

NYUGAT - MAGYARORSZÁGI EGYETEM
TERMÉSZETTUDOMÁNYI KAR
SZOMBATHELY

XXXII. Országos Tudományos Diákköri Konferencia

**SÖRÁRPA FAJATASOR VIZSGÁLATA A
SZÁRAZSÁGTOLERANCIA FÜGGVÉNYÉBEN**

Tudományos Diákköri Dolgozat

Készítette: Schmidthoffer Ildikó
Biológia-Környezettan Tanár MSc II. évfolyam

Konzulens: Dr. habil Skribanek Anna
Főiskolai Tanár
Dr. habil Szilák László
Egyetemi Docens
Dr. Molnár Péter
Egyetemi Docens

2014

TARTALOMJEGYZÉK

RÖVIDÍTÉSEK.....	3
1. BEVEZETÉS	4
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	5
2.1. Az árpatermesztés történeti áttekintése	5
2.2. Az árpa gazdasági jelentősége.....	5
2.3. Rendszertani besorolás.....	7
2.4. A stresszről általában	7
2.4.1. A szárazságstressz	8
2.4.2. A szárazságstressz általános hatásai.....	9
2.4.3. Szárazságstressz hatása a növények növekedésére	10
2.4.4. Az ABS, mint stresszhormon	10
2.4.5. A prolin szerepe a szárazságstresszben	11
2.4.6. Az oldható cukrok szerepe a szárazságstresszben.....	12
2.4.7. A szárazságtűrés genetikai hátterének vizsgálata.....	13
2.4.8. A szárazságtűrés, mint kvantitatív jelleg.....	13
2.4.9. Az árpa szárazságtűrésében szerepet játszó gének.....	14
3. CÉLKITŰZÉS	16
4. ANYAG ÉS MÓDSZER	17
4.1. A kísérleti növények.....	17
4.2. A növények nevelése.....	18
4.3. Mintavétel.....	18
4.4. Prolin-teszt	19
4.5. Oldható cukrok kimutatása.....	19
4.6. A csíranövény növekedési mutatók összehasonlítása a szántóföldi eredményekkel	19
4.7. RNS kivonás lépései.....	20
4.8. A totál RNS kivonat mennyiségi meghatározása	21

4.9. cDNS szintézis lépései	21
4.10. A Real-Time PT-PCR reakció.....	22
4.11. Értékelés	22
5. EREDMÉNYEK.....	24
5.1. A gyökérhossz és gyökértömeg változása PEG kezelés hatására	25
5.2. A levélhossz és levéltömeg változása PEG kezelés hatására	27
5.3. A Prolin-tartalom változása PEG kezelés hatására	29
5.4. Az Oldható cukor-tartalom változása PEG kezelés hatására	30
5.5. A Hsdr4 expressziójának változása PEG kezelés hatására	31
5.6. Összefüggés vizsgálatok	32
6. KÖVETKEZTETÉS, MEGVITATÁS.....	36
7. KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS	38
8. FELHASZNÁLT IRODALOM	39

RÖVIDÍTÉSEK

Hsdr4	Hordeum spontaneum drought responsive 4
PEG	Polietilén-glikol
cDNS	Komplement-DNS
QTL	Quantitative trait locus
PCR	Polymerase chain reaction
ABS	Abszcizinsav
LEA	Late embryogenesis abundant
SA	szalicilsav
JA	jázmonsav
ET	etilén
mRNS	Hírvivő RNS
OP	Ozmotikus potenciál
RWC	Relatív víztartalom
RNS	Ribonukleinsav
rRNS	Riboszómális RNS
GAPDH	Glicerinaldehid-3-foszfát dehidrogenáz
RT-qPCR	Valós idejű, kvantitatív, reverz transzkripció polimeráz-láncreakció
KGYH	Kontroll gyökér hossz
PEGGYH	PEG gyökér hossz
KLH	Kontroll levél hossz
PEGLH	PEG levél hossz
KGYT	Kontroll gyökér tömeg
PEGGYT	PEG gyökér tömeg
KLT	Kontroll levél tömeg
PEGLT	PEG levél tömeg
KSZ	Kontroll szacharóz
PEGSZ	PEG szacharóz
KP	Kontroll prolin
PEGP	PEG Prolin

1. BEVEZETÉS

A melegebb és szárazabb éghajlat káros hatásainak kompenzálására kiemelt fontosságúvá vált olyan hazai mezőgazdasági növényfajták előállítása, amelyek jól tűrik a csapadékhiányt és a szárazságstressz ellenére biztos terméshozamot produkálnak (Lelley 1963). A gabonatermesztés egyik meghatározó terméseszkéntő tényezője tehát a szárazság, hazai és világviszonylatban egyaránt. A sörárpa különösen érzékeny a szárazságra rövid tenyészideje és a kora nyári hónapok szélsőséges csapadékviszonyai miatt. Kutatásunk célja az egyik szárazságtűrésben résztvevő gén, a Hsdr4 expresszállódásának vizsgálata, továbbá a szárazságstressz okozta változások összefüggésének vizsgálata a sörárpa fajták különböző élettani paramétereinek változásain keresztül. Növényélettani valamint molekuláris biológiai méréseink felhasználhatók lehetnek a nemesítési vonalak szelekciójára. A Hsdr4 gén egy növényi Rho-GTP-áz aktivátor fehérjéjeként szárazság által indukált génként azonosították, melynek expressziójában különbség mutatkozott a szárazságstresszre érzékeny és toleráns árpa genotípusok között. A gén az árpa 3H kromoszómájának hosszú karján helyezkedik el (Suprunova 2007).

A Gabonatermesztési- Kht.-vel együttműködve 22 köztermesztésben lévő fajta és nemesítési vonal szántóföldi és laboratóriumi vizsgálatát végeztük el. A laboratóriumi mérésekhez 10 napos vízkultúrában nevelt csíranövényeket használtunk, a szárazságstresszt alacsony vízpotenciállal biztosítottuk (PEG4000 20%-os oldatával). Mértünk gyökér, levél hosszúságot és tömeget, a levelek oldható cukor (fenol kénsavas módszerrel) és prolin (Bates 1973) tartalmát. A molekuláris biológiai vizsgálatokhoz RNS kivonást végeztünk, szintén 10 napos vízkultúrában nevelt árpa növényekből, a kivonás után cDNS szintézist követően kvantitatív Real-Time (QRT) PCR reakciókat végeztünk. A munkánkat a Nyugat- Magyarországi Egyetem Savaria Egyetemi Központ Növénytani Tanszékének laboratóriumaiban végeztük. A 2011. évi szántóföldi tájtörzskísérlet kisparcellás termésátlagait korreláltattuk a laboratóriumi kísérleteink eredményeivel.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. Az árpa termesztés történeti áttekintése

Az árpa nemesítésében fontos szerepe volt a vad *Hordeum vulgare spontaneum*nak. Ezen kétsoros forma kultúrnövényként történő termesztésével jött létre, majd terjedte el az árpa. Származási helye Törökország Irakkal, Iránnal és Szíriával határos területei. Termesztésének kezdete Krisztus előtt 6000 környékére tehető. Európában, Észak-Afrikában, valamint Indiában a kőkorszakban terjedt el. Az Amerikai Egyesült Államokban először 1602-ben termesztették. További fajtákat, például a kétsoros típusokat az angol telepesek, a hatsoros típusokat pedig a hollandok honosították meg. Feltételezések szerint a balkáni, kaukázusi területekről származó őszi árpát csak később kezdték el termesztetni. Az árpatermesztés nyugat felé történő terjedése 1849 környékére tehető. (1) Napjainkban az árpát nagyszerű alkalmazkodó képességének köszönhetően a legkülönbözőbb éghajlatú országokban vetik. Rövid nyarú északi tájakon az egyik legfontosabb gabona. A meleg, déli országokban termését abrakakarmányként hasznosítják. Az enyhe mérsékelt meleg vidékeken elsődlegesen sörárpaként termesztik (*Hidvégi* 2007).

