

Válasz Dr. Erdei László, az MTA Doktora bírálatára

Köszönöm Dr. Erdei Lászlónak, hogy vállalta az MTA doktora címre benyújtott dolgozatom áttanulmányozását, köszönöm értékes megjegyzéseit, előrevívő kérdéseit.

Megjegyzések:

- 1) A jövőben figyelni fogok a borsó és kukorica mag esetében a helyes szóhasználatra.
- 2) A stilisztikának is nagyobb figyelmet fogok szentelni.
- 3) A Rövidítésjegyzék sajnálatos módon a dolgozat kötésekor egyes példányokból kimaradt, amivel csak most szembesültem. S mivel a dolgozat elején elvileg ott kellett volna lennie a rövidítéseknek, ezért a szövegben általában csak a fontosabb rövidítések magyarázata volt benn.
- 4) A dolgozatot többen is átnéztük, sajnos ennek ellenére maradtak elírások. Ionkiáramlást csak levélkorongból mértünk, mivel csak egységnyi felületre lehetett megbízhatóan alkalmazni a módszert, gyökerek esetében mindig a trifenil-tetrazólium-kloridos, színreakción alapuló életképességi tesztet alkalmaztuk. Ettől függetlenül a 8. ábra szövegében valamint a hozzá tartozó szövegrészben jelezni kellett volna, hogy levélről van szó.

Kérdések:

5) A szalicilsav általában pozitív hatással volt a különböző abiotikus stressz körülmények között adott akklimatizációra főleg a hajtásban, két kivétel azonban mégis van: az egyik az ozmotikus stressz. Ebben az esetben az exogén szalicilsav mintegy felerősítette az ozmotikum, a polietilén-glikol (PEG) mint stresszor negatív hatását, fokozta a membrán károsodását a fiatal kukoricanövényekben. Mi lehet ennek az oka? Anoxia a PEG-et tartalmazó tápoldatban?

6) A másik probléma maga a szalicilsavas kezelés hatása a kukorica gyökerek életképességére (17. ábra). Egyedül a SA is 20 %-ra csökkentette az életképességet, a Cd-mal kombinálva pedig ez az érték 6-7 %-ra csökkent. Felvetődik a kérdés, hogy a gyökerekre nézve milyen hatással volt a szalicilsavas kezelés a hideghatás alatt?

Az 5. és 6. kérdésre együtt szeretnék válaszolni, mivel a szalicilsav előkezelés mindkét esetben ugyanúgy történt, nevelési hőmérsékleten, 1 napig, s 6. kérdésre adott válasszal kezdeném, hogy a gyökerekre nézve milyen hatással volt a szalicilsavas kezelés a hideghatás alatt:

A szalicilsav védőhatását alacsony hőmérsékleten $5 \cdot 10^{-4}$ M koncentrációnál tudtuk kimutatni, az ennél kisebb koncentráció hatástalan volt, míg a magasabb koncentráció már rövid időn belül károsította a kukoricanövényeket. Ez a koncentráció viszont 1 napos tápoldatos szalicilsav előkezelésnél normál hőmérsékleten már látható károsodást okozott, a gyökerek szürkessé váltak és veszítettek turgorukból, de a hajtáson még nem tapasztaltunk semmilyen tünetet. Tekintettel arra, hogy a szalicilsav gyenge sav ($pK_a = 2,98$), a nevelő közeg pH-ját lecsökkenti. Felmerül a kérdés, hogy ez a pH csökkenés okozhatja-e a gyökereknél tapasztalt károsodást. Kísérleti tapasztalataink alapján azonban önmagában ez nem játszik szerepet az előbb említett károsodási tünetek kialakulásában, mivel ha a közeg pH-ját sósavval állítjuk be ugyanarra a pH értékre, amit az alkalmazott szalicilsav koncentrációnál kapunk ($5 \cdot 10^{-4}$ M szalicilsav koncentráció mellett $pH = 3,3$), semmiféle károsodási tünet nem lép fel. Ezzel szemben, ha a szalicilsavval kezelt oldat pH-ját emeljük fel a kontrol oldat pH-jára ($pH = 5$), akkor a növény még elpusztulhat.

Bár szalicilsav jelenlétében a fiatal kukoricanövény hidegkárosodási tünetei kisebbek, exogén szalicilsav adagolása normál nevelési hőmérsékleten azonban - különösen magas koncentráció esetén fényben - a növény számára stresszként jelentkezik, ami előbb-utóbb pusztuláshoz is vezethet. Sötétben a szalicilsav még magas ($5 \cdot 10^{-3}$ M) koncentrációban sem okozott látható károsodást. A fényben bekövetkező látható tünete pl. az antociánképződés a levelekben. A nettó fotoszintézis, a gázcsereenyílások vezetőképessége, valamint a transpiráció már egy nap után is jelentősen lecsökken. A fotoszintetikus aktivitás csökkenése nem elsősorban a 2. fotokémiai rendszerben bekövetkező károsodásból ered, mert az F_v/F_m paraméter alig változott egy nap kezelés után. Exogén szalicilsav hatására bekövetkező transpirációcsökkenést már más esetekben is megfigyeltek, számos fenol típusú vegyületről azonban azt is kimutatták, hogy képes az abszcizinsav indukálta sztómazáródást meggátolni, így megnő a gázcsereenyílások vezetőképessége. Szalicilsav esetében azonban ez a hatás koncentrációfüggő is: alacsony koncentráció esetén a sztómák általában zártabbak, mint a kontrol növényeknél, vagy nagy koncentrációjú szalicilsav alkalmazása esetén. A gázcsereenyílások vezetőképességének csökkenése nemcsak szalicilsav, hanem számos stresszhatás, pl. hidegstressz vagy hőstressz következtében is fellép. Emiatt feltételezhető,

hogy az általunk alkalmazott minden mérési fényintenzitás (fényteltített, fénylimitált, valamint sötét) mellett tapasztalt gázcserenyílasvezetőképesség-csökkenés a szalicilsav indukálta stresszhatás másodlagos következménye is egyben.

