

Válasz Dr. Barna Balázs opponensi véleményére

Köszönöm opponensemnek, hogy elvállalta disszertációm bírálatát, valamint hogy időt és fáradságot fordított annak alapos áttanulmányozására és véleményezésére. A bírálatában feltett kérdésre válaszaim a következők:

Kérdés: „Tekintettel arra, hogy a növényi hormonok egymással kölcsönhatásban vannak, a *cpd* és *cbb* növények más fitohormon tartalmára van-e saját vagy irodalmi adat?”

Bár a többi fitohormon szintjére vonatkozó adatok a *cpd* és *cbb* növényekből nem állnak rendelkezésre, elsősorban *Arabidopsis* és borsó mutánsokkal végzett kísérletek eredményei a növekedés-szabályozó hormonok (auxin, gibberellin és BR) közti összetett kölcsönhatásokra utalnak. Ismert például, hogy az auxin és BR kölcsönösen növeli a másik hormonnal szembeni érzékenységet, és hogy a gibberellin szintézis zavartalansága az auxin, míg a BR-oké a gibberellin megfelelő fiziológiás szintjétől függ. Általánosságban úgy tűnik, hogy a megnyúlási folyamatok koordinálása nem elsősorban a különböző hormonok mennyiségének jelentősebb változásán, hanem az ezekkel szembeni érzékenység szabályozásán keresztül valósul meg.

Kérdés: „Nem találtam utalást sem a rövidítésekben sem a szövegben, de gondolom az etilén gátló 'AIB' az α aminobutiric acid-ot jelent?”

Igen: az AIB jelölés az ACC-oxidázt gátló α -amino-izovajsavat jelenti. A rövidítés magyarázata sajnos valóban kimaradt az értekezésből.

Kérdés: „Az a feltevés, hogy a *cbb1* mutáció egy flavin monooxygenáz gént inaktivál, illetve a *cbb2* mutáció a BR receptor génnel kapcsolatos, nyert már megerősítést és általánosan elfogadott?”

Igen: keresztezési kísérletekkel egyértelműen igazolható volt, hogy a *cbb1* allélikus a *dwf1* mutációval, amely a kampszterol szintézisének utolsó lépését katalizáló DWARF 1 flavin monooxygenáz génjét inaktiválja. Ugyanígy nyert bizonyítást a *cbb2* és a *bri1* mutációk allélikus viszonya is. Ennek megfelelően az általunk karakterizált *cbb1* mutáns jelölésére ma a szakirodalomban már inkább a *dwf1-6*, a *cbb2* esetében pedig a *bri1-2* szimbólum használatos.

Kérdés: „A 6. táblázatban a BR tartalom a három növényfajban igen különböző, de feltűnő, hogy a szintézis korai szakaszában a BR-ok mennyisége mind a háromban sokszorosa a végterméknek. Vajon mire való a kezdeti termékek ilyen túlsúlya, van valamilyen külön fiziológiai szerepük?”

A biológiailag aktív BR formák a növények vegetatív szerveiben nagyjából a 10 pM és 10 nM közti koncentráció-tartományban fordulnak elő. Az inaktív intermedierek, elsősorban a közvetlen prekursor 6-dezoxokasztaszeron fiziológiás szintje ennél rendszerint egy, esetenként két nagyságrenddel is magasabb lehet. A jelentős prekursor túlsúly oka feltehetően a bioszintézis utolsó reakciójának szigorú metabolikus szabályozása, ami a stabil hormonszint fenntartásának egyik legfőbb biztosítója. BR intermedierek közvetlen élettani szerepére jelenleg nincs adat. Csupán a 6-dezoxokasztaszeron esetében valószínűsíthető, hogy erőteljes felhalmozódása borsó magvakban a csírázáskor szükséges aktív BR-ok szintézisének prekursorául szolgál.

Kérdés: „A 4.4.3. fejezetben más, a növénykórtanban használatos, elicitor hatását nem tesztelték?”