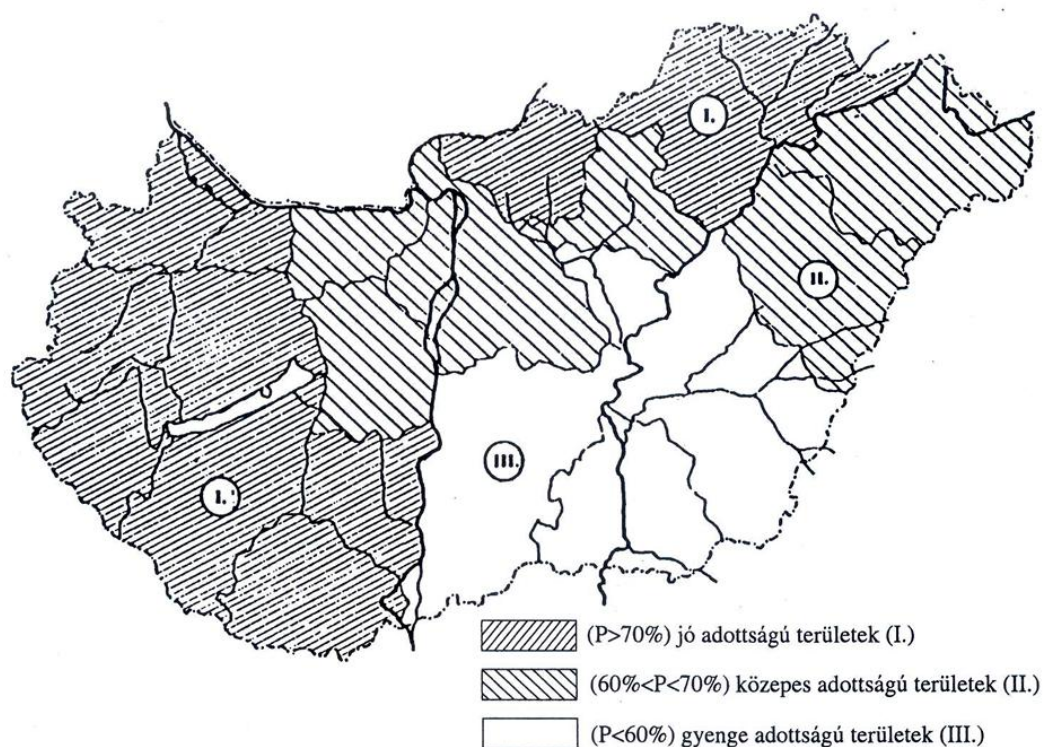
2.2. Az árpa gazdasági jelentősége

Az árpa termőterülete világviszonylatban az ötödik, 2000 és 2003 közötti időszakban mintegy 55 millió hektáron termesztették, termésmennyisége 138 millió tonnára tehető, amely 2500 kg/ha termésátlagnak felel meg. A fő árpatermesztő országok közé tartozik Franciaország, Kanada, Németország, Oroszország, és Spanyolország. (1)

A tavaszi árpa gabonaként való termesztésének északi határát a 70. szélességi foknál éri el. Elsősorban rövid tenyészidejének köszönhető jó adaptálódó képessége. Ezt kihasználva az Alpokban 1900 m tengerszint feletti magasságban, a Himalája vidékén 4000 m magasságban is vetik, továbbá szubtropikus viszonyok között is termesztethető. Bár vetésterülete viszonylag csekély, nem ismert még egy olyan gabonaféle, amely ilyen széles körben elterjedt volna.

Magyarországi viszonylatban a búza és a kukorica után az árpa a legfontosabb gabonanövény. Termesztés során az őszi árpát szinte csak takarmányként hasznosítják. A tavaszi árpa termesztését az indokolja, hogy ki kell elégíteni a sör- és malátaiparunk igényeit, továbbá kiváló takarmányként szintén hasznosítható. Termesztése mellett szól az a tény is, hogy bár a tavaszi árpa genetikai potenciálja kisebb, mint a kukoricáé és a búzáé, mégis gyengébb talajokon e két fontos növénynek versenytársa lehet a jövedelmezőség tekintetében. Ennek háttérében az áll, hogy sörárpa magasabb áron értékesíthető, mint a kukorica vagy a búza. A sörfogyasztásra (ezáltal a sörárpaigényre) kedvező hatása van az idegenforgalom növekedésének, és a kevesebb alkoholt tartalmazó szeszes italok iránti fokozott keresletnek (Hidvégi 2007).

Hazánkban a tavaszi sörárpa jó minőségét biztosító agrotechnikáját Cserháti Sándor alapozta meg. 1990 környékén figyelt fel az akkoriban fejlődésnek induló söripar jó minőségű tavaszi árpa iránti fokozódó keresletére. A tavaszi árpa sikeres termesztéséhez Lőrincz (1984) munkásságából ismert, hogy a tavaszi árpa viszonylag rövid tenyészideje és alacsony csapadékszükséglete miatt sikeresen termesztendő az egész ország területén. Viszont a jó minőségű és nagy terméshozamú tavaszi árpa söripari felhasználásra csak az egyenletesen csapadékos, enyhén napsütöses, humidabb talajtípusú országrészekben termesztendő. Napjaink sörárpa termesztéséhez a legjobb klímaadottságú területek a következő megyékben találhatók: Győr-Moson-Sopron, Veszprém, Nógrád, Borsod-Abaúj-Zemplén, Vas, Somogy, Zala és Tolna megye. De Magyarország más területein is lehetséges a sörárpa termesztése (1. ábra) (Tomcsányi 2004).



1. ábra. Sörárpatermesztésre alkalmas magyarországi termőtájak (Lőrincz 1984)

2.3. Rendszertani besorolás

Az árpa (*Hordeum vulgare*) rendszertani besorolását tekintve: A pázsitfűfélék (Poaceae) családjába a Pooideae alcsaládba és a búzaalkatúak (Triticeae) tribusába tartozik. Legutóbb magyarul 1999-ben Simon Tibor írta le a pázsitfűfélék családjának ismertetőjét. Az árpa $2n$, azaz 14 kromoszómaszámmal rendelkező növényfaj, amely a többi gabonaféléhez hasonlóan egyedi és ismétlődő szekvenciákból épül fel (Süle 2008). Az árpának 16 vadon élő fajt ismerjük, emellett több 100 változata van. pl.: egérárpa (*Hordeum murinum*), tengerparti árpa (*Hordeum marinum*), sziki árpa (*Hordeum hystrix*), kétsoros árpa (*Hordeum distichon*), négyesoros (*Hordeum vulgare*), díszárpa (*Hordeum jubatum*) stb. (Révai 1994, Lerner 2006).

2.4. A stresszről általában

A növények esetében is a stressz kifejezést használjuk abban az esetben, amikor a növény számára megterheléssel járó helyzet a szervezetben a normális értékektől való eltéréshez vezet. Egy növény életében a stresszt kiváltó és élettani alkalmazkodást eredményező

környezeti elemet stressztornak nevezzük. Egy stresszor specifikus és aspecifikus reakciókat idézhet elő a növényi szervezetben (Láng 1998).

A stressz fogalmát elsőként Selye János fogalmazta meg. Selye szerint „a stressz a szervezet túlterhelt, túlterheltség állapota, a test aspecifikus reakciója mindenfajta igénybevétellel szemben”. Az 1936-ban közölt Nature cikk megjelenése után, azonban a fogalom hamarosan szélesebb értelmezést nyert. 1980-ban Levitt a szervezet számára előnytelen tényezőre szűkítette a stressz kifejezést. 1984-ben pedig Tischler az élőlényt megterhelő, normálistól eltérő és az életet közvetlenül nem befolyásoló helyzetként értelmezi a stressz fogalmát (Láng 1998).

Azokat a stressz tényezőket, melyek hatással vannak a növényekre, többféle képen lehet csoportosítani. Az egyik csoportba foglalás alapján megkülönböztetünk természetes, valamint antropogén (mesterséges) tényezőket. A természetes tényezők közé tartozik például, a nagy fényintenzitás, a nagy hőhatás, a vízhiány, az alacsony hőmérséklet stb. Közös tulajdonságuk, hogy a környezet valamely hirtelen bekövetkező, spontán, vagy szélsőséges változásai. Az antropogén hatások közé sorolhatók a légszennyező anyagok, a herbicidek, a savas eső, a toxikus nehézfémek felhalmozódása stb. A stressz tényezők másik megközelítés szerint lehetnek abiotikusak illetve biotikusak. A biotikus stressz közé sorolhatjuk a vírusokat, baktériumokat, gombákat, tulajdonképpen a növények parazitáit. Szintén ebben a csoportban említhető meg az a stressz, amit az állatok rágása okoz a növényeknek. Az élő szervezetet érő stresszt csoportosítani lehet a stressz hatásának függvényében is. Ez alapján beszélhetünk gyenge és erős stresszről. A gyenge stresszt szokás még eustressznek is nevezni, ami lehet egy stimulatív stressz, amely aktiválja a sejtanyagcserét, fokozza a fiziológiai aktivitást, ezzel a növény kondicionálását eredményezi. Míg az erősebb növényeket károsító hatásokat pedig distressznek nevezzük (Láng 1998).

