

Nyugat-magyarországi Egyetem

Doktori (Ph. D.) értekezés tézisei

**Abiotikus hatások kémiai vizsgálata a kocsányos tölgy
(*Quercus robur* L.) makk tárolása és korai
ontogenezise folyamán**

Pozsgainé Harsányi Mónika

Sopron

2008

Doktori Iskola: Roth Gyula Erdészeti és
Vadgazdálkodási Tudományok Doktori Iskola

Tudományág: Erdészeti és Vadgazdálkodási
Tudományok

Program: Az erdőgazdálkodás biológiai alapjai

Témavezető: Dr. Albert Levente egyetemi tanár

1. Előzmények és célkitűzések

A kocsányos tölgy (*Quercus robur* L.) Magyarország erdeinek 9,1 százalékát borító domináns, őshonos fafaja. A jó termőhelyen álló kocsányos tölgyesek a legértékesebb, legnagyobb éves átlagos jövedelmet adó állományok közé tartoznak.

A nagyszabású erdőtelepítési program megvalósításának alapvető előfeltétele a szükséges szaporítóanyag (mag és csemete) megtermelése. Egyenletes csemeteellátásra van szükség, melyhez szükség van a szaporítóanyag minőségromlás nélküli tárolására, a tárolt maktétel minőségének nyomon követésére, a csírázóképeség folyamatos vizsgálatára. A makk kereskedelmi értékének megőrzéséhez nélkülözhetetlen új tárolási technológiák fejlesztése, a rezisztens egyedek kiválasztásához elengedhetetlen az egyedek biológiai állapotának jellemzése, melyhez gyors, hatékony, könnyen kivitelezhető mérési módszerekre van szükség. Mindezek megvalósítása gyakorlati hasznosítással kecsgetető elméleti feladat, melynek a nemzeti erdőszítési programban rendkívül fontos szerepe van. Kulcsfontosságú a növény és környezete közötti kölcsönhatások megértése, az életfolyamatok, törvényszerűségek tanulmányozása, valamint annak nyomon követése, hogy a növény hogyan reagál a megváltozott környezeti feltételekre. Ehhez ismerni kell, hogy az adott termőhelyen a környezeti paraméterek hirtelen változásából eredő stresszhatások, milyen válaszokat indukálnak az egyes növényfajokból.

Természetes körülmények között a csírázást, a növény fejlődését, az ontogenezis kezdeti szakaszában

számtalan környezeti tényező együttes hatása befolyásolja, úgymint hőmérséklet-ingadozás, vízellátás, a talaj tápanyagtartalma, fény mennyiség, páratartalom, légmozgás, s egyéb biotikus és abiotikus stresszhatások. Megoldandó feladat a lehetséges stresszorok és hatásaik figyelembevételével a termőhelyi adottságoknak legmegfelelőbb, a környezeti paraméterekhez leginkább alkalmazkodni képes fajok kiválasztása, továbbá a növények élet-, alkalmazkodó-, stressztűrő-, és termőképességének fokozása. Az egyedfejlődés, tárolás, valamint a stressz hatásának vizsgálatához olyan fizikai és kémiai indikátorokat alkalmazott a szerző, melyek szakirodalmi adatok alapján stresszérzékeny paramétereknek bizonyultak.

Konkrét célok:

- Az ontogenezis jellemzése sziklevelek relatív tömegsűrűség értékeivel.
- A tárolt makkot érő hidegsokk, mint lehetséges környezeti stresszhatás modellezése endogén formaldehidtartalom, fenoloidtartalom, és kataláz aktivitás alapján.
- A kocsányos tölgy (*Quercus robur* L.) korai egyedfejlődési szakaszában az egyes szöveti struktúrák - sziklevel, gyökér, levelek – endogén formaldehid-, illetve összfenoloid-tartalmának meghatározása.
- Az oxidoreduktáz enzimek közül a kataláz, peroxidáz és polifenol-oxidáz enzimek szerepének

vizsgálata a növény fejlődésének különböző periódusaiban.

- Az általam alkalmazott tárolási technika makkok élettani folyamataira gyakorolt hatásának vizsgálata, a választott szignál molekulákon, ill. paramétereken keresztül.
- Az ontogenezis és tárolás jellemzése enzimkorrelációs vizsgálatokkal.
- Hatleveles állapotú kocsányos tölgy csemeték hideg-, fényhiány- és szárazságstressz hatására bekövetkező stresszválaszainak tanulmányozása a levelek endogén formaldehid-, valamint öszfenoloid-tartalmának változása alapján.
- A különböző környezeti hatásokra bekövetkező enzimaktivitásbeli módosulások feltérképezése kataláz, peroxidáz és polifenol-oxidáz enzimek segítségével.
- Az egyes stresszesemények jellemzése enzimkorrelációval.

2. Kísérleti és vizsgálati módszerek

2.1 Mintavétel és minta-előkészítés

A vizsgálatok tárgyát képező kocsányos tölgy makktétel 2004-ben a Délalföldi Erdészeti Zrt. Gyulai Erdészetéből, 2005-ben és 2006-ban pedig a Kisalföldi Erdőgazdaság Zrt. Rábaközi Erdészetének vitnyédi csemetekertjéből származott.