A *BRH1* gén expressziójának jellemzésekor elsősorban arra voltunk kíváncsiak, hogy az mennyiben egyezhet a hasonló struktúrájú RING-H2 proteint kódoló, kitin által indukálható *ATL2* regulációs tulajdonságaival. A kitin-indukálhatóság megállapítását követően - ennek specificitását ellenőrzendő - teszteltük a szintén patogén válaszreakciókhoz köthető szalicilsav, jazmonsav és abszcizinsav regulatív hatását is. Mivel ezek közül a *BRH1* kifejeződését egyik sem befolyásolta, vizsgálatainkat további elicitorokra nem terjesztettük ki.

Kérdés: „A 4.4.4. fejezetben nem találtam utalást arra, hogy mennyi volt a szensz és antiszensz *Arabidopsis* növények BR tartalma?”

A *BRH1* mRNS szensz és antiszensz túltermeltetésével egy olyan BR-regulált funkció hatásait kívántuk észlelni, amelyről nem volt feltételezhető, hogy visszahatna a hormon szintjére. Erre a transzgenikus növények fenotípusa sem utalt, ezért ezekben a BR tartalmat nem határoztuk meg. A hormon analízisek speciális műszerigényük miatt minden esetben külföldi kollaborációban történtek, így ilyeneket csak akkor végeztünk, ha ez különösen indokolt volt.

Kérdés: „Megállapították, hogy a BR bioszintézis gének reggeli indukcióját a növényekben erős, tranziens BL felhalmozódás követi. Vajon ezzel az abiotikus és biotikus stresszekkel szembeni ellenállóságuk is ritmikusan változik?”

Az utóbbi pár év átfogó vizsgálatai szerint az *Arabidopsis* gének legalább 50%-a mutat valamilyen napszakos (cirkadián és/vagy közvetlen fény általi) szabályozottságot, és ezek hatása szinte valamennyi életfunkció szintjén érvényesül. Az ellenállóképesség napi ciklus szerinti változásai az állatvilágban jól ismertek, és joggal feltételezhető volt, hogy ez a növényekben is hasonló periodicitás érvényesül. *Arabidopsis* esetében dokumentálni lehetett a fagy- és szárazság-érzékenység cirkadián fluktuációját. Bár ezek minden bizonnyal komplex módon meghatározottak, kialakulásukban szerepe lehet a BR szint napszakos szabályozottságának is.

Kérdés: „Jelenlegi munkánk során a BR-okhoz hasonlóan a progeszteron biotikus stresszel szembeni védő hatását tapasztaltuk. Mivel a progeszteront már növényekben is kimutatták, illetve az *Arabidopsis* szterol kötő membrán fehérjéje (MSBP1) specifikusan kötődik a progeszteronhoz is, véleménye szerint kapcsolatba hozható a progeszteron az értekezés eredményeivel?”

Valóban feltételezhető, hogy a progeszteron befolyásolni tudja a BR-ok élettani hatását, bár erre közvetlen bizonyíték egyelőre nem ismert. Tudható viszont, hogy *Arabidopsis*-ban a progeszteront kötő MSBP1 túltermeltetése csökkenti, szuppressziója pedig erősíti a BR-ok hatását. Ez elsősorban a BR receptor-komplexben résztvevő BAK1 receptor kináz szterol kötő fehérje által felerősített endocitózisának lehet a következménye. Másrészt külsőleg alkalmazott, a fiziológiás szintet jóval meghaladó koncentrációjú progeszteronnal való kezelés a bioszintetikus lépések részbeni átfedése miatt megzavarhatja a BR anyagcsere érzékeny metabolikus szabályozását. A progeszteron élettani szerepének pontos megismerését nagymértékben segítheti a szintézisében defektív mutánsok vizsgálata. Ilyet kukoricában már sikerült azonosítani. Saját adataink mindenesetre azt mutatták, hogy a BR mutánsokban a progeszteron szintje a vad típusú növényekével azonos, ezért nem valószínű, hogy eredményeinket a progeszteron hatása érdemben befolyásolta volna.

Végül szeretném még egyszer megköszönni opponensem alapos véleményét és gondolatébresztő kérdéseit.

Szeged, 2011. május 30.

Szekeres Miklós