Dolgozatom a sörárpa szárazságtűrésével foglalkozik, ezért, a továbbiakban a szárazságstresszel kapcsolatos ismereteket szeretnénk bővebben kifejteni.

2.4.1. A szárazságstressz

Szárazságstressz kialakulhat a növényeknél, ha nincs jelen a talajban elegendő mennyiségű és megfelelő minőségű víz, ha erős a párologtatás, ha fagyos a talaj, vagy magas a talaj sótartalma. Szárazság alakul ki egy olyan időszak következményeként, amikor az átlagosnál kevesebb csapadék hull, melynek következtében csökkenhet a növények termőképessége (Boyer 1982). Egy másik, szűkebb értelemben vett megfogalmazás szerint akkor beszélhetünk

vízhiányról, amikor a növény transzspirációja meghaladja vízfelvételét (Bray 1997). Szántóföldön a szárazsághoz gyakran egyéb stressz (hőstressz, sóstressz) is társulhat, illetve maga a vízhiány is kiválthatja ezeket (pl.: tápanyaghiány vagy felesleg a szállítófolyamatok károsodása miatt).

A szárazságstressz egyik fő jellemzője a hajtásos növényeknél, hogy nem hirtelen lép fel, hanem fokozatosan és a tünetek erősödésével jelentkezik. Közvetlenül befolyásolja a növényi életfolyamatokat, köztük a növekedést, a sejtek ultrastruktúráját, a fotoszintézist, a légzést, az anyagcserét, a nitrogén anyagcserét stb.

2.4.2. A szárazságstressz általános hatásai

A vízhiány negatív hatást gyakorol a növényekre, befolyásolva fejlődésüket, morfológiájukat és fiziológiai folyamataikat, ezáltal termésmennyiségüket. A növekedésre gyakorolt hatása attól függ, mely életszakaszban éri a növényt vízhiány. Ha a növekedés korai szakaszában mutatkozik, kisebb levélfelület lesz jellemző, melynek következtében csökken a szén-dioxid felvétel is. Ha a vízhiány a virágzás szakaszában jelentkezik, kevesebb lesz a virágok száma, ha a termésérés alatt jelentkezik, kisebb méretű termést eredményez. A sejtek struktúrájának változása háttérben a membránok szerkezeti és működésbeli változása áll. Erősebb, vagy hosszabb ideig tartó szárazság esetén a stressz a fotoszintetikus folyamatokra is hatást gyakorol (Chaves és mtsi 2009). A fotoszintézis folyamatára gyakorolt hatása elsősorban sztómazáródást eredményez, melyhez, ha még erős fényintenzitás is társul a fénygyűjtő rendszer és az elektrontranszport működését változtatja meg (Láng 1998). A turgorcsökkenés során termelődő abszcizinsav váltja ki a sztómák záródását, melynek segítségével csökkenthető a párolgás okozta vízvesztés mértéke (Henson és mtsi 1989). A légzésben valamint a szénhidrát anyagcserében történő változás vízhiány esetén elsődlegesen a keményítő mobilizálódásában mutatkozik meg, melynek eredményeként egyszerű cukrok mennyisége növekedhet bizonyos szövetekben. Az oldható szénhidrátok mennyisége megemelkedik, különös tekintettel a diszacharidokra (Ford és Wilson 1981). A vízhiány hatására a nitrogén szállítása a gyökerektől a levelekig lassul, a proteinek szintézise csökken, hidrolízise pedig nő. A levelek oldható nitrogén tartalma szintén nő, melynek oka az előzőekben említett folyamatokon kívül az újonnan szintetizálódó aminosavak mennyiségének emelkedése (Barnett és Naylor 1966). Ennek következménye a termelt asszimilátumok mennyiségének csökkenése, mely a jelentős turgorvesztéssel együtt a

növényben a sejtek osztódásának, valamint megnyúlásos növekedésének megszűnését okozhatja.

2.4.3. Szárazságstressz hatása a növények növekedésére

A növények válaszreakciójára nagymértékben hatással van a környezetben kialakuló vízhiány kialakulásának sebessége és intenzitása. Ha a környezetből felvehető víz mennyisége csökken, a növényi szervezetben vízhiány jelentkezik. Nem mindegy, hogy a növényt fejlődésének mely szakaszában éri vízhiány és az milyen sebességgel alakul ki. Ha a vízhiány lassan alakul ki, és a növény csírázási vagy korai növekedési periódusában jelentkezik, a stressz befolyásolhatja a növények növekedését, a levelek expanzióját. A növények lehetséges védekezése a szárazságstresszel szemben vastag, mélyreható gyökérzet fejlesztése, ezzel biztosítva a folyamatos vízellátást (*Tari és mtsai* 2003). A magasabb növekedési arányt a gyökér azon oldalán, ahol alacsonyabb a vízpotenciál a növény az abszcizinsav közvetítésével érzékeli (*Takahashi és mtsai* 2002). A szárazságstressz hatására csökken a sejtek megnyúlásos növekedése, ezáltal a hajtás-gyökér aránya is megváltozik. Ezt takarmányborsó fajták és vonalak esetében is igazolták. A kísérletek során a borsókat 5, 10, 15 valamint 20%-os PEG oldattal kezelték. Azt tapasztalták, hogy a 10, 15 és a 20%-os PEG hatására a gyökérhossz nagyobb mértékben csökkent a 3. napon mért adatok alapján, mint a 6. napon. További adatok arra világítottak rá, hogy a hajtásfejlődést jobban gátolta a stressz, mint a gyökérnövekedést, mert hajtáshossz csökkenése mindkét megfigyelés alkalmával nagyobb mértékű csökkenést mutatott. Az 5%-os PEG oldatban csíráztatott három napos állapotban lévő borsó növények adták a genotípusok közti legnagyobb variabilitást (*Iszállyné*, 2007). Más kutatási eredmények is arról számoltak be, hogy már mérsékelt vízhiány miatt is megfigyelhető a gyökér, valamint a szár növekedésének gátlása (*Blum és mtsai*, 1997; *Frensch*, 1997; *Munns*, 2002), a hajtásszám (*Cone és mtsai*, 1995) és az asszimiláló levélfelület csökkenése (*Passioura*, 1988), melynek következtében jelentős termés kiesés is lehetséges.

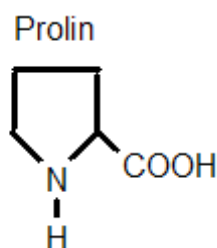
2.4.4. Az ABS, mint stresszhormon

A jelátvitel egyik fontos szabályozó eleme az ABS (abszcizinsav), melynek receptora egyaránt megtalálható a plazmamembránban és a sejten belül. A jelátvételi folyamat kezdetét az ABS receptorhoz való kötődése váltja ki, melynek eredményeként létrejön a génexpresszió. A stresszválaszban szerepet játszó gének lehetnek ABS által szabályozottak (ABA függő) és