Alacsony hőmérsékleten csökkent transpiráció mellett valószínűleg kisebb problémát okoz, hogy a károsodott gyökerek kevésbé tudják biztosítani a növény vízellátását, s az ebből adódó problémák nem jelentkeznek annyira markánsan, mint normál nevelési hőmérsékleten, inkább a szalicilsav által okozott védelem kerül előtérbe.

Innen válaszolnék az 5. kérdésre, hogy az ozmotikus stressz esetében az exogén szalicilsav mintegy felerősítette az ozmotikum negatív hatását, s mi lehet ennek az oka?

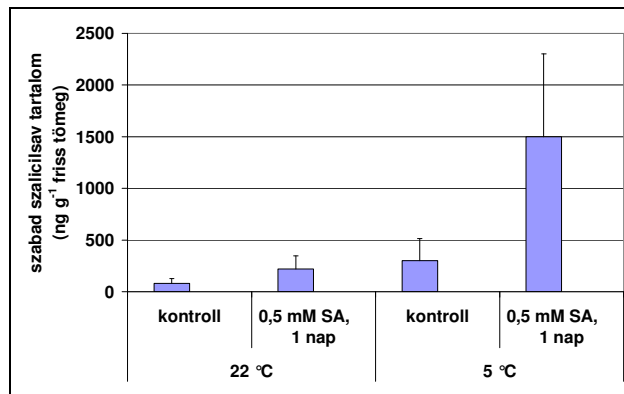
Ozmotikus stressz esetében, ahol a hőmérséklet azonos a nevelési hőmérséklettel, s ahol különösen fontos lenne a növény minél jobb vízellátottsága, a gyökerek károsodásából adódó plusz terhelést már nem tudja ellensúlyozni a szalicilsav egyéb védekező mechanizmusokat aktiváló jótékony hatása, így a károsodás még hatványozottabban jelentkezhet a kezelt növényekben.

7) Ezzel kapcsolatosak a 22-23. ábrák adatai is. Olvassuk a szövegben, hogy „a...gyökérben a kezelések hatására lecsökkent az enzim (fitokelatin-szintáz) aktivitása, de csak a Cd-mal kezelt növényekben.” Nem: sajnos a SA és SA-előkezelt esetekben is. Magyarázatot a 23. ábrához tartozó szöveg ad: „A SA-kezelt növényekben viszont a csökkent enzimaktivitás nem járt megemelkedett fitokelatin szinttel, így itt valószínűleg a SA-kezelés okozta változások miatt nem működött az enzim.” Azaz, ugyanúgy károsodott gyökereken mérték, mint máshol.

Igen, a mérések károsodott gyökereken történtek.

8) Mérték-e szalicilsav felvételt gyökeres növényekben? Ha igen, vajon ott is konjugáció történik, mint a magáztatás esetében, vagy pedig felszállítódik a hajtásba, hogy ott fejtse ki pozitív hatását? Ha transzport történik, milyen transzport mechanizmus jöhet szóba?

Történtek szalicilsav felvételre vonatkozó kísérletek. Az alábbi ábrán látható kukorica levél endogén szalicilsav tartalma 1 nap 0,5 mM szalicilsav kezelést követően normál hőmérsékleten, valamint azt követő 1 napos 5 °C-os hidegkezelést követően.



Az ábrán jól látható, hogy a szalicilsavval kezelt és nem kezelt növények levelének endogén szalicilsav tartalma kismértékben megnőtt. Hideg hatására a nem kezelt növények leveleiben kismértékű, míg az előkezelt növényekében nagymértékű növekedést kaptunk. A hideghatás alatt a növények már szalicilsavmentes tápoldatban voltak. Gyökerekből nem végeztünk szalicilsav meghatározást, mivel a gyökér felszínéről nem lehet teljes mértékben eltávolítani a szalicilsavat, így nincsenek arról adataink, hogy a felvett szalicilsav kötött formává alakul-e a gyökerekben. Levelekben viszont nem volt szignifikáns eltérés a kötött szalicilsav szintben a kezelt és nem kezelt növények között. Végeztünk radioaktív jelöléses előkísérleteket is, de számottevő radioaktivitást nem tapasztaltunk a levelekben. A szalicilsavnál nyitott kérdés, hogy a külsőleg adagolt szalicilsav transzportálódik-e, vagy csak beindít valamilyen jelátviteli folyamatokat, mely hatására a nem kezelt növényi részben is szalicilsav akkumuláció történik. Egyes feltételezések szerint a transzportforma a metil-szalicilsav, mely illékony anyag. Biotikus stressz során a szalicilsavat (SA) és glükozidját (SAG) kimutatták *Brassica napus* gyökér és hipokotil xylem nedvében, s a koncentrációja megnövekedett *Verticillium longisporum* fertőzés után. Mind a SA, mind a SAG koncentrációja korrelált a fertőzés súlyosságával. Továbbá a SAG koncentrációja a hajtás xylémnedvében korrelációt mutatott a *V. longisporum* DNS-ével a hipokotilban, s a kísérlet teljes időtartama alatt magasabb volt a szintje, mint a nem fertőzött növényekében. Ennek a transzportnak az élettani fontossága és hogy mennyire járul hozzá a SA növényen belüli eloszlásához azonban még tisztázásra szorul.

Ismételten köszönöm Erdei László alapos munkáját és részletekbe menő értékelését.

Martonvásár, 2011-04-28

/Szalai Gabriella/