé, de a szignifikancia nincs jelölve. Az ábrán szereplő szignifikancia értékek az adott napi kontrollhoz képest értelmezhetők, és az Anyag és módszer fejezet szerint ezek Student-féle t-próbával lettek kiszámolva. Kérdésem, hogy a fent jelzett szignifikáns differencia megállapításához sor került-e esetleg ANOVA vizsgálatra és valamilyen post-hoc tesztre (Duncan, LSD stb.) is? Egy ilyen szignifikancia-vizsgálat azért is fontos lett volna, hogy támpontot adjon olyan megállapítások jelentőségének megítéléséhez, mint például: „A konjugált KAD szintje a TC9 és TC33 kontroll növények esetén a 7. napon csökkent a 3. naphoz képest...” Ez a csökkenés szignifikáns volt?

Az 59. oldalon szerepel, hogy a hidegkezelés csökkentette a gvajakol-peroxidáz aktivitását, miközben a 10. táblázatban az látszik, hogy a vizsgált 8 genotípus közül mindössze négy esetben következett be szignifikáns csökkenés.

64. oldal: Véleményem szerint nem igaz az a sarkos megállapítás, hogy a Cd-kezelés csak a PUT-tartalmat befolyásolta, hiszen a 15B. ábrán látható, hogy a SPD-szint szignifikánsan csökkent a 7 napos Cd-kezelést követően a TC19 vonal gyökerében.

Az ábrák és táblázatok jól követhetők, szemléletesek. Külön dicséretes a 23. és 24. ábrák oszlopainak jelölése, ahol a PEG- és hidegkezeléseket az oszlop mintázata mutatja, míg a fehér és szürke alapszínek az 1 és 6 napos kezeléseket jelölik. Ezek kombinációja révén az ábrák áttekinthetők és könnyen értelmezhetők.

Az 5.2. pont leírásában sehol nincsenek megemlítve a vizsgált fajták. Az Anyag és módszer fejezetből kiderül, milyen kukorica-, búza- és rizsfajtákat vizsgáltak ezekben a kísérletekben, de mivel a genotípus jelentős mértékben meghatározhatja a kialakuló fiziológiai válaszreakciókat, érzésem szerint az eredmények ismertetésekor és az ábraaláírásokban fel kellett volna tüntetni a vizsgált fajtákat. Az ezt megelőző kísérletek is éppen azt igazolták, hogy fajon belül a különböző genotípusok (vonalak vagy fajták) mennyire eltérő módon reagálhatnak bizonyos kezelésekre.

A 18. táblázat címéből a faj (rizs) megjelölése is hiányzik. A táblázatban szignifikánsan különböző csoportok vannak feltüntetve (a-c). Ebben az esetben is Student-féle t-próbával történt a szignifikanciavizsgálat?

6. Eredmények megvitatása

Az Eredmények megvitatása fejezetben sor kerül valamennyi mérési eredmény esetében a szakirodalmi forrásokból ismert adatokkal történő összevetésre, és megállapítások, következtetések megfogalmazására. A rendkívül sok kísérleti adat miatt az összefüggések megtalálása nem könnyű, de a fejezet szépen megfogalmazott

mondatokban, jól érthető módon igyekszik feltárni azokat. Ez a fejezet az értekezés nagyon érdekes és értékes részét képezi.

8. Új tudományos eredmények

Mind a kilenc tudományos eredmény újdonságát elfogadom. Kiemelem, hogy az új tudományos eredmények közötti belső összefüggések néhány esetben további megerősítést adnak a tézispontoknak. Például a 3. pont bemutatja, hogy a Cd-tolerancia kialakításában a fitokelatinoknak döntő szerepük van, míg a 8. pontban kiderül, hogy a PUT azért fokozhatja a Cd károsító hatását, mert gátolja a fitokelatinok bioszintézisét.

Részletes hibajegyzék

A dolgozatban előforduló kisebb jelentőségű, az értelmezést nem zavaró betűhibákat az értekezésben jelöltem, itt csak néhány példát tüntetek fel.