ABS által nem szabályozottak (ABA független). Az ABS által szabályozott géneket főként szárazság és sóstressz hatására termelik a növények. A sejtek számos proteint halmoznak fel vízhiány következtében, így védik meg a membránjukat, makromolekuláikat. Ilyen védelmi funkciót látnak el a LEA (late embryogenesis abundant) fehérjék, amelyek megkötik az ionokat, továbbá nagy vízmegtartó képességük révén képesek megőrizni a sejtkomponensek integritását vízhiány során. Hét csoportjukat különböztetik meg (*Battaglia és mtsai* 2008). A hét csoport közül a mi esetünkben a harmadik csoport (D-7/D-29) érdekes. Ezen csoport fehérjei közül az pl. HVA1 az árpadban (*Hordeum vulgare* L.) található meg. E fehérjének két alcsoportját különböztetjük meg a 11 aminosavból álló szekvencia-motívum nagy variálhatósága alapján (3A és 3B). Legfontosabb funkciójuk a környezeti stressz (hideg, fagy, aszály, magas sótartalom) hatására egy szoros, H-kötésekkel megszilárdított hálózat létrehozásával, gyökérnövekedés fenntartása vízhiány esetén (*Ried és Walker-Simmons* 1993). Szintén ABS szabályozása során fejtik ki hatásukat az hő sokkfehérjék (Hsp). Melyek megakadályozzák a proteinek aggregációját, szállításukat végzik az egyes sejt-kompartmentekbe, valamint a „hibás” fehérjék eliminálásában is részt vesznek. Kifejeződésük általában a stressz hatás jelenlétéhez kötött, felhalmozódásukat a stressztoleranciához kapcsolják (*Bartels és Sunkar* 2005). Az ABS-től független jelátviteli mechanizmusok például hideg hatására aktiválódnak a növényekben. Az abiotikus stresszre adott válasz szabályozásában más növényi hormonok is szerepet játszanak, ilyen például a szalicilsav (SA) a jázmonsav (JA) és az etilén (ET.) Az ABS-sel együttesen működnek pl. az AtMYC2 és az ERF1 transzkripciós faktorok kapcsolódó pontjai a JA/ABS, illetve a JA/ET jelátviteli utaknak (*Lorenzo és Solano* 2005). E komplexek a megfelelő egyensúlyt biztosítanak a sejtszintű válaszreakciók között (*Hirayama és Shinozaki* 2010).

2.4.5. A prolin szerepe a szárazságstresszben

A lassan kialakuló szárazságstressz során a növények ozmolitikumok segítségével tartják fenn a sejtek folyamatos vízfelvételét. Az ozmolitikumnak tekinthetők az aminosavak, azon belül is a prolin, cukrok, mint például a trehalóz, cukoralkoholok egyes típusai (pl. szorbitol) (*Chen és Murata* 2002). A prolin (2. ábra) kisméretű apoláris aminosav, olyan hidrofíl vegyület, amely enzimatikus regulátorként is szerepel (*Galiba* 2001).



2. ábra: A prolin Láng (1998)

A prolin általában bizonyos aminosav származékokkal együtt, mint pl.: glicin, betain halmozódik fel a növényekben só-, víz-, és hideg stressz stb. hatására (Láng 1998). Közel 30 éve ismert az is, hogy szárazságstressz hatására is akkumulálódik a növényekben és a virágporban (Pálfi és Juhász 1969). Bandurska (2000) különböző árpa genotípusokban vizsgálta polietilén-glikol (PEG) által kifejtett szárazság membránsérülésre gyakorolt hatását. A kísérletekben arra a következtetésre jutottak, hogy enyhébb membránkárosodás mutatkozott azoknál a genotípusoknál, melyek nagyobb prolin akkumulációs képességgel rendelkeznek. Molnár, 1995-ben jutott arra a megállapodásra, hogy a prolin védi a stresszelt növényt a kiszáradástól. Ugyanakkor a prolin-szint csökkenése a növény stressz érzékenységét fokozza. (Temesváriné, 2004). A prolin felhalmozódás és a szárazságstressz között (Sinha 2006) keresett összefüggést. A kísérletek során a többi stresszfajta esetében is tapasztalták a prolin-szint növekedését, úgy gondolták, hogy a prolin megfelelő indikátora lehet szárazságstresszhez való alkalmazkodásnak. A prolin felhalmozódása hideg, valamint fagy stressz során is megfigyelhető. Azonban csak a vízhiánynak kitett növényekben érheti el a prolin-szint az összaminosav tartalom 80%-át. Optimális vízellátottságnál kis mennyiségben mutatható ki a levelekből. Az úgynevezett prolin-próba alkalmas a növények vízhiányának kimutatására. A módszer alkalmazása azért is ajánlott, mert indukálja a fiziológiai szárazságot is. (Galiba 2001)

2.4.6. Az oldható cukrok szerepe a szárazságstresszben

A szénhidrátoknak jelentős szerepe van a növények élettani folyamataiban. Ennek következtében bármely olyan változás, ami stresszt okozhat (vízhiány, sótartalom növekedés stb.) a növényekben az egyszerű cukrok mennyiségének változásában is megnyilvánul. (Vízhiány csökkenése hatással van a cukorakkumulációra.) Aszályos időszakban az oldható cukrok, mint például a szacharóz, glükóz és a fruktóz szerepet játszanak a fotoszintézis metabolizmusának szabályozásában. A keményítő lebontásának következtében nő a cukrok koncentrációja, ami befolyásolja egyes gének kifejeződését, így változik a fehérjemintázat is. Magas cukortartalom esetén csökken a fotoszintézisben részt vevő enzimek transzkriptszintje,

míg a szénhidrátok lebontásában szerepet játszó, továbbá a raktározott poliszacharidok, lipidek bontását katalizáló enzimek mRNS-mennyisége nő (*Stitt és mtsai* 2007). A fokozott légzés, és a csökkent CO₂ fixáció miatt csökken a szénhidrát áramlás, valamint a szacharóz grádiens.

Az oldható cukrok között a szacharóz is képes vízmegkötésre, ezzel elősegíti, hogy a sejthártya foszfolipidjei folyékony-kristályos állapotban maradjanak, illetve a vízoldékony proteinek strukturális változását akadályozza meg, és gátolja kicsapódásukat a vízvesztés esetén. Paradicsomnál vizsgálták, hogy szalicilsavas kezelés mely (szerves vagy szervetlen) ozmotikumok szintézisét milyen mértékben befolyásolja, illetve melyek azok, amelyek elősegítik az ozmotikus adaptációt sóstressz alatt. Szalicilsavas kezelés után a hajtás szöveiben nő a vízpotenciál, a szerves ozmotikumok (szénhidrátok) akkumulációja következtében. A gyökérben és a hajtásban egyaránt nő az oldható cukortartalom. A gyökérben elsősorban a szacharóz, a levelekben a hexózok, a glükóz és a fruktóz akkumulálódik. (*Szepesi*, 2009)

2.4.7. A szárazságtűrés genetikai hátterének vizsgálata

A minőségi és mennyiségi jellegek genetikai hátterének megismeréséhez allélvizsgálatokat használnak. Egyes fajok között különbség lehet a homológ gének eltérő funkcióban, illetve eltérő eredetű gének azonos funkciójában. A polimorfizmusok leginkább azokat a kódoló szakaszokat érintik, melyek hatással vannak a képződő fehérjékre. Kisebb részük pedig hatással van a génexpresszió szabályozásában résztvevő régiókra (*Alonso-Blanco és mtsai*. 2005b). Adott stresszválasz gyakran összetett szabályozással rendelkező, többgénese, mennyiségi jelleg (QTL). QTL-eknek (Quantitative trait locus) nevezzük azokat a kromoszómaszakaszokat, amelyek szerepet játszanak a kvantitatív tulajdonságok kialakításában.

2.4.8. A szárazságtűrés, mint kvantitatív jelleg

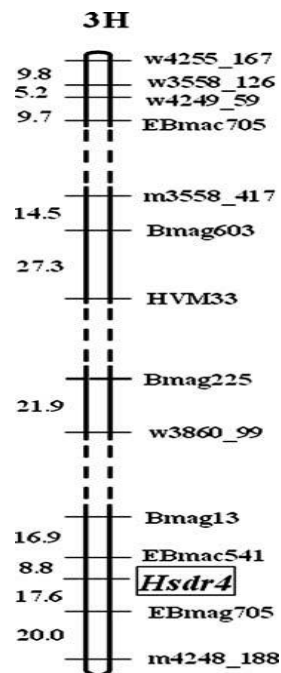
Mind az állatoknál, mind a növényeknél léteznek olyan öröklött jellegek, amelyek fenotípusos formái nem sorolhatók jól elkülöníthető kvalitatív kategóriákba - mint például a szemszín - hanem folytonos eloszlást mutatnak (pl.: magasság, termés hozam). Ezeket a jellegeket mennyiségi vagy más néven kvantitatív tulajdonságoknak nevezzük. Ezen tulajdonságokra