Az egyedfejlődés tanulmányozásához kocsányos tölgy makk sziklevel-, gyökér és levélszövetéből, a tárolás jellemzéséhez makk sziklevelszövetéből, míg a stresszvizsgálatokhoz makk sziklevelszövetéből, ill. csemetenövény levélszöveiből történt extrakció.

A minták extrakciója endogén formaldehidtartalom esetében 0.01 %-os dimedonos metanol oldattal, fenoloidtartalom meghatározásnál metanol-víz 4:1 arányú keverékével, a POD és PPO enzimek aktivitás mérése során foszfát-pufferrel (pH: 5.5, ill. 6.0) történt.

2.2 Vizsgált paraméterek és analitikai módszerek

Endogén formaldehidtartalom. A meghatározás alapját a dimedon formaldehid generátorokkal végbemenő reakciója képezi. A dimedon a generátorokkal formaldemetont képez. A dimedonos minta-előkészítés után a formaldemeton analízisével határozható meg a mennyiségével arányos endogén formaldehidtartalom (NÉMETH, 2002).

Fenoloidtartalom meghatározása. Folin- Ciocáltáu módszerével történt (SINGLETON és ROSSI, 1965), kvercetin standard felhasználásával.

Kataláz enzim aktivitás. Egységnyi tömegű növényi szövet által egységnyi idő alatt fejlesztett oxigén gáz anyagmennyiségével jellemezhető. A meghatározás Frenyó-féle gázvolumetriás mérőedény segítségével történt (BOTZ *et al.*, 1995).

Peroxidáz enzim aktivitás. Az enzim aktivitásának mérése spektrofotometriásan 3,3'-diaminobenzidin szubsztrátummal, 480 nm-en SHANNON *et al.*, (1966) módszere alapján történt.

Polifenol-oxidáz enzim aktivitása. Az enzim kétféle aktivitása közül a szerző a katekoláz aktivitást vizsgálta pirokatechin szubsztrátummal, spektrofotometriásan 420 nm-en.

Fehérjetartalom meghatározása. Fotometriásan BRADFORD módszerével 595 nm hullámhosszon (BRADFORD, 1976). Standard: 92 %-os Bovine Serum Albumin.

3. Az adatfeldolgozás és kiértékelés módszerei

A szerző a mérési adatok összesítéséhez és elemzéséhez Microsoft Excel szoftvert alkalmazott, a kapott eredmények ellenőrzéséhez StatsDirect v. 2.6.5. statisztikai szoftvert használt. A szoftverrel végzett varianciaanalízisben Tukey-Kramer többszörös összehasonlítási tesztjét választotta, 95 %-os feltételezési valószínűség mellett. Az adatok dokumentálásához Microsoft Word szövegszerkesztőt használt.

4. Új tudományos eredmények

A dolgozatban közölt célkitűzések megvalósítása és a kivitelezett kísérletek eredményei a következő megállapításokat támasztják alá:

4.1 A kocsányos tölgy egyedfejlődése során magvak esetében tapasztaltak a csertölgygel teljesen analóg

módon zajlanak le, így egyedektől független legalább fajspecifikus következtetések vonhatók le:

- az egyedfejlődést jellemző relatív tömegnövekedéshez társuló sűrűségcsökkenés lineáris korrelációt szolgáltat, melynek állandó meredeksége azt jelzi, hogy az egységnyi relatív tömegnövekedésre eső sűrűségcsökkenés a csírázó tölgymakk általános biológiai tulajdonsága,
- az ontogenezis kezdeti szakaszában az endogén formaldehidtartalom értékeiben bekövetkező determinisztikus változások tendenciaszerűen azonos útvonal szerint zajlanak mindkét növényfajra vonatkozóan,
- a tárolás kezdetekor a nyugalmi állapotú tölgymakk maximális endogén formaldehidképző potenciállal rendelkezik, ami a tavaszi vetésen túli tárolás alatt lecsökken, a makkminőségben bekövetkező csökkenés hatására,
- a tölgymakk hidegsokra adott, időben nyomon követett stresszválaszában jelentkező oszcilláló endogén formaldehidtartalom a transzmetilezési folyamatok egyensúlyának felborulását tükrözi vissza, mely indirekt módon a növények stressztűrőképességéről nyújthat információt.

4.2. Az alkalmazott vizsgálati paraméterek felhasználhatóak a különböző származási körzet makkjai között fennálló minőségbeli különbségek indikálására:

- a hideg- és fényhiánystressz hatására minden mérési paraméter tekintetében szignifikáns különbségek adódtak a Gyulai Erdészetből, illetve a Rábaközi Erdészet vitnyédi telephelyéről származó makkétel válaszreakciói között,

- az azonos származási körzetű magvak azonban azonos eredményeket szolgáltattak mind a stresszre bekövetkező mennyiségi változás irányultságát, mind mértékét tekintve.