7. oldal: A poliamin-metabolizmus szabályozásának megismerése nem „új lehetőségeket mutat”, inkább új lehetőségekre mutat rá.

8. oldal: A „hőmérséklet-változás” kötőjellel írandó.

9. oldal: Az „áttelni” helyett áttelelni.

11. oldal: Úgy fogalmaznék, hogy a promóterben található ABA-válaszelem ACGT motívumot tartalmaz, nem magot.

12. oldal: Az enzimevek helyesírásakor figyelemmel kell lenni arra, hogy a reakció típusát megjelölő rész is kötőjellel kapcsolódik a szubsztráthoz, vagyis helyesen: pirrolin-5-karboxilát-szintáz.

12. oldal: Az „anyagcsere-folyamatok” kötőjellel írandó.

13. oldal: A „hidegellenálló” egy szó.

14. oldal: Az *Arabidopsis* latin nemzetségnevet kurzív betűtípussal kell írni.

15. oldal: Az aszkorbát-peroxidáz kötőjellel írandó, az aszkorbinsav-peroxidáz még szebb magyarul.

26. oldal: Nem inkább OsPDK és OsBZ8?

26. oldal: Az „expresszáldottak felül” kifejezés csúnya és magyartalan. Az adott gének expresszióját fokozták inkább.

27. oldal: A hivatkozás (Ali, Abbas, és Kamal 2009) nem Harvard-típusú.

37. oldal: A transzspiráció szó helyesírása nagyon sok esetben helytelen, még akkor is, ha a wikipédia sajnos a „transpiráció” formát is helyesnek tartja, de a „transzpiráció” bizonyosan hibás.

45. oldal: A „Hamilton-fecskendő” kötőjellel írandó.

51. oldal: Az ábraalírásban „putrescin” szerepel, és más helyeken is, de azért a legtöbbször a magyarul helyes putreszcin olvasható.

54. oldal: A leírás arról szól, hogy a 7. napon mérhető volt a GST enzim indukciója, de valójában az enzim aktivitása növekedett.

99. oldal: S-adenozil-metionin?

111. oldal: Ligázot helyett ligázt.

133. oldal: Az 5. tézispontban „mutatta” helyett mutattak írandó.

Kérdések:

A lisztharmatfertőzést követően a KAT és GR antioxidáns enzimek aktivitás-változása igen hasonló tendenciát mutatott (10. A és D ábra), miközben az APX és GR enzimek aktivitása között több különbség volt megfigyelhető. Mi magyarázhatja ezt, miközben az APX és a GR enzimek ugyanannak a folyamatnak, az aszkorbinsav-glutation ciklusnak a tagjai?

A 7 napos 50 μ M kadmiumkezelés hatására az Mv Hombár búzafajta gyökerében szignifikánsan megnövekedett az AA/DHA arány (20B. ábra). Más vonalak levelében éppen ezzel ellentétes változás volt megfigyelhető, ami jól magyarázható a Cd okozta oxidatív stressz következményeivel. Mi lehet a magyarázata a redukált aszkorbinsav megnövekedett arányának az Mv Hombár búzafajta gyökerében 7 napos Cd-kezelést követően?

Véleménye szerint hány év múlva juthatunk el oda, hogy a poliamin-metabolizmust befolyásoló vegyületek célzott kijuttatásával elérhető legyen a gazdasági növények stressztoleranciájának fokozása?

Az értekezés és a tézisek alapján Pál Magda doktori munkájának tudományos eredményeit az MTA doktori cím megszerzéséhez elegendőnek és megfelelőnek értékelem, a nyilvános védés kitűzését javaslom. Az értekezéssel kapcsolatban tett észrevételeim, kérdéseim nem érintik annak alapvető értékeit. Sikeres védést követően javaslom Pál Magda részére az MTA doktora tudományos cím odaítélését.

Budapest, 2020. február 11.

Dr. Hegedűs Attila
MTA doktora