jellemező, hogy több gén által meghatározottak, úgynevezett poligénes öröklődésűek, és kifejeződésüket a környezet nagymértékben befolyásolja. Az egyes gének szerepe additív és eltérő mértékben járul hozzá az adott fenotípus kialakításához. Az ilyen jelleg nagyszámú egyedben vizsgálva normál eloszlást mutat. Öröklődésük azzal magyarázható, hogy több, de egyenként mendeli öröklődést követő gének együttes hatása érvényesül. Általánosságban elmondható, hogy egy adott jelleg kialakításában major, illetve minor QTL-ek vehetnek részt. A kromoszóma egy viszonylag szűk régióját értjük az alatt ha QTL-ről beszélünk. Egy-egy szűk régió azonban több gént is magában foglalhat. A szárazságtűrést befolyásoló lókuszok általában kis hatásúak (*small* QTL), amelyek a fenotípusos variancia maximum 25% -áért felelősek (Price 2006) és az erős környezeti hatás miatt gyengén öröklődnek (*low heritability*) (Nguyen *et al.* 2004, Teulat *et al.* 2001b). Az árpa szárazságtűrésében részt vevő géneket QTL analízise alapján megállapították, hogy a 12 szárazságtűrésben részt vevő QTL közül négy helyezkedik el a 2H, 5H valamint a 7H kromoszómán. (Tondelli *et al.* 2006). Árpában eddig két multigén család részletesebb vizsgálatát végezték el, a kutatások fő szempontja a géncsalád szerveződése, illetve olyan egyedi gének szabályozása volt, amelyek dehydrin (Dhn) és C-repeat kötő faktor proteinek (CBF) kódolnak (Cattivelli és mtsai. 2002).

2.4.9. Az árpa szárazságtűrésében szerepet játszó gének

Az árpa szárazságtűrésének vizsgálatakor azonosították a Hsdr4 (*Hordeum spontaneum* drought responsive) gént, melynek expressziójában különbség mutatkozott a szárazságstresszre érzékeny és toleráns árpa genotípusok között (Suprunova 2007). Szintén Suprunova munkásságának köszönhető, hogy tudjuk a Hsdr4 gén az árpa 3H kromoszómájának hosszú karján az EBmac541 és EBmag705 markerek között helyezkedik el (3. ábra). Az árpa kromoszómájának vizsgálata alapján megállapították, hogy e régió belül további QTL-ek is találhatóak, melyeknek szerepe lehet a szárazságtűrés kialakításában, ezek ozmotikus potenciálra (OP) hatással levő és a relatív víztartalmat befolyásoló (RWC) QTL-ek (Diab *et al.* 2004). Mivel a szárazságtűrésben szerepet játszó QTL-ekel együtt fordul elő a Hsdr4, ezért expresszió növekedése feltehetően szerepet játszik a szárazság tűrésben. A vízhiány tolerálásában az úgynevezett dehydrin gének is szerepet játszhatnak.

A környezeti stresszekre, mint például szárazság, alacsony hőmérséklet és a sótartalom a növények adaptív válaszreakciója figyelhető meg. Ezekben a válaszreakciókban nagy szerepe van a dehydrin gének közül a DHNS és a LEA D-11-nek. Ezen gének vízben oldódó vezikulák valamint asszociált fehérjék előállítását végzik (*Close et al. 2000*). A Dhn4 gén számos allélját a *H. vulgare* ssp. *vulgare* L. és progenitor *H.vulgare* ssp. *spontaneum* C. növényekben Koch, már megszekvenáltatta. A szárazságtűrésben szerepet játszó dehydrin gének (DHN 1., 3., 5., 6. és 9.) a vad árpaiban is megtalálhatók (*Suprunova et al. 2004*).



3. ábra Az árpa 3H kromoszómája (*Suprunova 2007*)

3. CÉLKITŰZÉS

Munkánk során arra kerestük a választ, hogy a szárazságstressz milyen változást okoz a növények növekedésében, oldható cukor tartalmában, prolin-tartalmában, valamint a Hsdr4 gén expressziójában, amelyről szakirodalom alapján ismert, hogy az árpa szárazságtűrésében szerepet játszó génexpressziójában különbség mutatkozik a szárazságstresszre érzékeny és toleráns árpa genotípusok között. (Suprunova 2007). Korábbi vizsgálataink alapján azt tapasztaltuk, hogy a rendelkezésünkre álló 22 árpa fajta mindegyikében jelen van ez a gén (Schmidthoffer 2010)

A szárazságstressz következtében kialakuló változásokat 22 Magyarországon köztermesztésben lévő árpa fajtánál vizsgáltuk. Továbbá a vizsgálatok eredményei alapján korrelációanalízist alkalmazva arra kerestük a választ, hogy milyen összefüggést mutatnak a növények stressz hatására adott élettani és génexpressziós változásai.

Célunk, hogy egyszerű molekuláris biológiai mérésekkel, valamint laboratóriumi kísérletekkel kimutassuk a fajták és nemesítési vonalak közötti különbségeket, ezáltal olyan gyorsan elvégezhető kísérleti eredményekhez jussunk, melyek alkalmasak lehetnek a nemesítési vonalak szelekciójára, nem utolsósorban pedig a fajták jellemzésére.

4. ANYAG ÉS MÓDSZER

4.1. A kísérleti növények

A kísérletekhez a Gabonakutató Nonprofit Kft. Táplánszentkereszti Növénynemesítő Kutatóállomásán tájörzskísérleteiben szereplő fajtákat és nemesítési vonalakat használtuk (1. táblázat). Mivel az országos átlag alapján a 2011-es tavaszi hónapok jelentősen szárazabbnak bizonyultak a sokéves átlaghoz képest, ezért a szántóföldi szárazságtűrő képesség meghatározását a 2011-es évi szántóföldi terméseredmények alapján számítottuk, és ugyanezen év szemterméseit is használtuk fel. Ebben az évben az országos átlaghőmérséklet közel 1°C-al volt melegebb, a csapadékösszeg pedig átlagosan 200 mm-el volt kevesebb a sokéves átlagnál (OMSZ.hu).

A szárazságstressz hatását laboratóriumi körülmények között a növényélettani paraméterek változásának (gyökér és levélhossz, gyökér és levél nedves tömeg, prolin valamint szacharóz-tartalom) mérésével, illetve a Hsdr4 expressziós szintjének mérésével kontroll és kezelt (PEG4000) növényeken vizsgáltuk. A laboratóriumi valamint a molekuláris méréseket egyaránt négy ismételtsben végeztük el.

SORSZÁM	NÉV	SORSZÁM	NÉV
1	Mandolina	12	KH Lédi
2	GKS 9413	13	Quench
3	GK Habzó	14	KH Andrea
4	GKS 903	15	Scarlett
5	Tatum	16	Bojos
6	Grace	17	Marthe
7	GKS 902	18	Explorer
8	Tocada	19	KH Lilla
9	GKS 901	20	Pasadena
10	Chill	21	Mauritia
11	Xanadu	22	KH Szinva

1. táblázat: A rendelkezésünkre álló árpa fajtasor

4.2. A növények nevelése

Minden fajtából 30-30 db magot nedves szűrőpapírba helyeztünk, szobahőmérsékleten nedves környezetben előcsíráztattuk, majd a 2. napon csíráztató hálóra helyeztük. A csíranövényeket folyadékkultúrában az első pár napban Hoogland tápoldatban tartottuk (1. kép). A csíráztatást követő 7. napon stresszeltük a növényeket 20%-os PEG4000-es oldattal (2. kép), majd a kilencedik napon az összes növény hajtásából reprezentatív módon mintát vettünk a növekedési paraméterek méréséhez és az RNS kivonásához.



1. kép: Kontroll növények 9 napos korban



2. kép: Kezelt (2. nap 20% PEG) növények 9 napos korban

4.3. Mintavétel

A csíráztatástól számított 9. napon mind a kontroll mind a kezelt (PEG) növények esetében a csíráztató rácstról véletlenszerűen választottunk ki 10-10 darab növényt. Ez a véletlenszerűség úgy történt meg, hogy a rácson „X” minta mentén választottuk ki a mérések során felhasznált növényeket. Elsőként minden növény gyökerét és levelét milliméter pontossággal, vonalzó segítségével megmértük, majd analitikai-mérleggel a levelek és a gyökerek együttes nedves össztömegét mértük le. Az RNS kivonáshoz más időpontban csíráztatott illetve nevelt növényi mintákat használtunk fel. A mintavétel itt is véletlenszerűen, egy „X” minta mentén történt meg, majd a levelek feldarabolását követően 0,2 g növényi mintából történt meg az RNS kivonás.