4.3. Hatékony minősítési eljárást alkalmaztam a fajok egyedeit jellemző tulajdonságbeli eltérések kiküszöbölésére:

- a peroxidáz és polifenol-oxidáz aktivitások anyagcserén belüli összehangolt szabályozásának érzékelését az azonos időpontban vett, azonos növényi minták enzimaktivitási analízise teszi lehetővé,

- a korrelációs vizsgálat során kapott lineáris egyenesek az egyedfejlődési állapotok karakterisztikus jellemzésén túl, a tárolás alatt bekövetkező makkminőségbeli változásokat is determinisztikusan követik.

4.4. Megállapítottam, hogy enzimkorrelációs vizsgálattal a stresszt érzékelni, lefolyását nyomon követni lehetséges:

- a korreláció határozottsági foka az anyagcsere szabályozottságáról egyértelmű képet szolgáltat,

- a meredekségek változásából, az enzimek aktivitásainak egymáshoz viszonyított arányára vonatkozólag nyerhetők információk,
- a növényi szövetek anyagcsere-intenzitás eltéréseit, a növényi anyagcsere heterogenitását, s ennek mértékét a regressziók érvényességi tartománya tükrözi vissza.

4.5. Bebizonyosodott, hogy az enzimkorreláció paraméterei stresszérzékenyek, s abban az esetben is szignifikáns változások jelzésére alkalmasak, amikor az a vizsgált növényi szövet anyagcsere heterogenitása eredményeként az aktivitások átlagértékeinek statisztikai összehasonlítása eltérést, s így stresszhatás fennállását nem támaszt alá:

- a környezeti hatások szignifikánsan képesek megváltoztatni az enzimkorrelációk érvényességi tartományát,
- a regressziós tartományok súlypontjai által, az enzimaktivitási síkban kirajzolt útvonalak stresszhatás specifikusak,
- a korrelációs egyenesek meredekségeiben mutatkozó eltérések egy általánosnak tekinthető, környezeti hatásokkal szembeni adaptációs válaszreakciót fejezhetnek ki.

5. Az értekezés témaköréből készült saját közlemények jegyzéke

Szakfolyóirat cikkek

Németh, Zs. I., Pozsgai-Harsányi, M., Badáczy, D., Horváth, A. (2008) Characterization of plant developmental stages by enzyme correlation. *FEBS Journal* (megjelentetés alatt)

Németh, Zs. I., Pozsgai-Harsányi, M., Gálos, B., Albert, L. (2008) Stress sensitivity of a plant enzyme correlation. *Plant Science* (megjelentetés alatt)

Konferencia előadások és poszterek

Németh, Zs. I., Albert, L., Tyihák, E., Hofmann, T., Rétfalvi, T., **Pozsgai-Harsányi, M.** (2003) Alteration of measurable formaldehyde level of European Turkey Oak acorn in the function of parameters of sample preparation. 6th International Conference on Role of Formaldehyde in Biological Systems, Pécs. Poszter

Pozsgai-Harsányi, M., Németh, Zs. I., Gálos, B., Albert, L., Varga, Sz. (2005) Comparison of the alarm phases induced by cold shock in case of germinating acorns of *Quercus cerris* L. and *Quercus robur* L. International Conference on Non-linear Processes in Life Sciences. Lengyelország, Lublin. Poszter

Németh, Zs. I., **Pozsgainé Harsányi M.**, Albert, L. (2006) A környezeti hatásvizsgálatok módszertani fejlesztése. Szimpozion, Nyugat-Magyarországi

Egyetem, Környezeti Erőforrásgazdálkodási és –védelmi
Kooperációs Kutatási Központ, Sopron. Előadás

Németh, Zs. I., **Pozsgainé Harsányi, M.** (2008) Növényi
enzimkorrelációk: a környezeti hatások indikátorai? III.
Regionális Természettudományi Konferencia, Nyugat-
magyarországi Egyetem, Szombathely. Előadás

Konferencia kötetben megjelent összefoglalók

Németh, Zs. I., **Pozsgainé Harsányi, M.**, Gálos, B.,
Albert, L. (2007) Növényi enzymkorreláció
stresszérzékenysége. Tudományos Konferencia, Nyugat-
magyarországi Egyetem, Erdőmérnöki Kar, Sopron.

Pozsgainé Harsányi, M., Németh, Zs. I., Badáczy, D.,
Horváth, A. (2007) Stressz-szindróma jellemzése
enzimkorrelációval. Tudományos Konferencia, Nyugat-
magyarországi Egyetem, Erdőmérnöki Kar, Sopron.

Kutatási jelentés

Tölgyfajok környezeti hatásokra adott válaszreakcióinak
kémiai vizsgálata. OTKA T046408 (2004-2007)

Nyugat-magyarországi Egyetem, Környezeti
Erőforrásgazdálkodási és –védelmi Kooperációs Kutatási
Központ. A környezeti hatásvizsgálatok módszertani
fejlesztése.