4.4. Prolin-teszt

A prolin kimutatását Bates (1968) munkája alapján végeztük el a csíráztatástól számított 9. napon. A kimutatás során 0,5g növényi mintát először 5ml 3%-os szulfoszalicilsavban homogenizáltunk, majd szűrtük Whatman 2 szűrőpapíron. Az így kapott szűrletből 1,5ml-t 1,5ml ninhidrinsavval reagáltattuk és 1,5 ml jégcetet hozzáadva 100°C-on vízfürdőben tartottuk egy órán keresztül, majd jégen hűtöttük a mintákat. A kihűlt mintákhoz 3ml toluolt adtunk, ezt követően 15-20 másodpercig erőteljesen kevertük. A kromatografálendő toluolos fázist elválasztva szobahőmérsékleten fotometráltuk toluol vakpróbával szemben 520nm-en (Anthelie Advanced). A prolin koncentrációt kalibrációs görbe segítségével határoztuk meg.

4.5. Oldható cukrok kimutatása

A cukrok kimutatását Dubois (1956) fenolkénsavas módszerét alkalmazva határoztuk meg. A vizsgálat a következőképpen történt. 0,5 g levelet feldaraboltunk, majd 19,5 ml desztillált vízben egy óráig digesztáltuk 100 °C körüli hőmérsékleten. Ezt követően kémcsőbe mértünk 2ml kihűlt oldatot, hozzáadtunk 0,05 ml 80%-os fenolt, és 5 ml tömény kénsavat, ügyelve arra, hogy a savsugár inkább a folyadék felszínét érje. Ezután a mintákat 10 percig állni hagytuk. Az állás után a mintákat összeráztuk és 20-30 °C-ra (vízfürdőben) lehűtöttük. Az ilyenkor megjelenő színváltozás még néhány óráig tartós marad. A hexózokat (Anthelie Advanced) spektrofotométerrel mértük 490 nm-en, kénsavval szemben.

4.6. A csíranövény növekedési mutatók összehasonlítása a szántóföldi eredményekkel

Az eredményeinket a Gabonakutató Nonprofit Kft. Táplánszentkereszti Növénynevelő Kutatóállomásán kidolgozott Bioassay-módszerrel vetettük egybe a szántóföldi kísérletek eredményeivel (Cooper 1996, Tomcsányi 2005) korrelációanalízissel (PEARSON). A Bioassay koncepció lényege, hogy amennyiben ismerünk a többkörnyezetes kísérletsorozatban szereplő genotípusok stresszérzékenységgel összefüggő paramétereket, akkor ezeken keresztül a kísérletsorozatban kimért GE (Genotípus: Környezet) kölcsönhatások már összefüggésbe hozhatók a vizsgált fajták stresszérzékenységgel. A teljes kísérletsorozat értékelésnél a szignifikáns korrelációk gyakoriságát vettük figyelembe. Az egyes tulajdonságok szerepét akkor tekintettük szignifikánsnak, ha a szignifikáns korrelációk

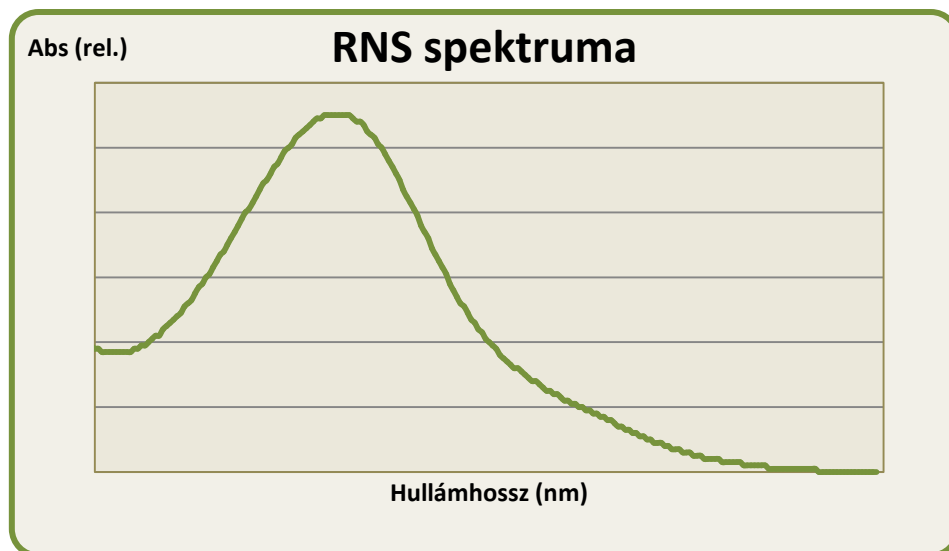
száma szignifikánsan meghaladta egy $P=5\%$ valószínűségű esemény véletlenszerű gyakoriságát.

Az adatokat a korrelációanalízist megelőzően standardizáltuk $(x_i - x_{\text{átlag}})/s$ képlet segítségével, hogy a különböző nagyságrendű adatok összehasonlíthatóak legyenek.

A molekuláris biológiai kutatások, a Hsdr4 expressziójának vizsgálatára a TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001 azonosító számú Nemzeti Kiválóság Program – Hazai hallgatói, illetve kutatói személyi támogatást biztosító rendszer kidolgozása és működtetése országos program című kiemelt projekt keretében zajlott. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

4.7. RNS kivonás lépései

Az RNS kivonást TRIzol® reagenssel (Invitrogen) végeztük a Nyugat-magyarországi Egyetem Savaria Egyetemi Központ Biológia Intézetének molekuláris biológia laboratóriumában. A kivonáshoz 0,2 g friss árpalevelet használtunk, melyet folyékony nitrogénben elporítottunk. Ezt követően 1 ml TRIzol® reagens hozzáadásával folytattuk a sejtek feltárását. A mintákhoz 200 µl kloroformot adtunk és 3 perces erőteljes vortexelést követően 4 °C-on centrifugálással (14.000 rpm, 15 percig) szabadultunk meg a kicsapott fehérjéktől. A centrifugálás után a tiszta felülúszót eppendorf csőbe pipettáztuk és a maradék szennyező anyagoktól 375 µl kloroform: izoamilalkohol 24:1 arányú elegyének hozzáadásával majd a minta ismételt 4 °C-on történő centrifugálásával (14.000 rpm, 15 percig) váltunk meg. Az RNS extrakciója 500 µl -20 °C-os izopropanol hozzáadásával történt meg, amit a felső immáron RNS-t tartalmazó vizes fázishoz adtunk, majd 4 °C-on centrifugáltuk (14.000 rpm, 15 percig) az RNS ülepitése érdekében. Az RNS csapadék tisztítása úgy történt, hogy a mintát kétszer mostuk 1 ml -20 °C-os 70%-os etanollal, majd centrifugáltuk 4 °C-on 14.000 rpm-mel, 4 percig. A centrifugálást követően a pellethez 30 µl RNáz mentes vizet adtunk. A minták tisztaságára az A260/A280 arányból következtettünk (4. ábra).



**4. ábra: Az RNS tisztaságának ellenőrzése spektrofotométerrel
(Hitachi U2910, Japán)**

Az ellenőrzés során megfelelő értéként fogadtuk el, ha az $A_{260}/A_{280} > 1,9$. Az arány meghatározása spektrofotométer (Hitachi U2910, Japán) segítségével történt. A teljes RNS-kivonatokat a további felhasználásig $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on fagyasztva tároltuk.

4.8. A totál RNS kivonat mennyiségi meghatározása

A Rendelkezésünkre álló totál RNS mennyiségét spektrofotométerrel (Hitachi U2910, Japán) ellenőriztük az alábbi képletet felhasználva $A_{260\text{nm}} \cdot 40 \text{ mikrogram ml/mg} \cdot \text{hígítás}$ (Dombvári 2011).

4.9. cDNS szintézis lépései

A génexpressziós vizsgálatok során a már meglévő RNS mintákból kétféle módszer alapján szintetizáltunk cDNS-t. Az első módszer során Maxima First Strand cDNA Synthesis Kit for RT-qPCR (Thermo Scientific) segítségével előállított cDNS-eket használtuk. A cDNS előállítására szolgáló $20\text{ }\mu\text{l}$ végtérfogatú reakcióelegy a következő enzimeket tartalmazta: $4\text{ }\mu\text{l}$ 5x Reaction Mix, $2\text{ }\mu\text{l}$ Maxima Enzyme Mix, $5\text{ }\mu\text{l}$ RNS templát, $9\text{ }\mu\text{l}$ H_2O -t (nukleáz mentes). A reakció hőmérsékleti programja: $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 10 min; $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 15 min $85\text{ }^{\circ}\text{C}$ 5 min.

A másik módszernél RevertAid M-MuLV Reverse Transcriptase (Fermentas) enzim segítségével szintetizáltunk cDNS-t. Az előállításra szolgáló $25\text{ }\mu\text{l}$ végtérfogatú reakcióelegy ennél a módszernél a következő enzimeket tartalmazta: $5\text{ }\mu\text{l}$ 5x Reaction Buffer, $2\text{ }\mu\text{l}$ dNTP

Mix 10mM each (Fermentas), 1 µl RevertAid M-MULV Reverse Transcriptase, 5 µl RNS templát, 12 µl H₂O-t (nukleáz mentes). Az összemérést követően a reakcióelegyet 42 °C-on 60 percig inkubáltuk SureCycler 8800 PCR (Agilent Technologies) készülék segítségével.

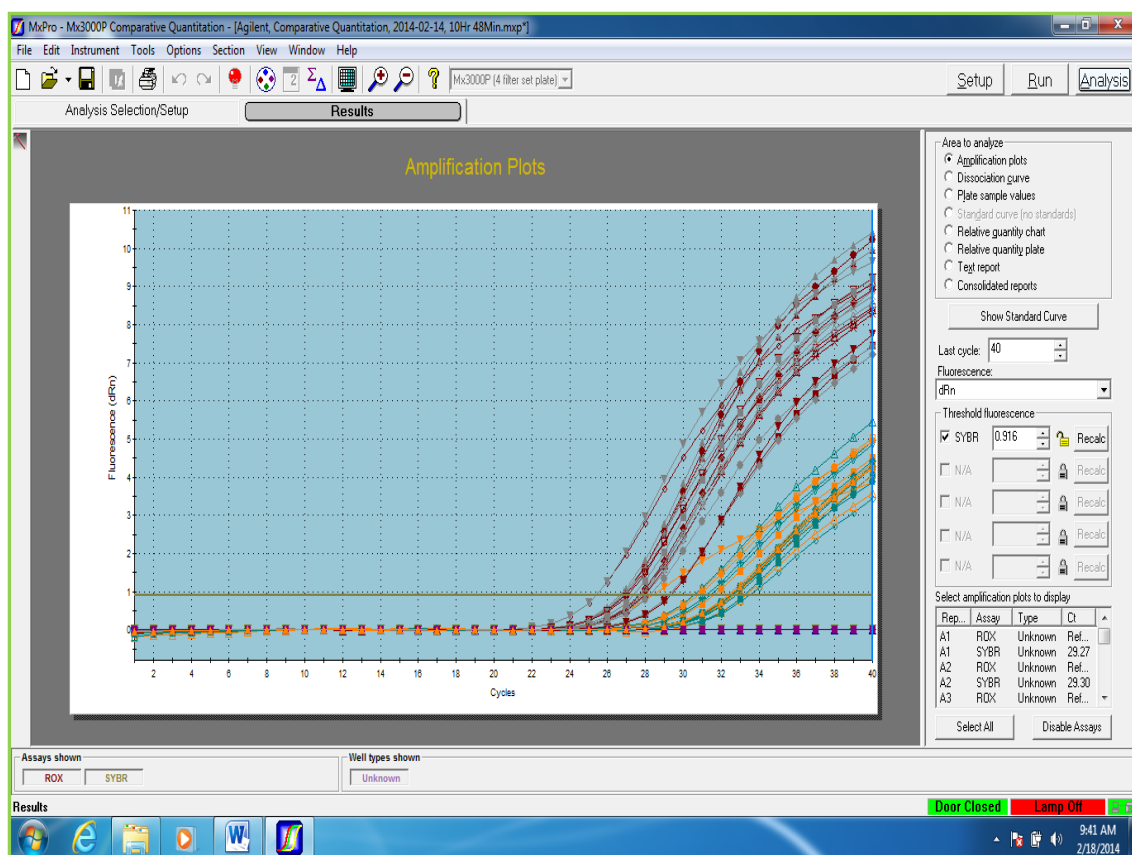
4.10. A Real-Time RT-PCR reakció

A Real-Time RT-PCR reakcióhoz Luminaris Color HiGreen Low ROX qPCR Master Mixet (Thermo Scientific) alkalmaztunk a gyártó utasításának megfelelően. A 40 µl végtérfogatú reakcióelegy 25 µl Sybr Green Mixet, 5 µl Yellow Mixet, 2- 2µl forward és reverse primert, 5 µl templát cDNS-t és 1 µl H₂O-t (nukleáz mentes) tartalmazott. A reakciókat Mx3000P qPCR System (Agilent Technologies) Real-Time PCR készüléken futtattuk le normál üzemmódban. A reakció hőmérsékleti programja: 95 °C 5 min; 94 °C 45 sec 61 °C 45 sec 72 °C 45 sec *40 ciklus; 50 °C 10 sec 94 °C 33 sec, 25 °C 30 sec.

A reakció során egy referencia primert és az álltalunk vizsgálni kívánt HSdr4 gén primereit használtuk fel. Ebben a munkaszakaszban több referencia primert is kipróbáltunk, többek között a 18S rRNS-t, GADPH-t, alpha-tubulint. Ezek közül a kísérletek során a legstabilabban expresszálódó, a növényekben nagy mennyiségben jelen levő alpha-tubulint alkalmaztuk, Forward primer: 5'AGTGTCTCTGTCCACCCACTC 3', Reverse primer: 5' AGCATGAAGTGGATCCTTGG 3' (*Burton et al.* 2004). A vizsgálni kívánt gén pedig a Hsdr4 Forward primer: 5'CCGGGCTTTATTCTGGCT 3', Reverse primer: 5' TTTCCAGTACAACCCTCCGCT3' (*Suprunova et al.* 2007).

4.11. Értékelés

A kapott eredményeket a MxPro QPCR Software (Agilent Technologies) segítségével értékeltük. Az eredmények (5. ábra) kiértékelésénél a kontroll és kezelt növények alpha-tubulin/Hsdr4 fluoreszcencia értékét számoltuk ki Excel program segítségével. A kapott eredményeken végül korrelációanalízist végeztünk.



5. ábra: A QPCR reakció eredménye (Mx3000P qPCR System (Agilent Technologies) Real-Time PCR készülék, MxPro QPCR Software (Agilent Technologies))

5. EREDMÉNYEK

A kísérletekbe vont sörárpa fajták szántóföldi szárazságtűrésének meghatározását a 2011 évi termésadatokra alapoztuk. A tájtörzskísérletben beállított kisparcellás 4 ismétléses szántóföldi kísérleti terméseredmények alapján a humidabb és aridabb területeken kapott termésadatok felhasználásával becsülhető a fajták szárazságtűrése. A kísérletek Táplánszentkereszten, Mosonmagyaróváron, Keszthelyen, Karcagon, Eszterágon, Szegeden, Szarvason, Putnokon és Szarvason folytak (6.ábra), illetve Táplánszentkereszten kiszárító agrotechnikával és késői vetésben is beállították a fajtakísérletet. A szántóföldi szárazságtűrés adatokat a Gabonakutató Kht. növénynemesítője bocsátotta rendelkezésünkre.

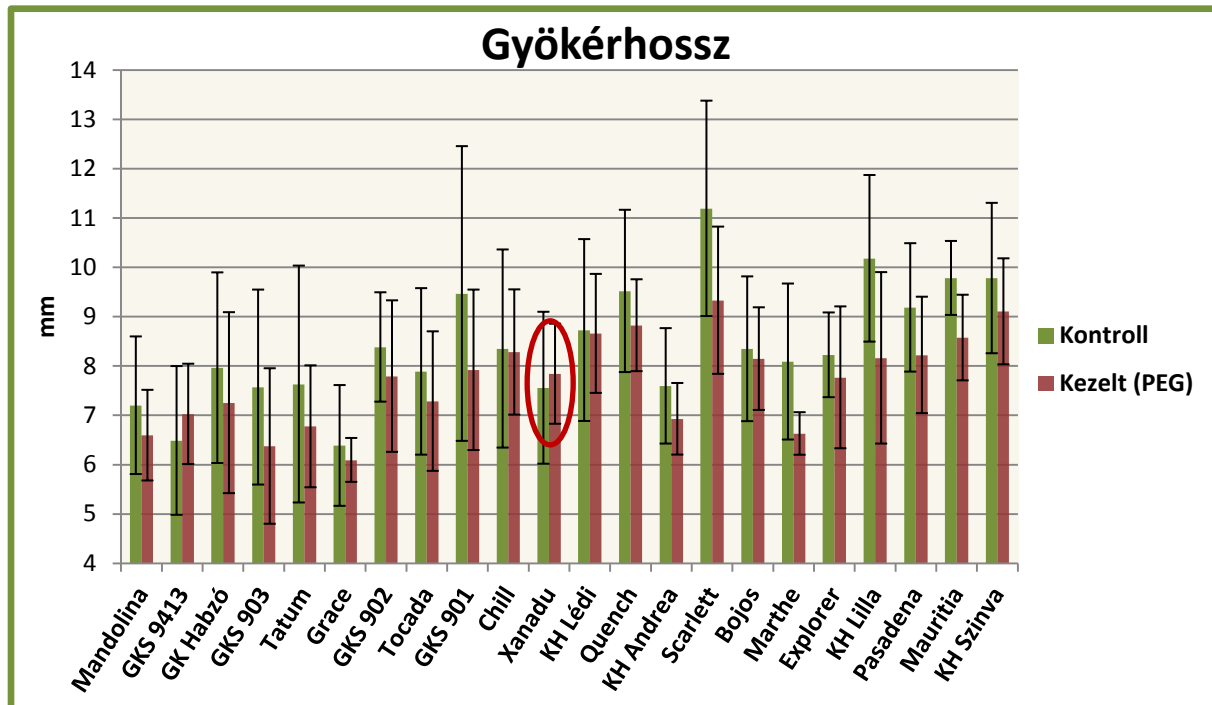


6. ábra: A kisparcellás szántóföldi kísérletek helyszínei

A laboratóriumi növényélettani vizsgálatok elvégzéséhez szintén a 2011 évi terméseket használtuk fel. Az élettani vizsgálatok során mértük a növények gyökér- és levélhosszát, gyökér- és levéltömegét valamint a prolin és oldható cukortartalmát mind a kontroll mind a kezelt (PEG4000) minták esetében.

5.1. A gyökérhossz és gyökértömeg változása PEG kezelés hatására

A szakirodalomból ismert, hogy a szárazság érzékelése a gyökérben is megtörténik. Az itt termelődő abszcizinsav (ABS) lokálisan serkenti a gyökér növekedését, a hajtásba transzportálódva (Schachtman és Goodger 2008). Továbbá a növények egyik szárazság-elkerülő stratégiaként mélyreható, vastag gyökérzetet kifejlesztenek, mellyel mélyebb rétegekbe eljutva kompenzálják a vízhiányt (Tari és mtsai 2003). Az eredményeink alapján a gyökér növekedése a 2 napos vízelvonó kezelés hatására csökkent, csak egyetlen fajtánál (Xanadu) tapasztaltuk az ellenkezőjét (7. ábra). A gyökerek nedves tömege is csökkent kezelés hatására (2. táblázat). Mindkét növekedési bélyeg esetében a csökkenés szignifikáns volt a 22 fajtára vonatkoztatva. A gyökérhossz esetében $SzD.p\% = 0,03$, gyökértömeg esetében az összefüggés még szorosabb, $SzD.p\% = 2,96E-11$ (3. táblázat). A borsók PEG oldattal történő kezelését követően (Iszállyné, 2007) stressz hatására a gyökérhossz nagyobb mértékű csökkenése tapasztalható. Skribanek (2008) a sörárpa fajták szárazság stressz reakciójának vizsgálata során szintén a gyökérhossz és gyökértömeg csökkenését tapasztalta kezelés hatására.



7. ábra: A gyökérhossz változása PEG kezelés hatására (n=4)

Fajtasor	Kezelés	Kontroll növények gyökértömege (g)	Kezelt (PEG) növények gyökértömege (g)
1. Mandolina		2,969± 2,415	2,101± 0,788
2. GKS 9413		3,183± 2,56	2,253± 0,824
3. GK Habzó		3,67± 2,385	2,631± 0,694
4. GKS 903		3,3± 2,042	2,309±0,666
5. Tatum		3,47±2,201	2,302±0,778
6. Grace		2,587±2,335	1,789±0,896
7. GKS 902		3,47± 2,874	2,629±0,729
8. Tocada		3,462±2,547	2,475±0,706
9. GKS 901		4,178±2,493	2,766±0,941
10. Chill		3,853±2,951	2,691±0,947
11. Xanadu		3,464±2,915	2,465±0,966
12. KH Lédi		3,902±3,169	2,759±1,035
13. Quench		3,8± 3,348	2,693±1,174
14. KH Andrea		2,94± 2,656	2,107±0,921
15. Scarlett		4,335±3,329	3,052±1,039
16. Bojos		3,551±3,062	2,551±1,007
17. Marthe		2,88±2,497	1,936±1,003
18. Explorer		3,354±2,940	2,578±0,759
19. KH Lilla		3,863±2,865	2,822±0,722
20. Pasadena		3,567± 3,101	2,616± 0,957
21. Mauritia		3,396±3,450	2,571±1,135
22. KH Szinva		3,901± 3,468	2,815± 1,160

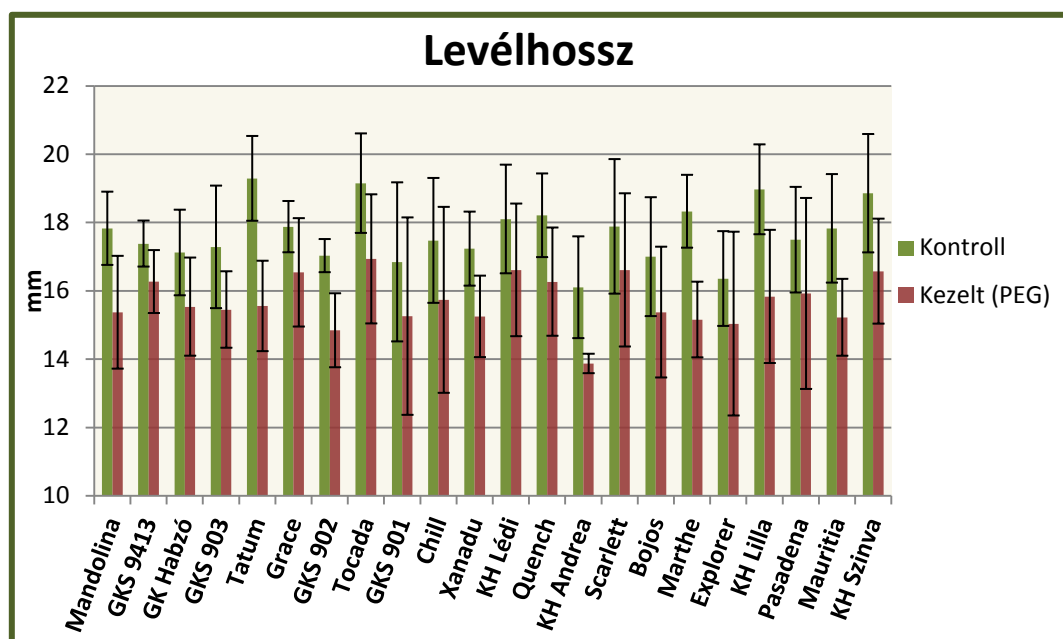
2. táblázat: A gyökértömeg (g) változása PEG kezelés hatására (n=4)

	Gyökérhossz		Gyökértömeg	
	Kontroll	Kezelt (PEG)	Kontroll	Kezelt (PEG)
átlag	8,431	7,707	3,506	2,496
szórás	1,627	1,183	2,801	0,903
SZD p%	0,029953		2,96E-11	

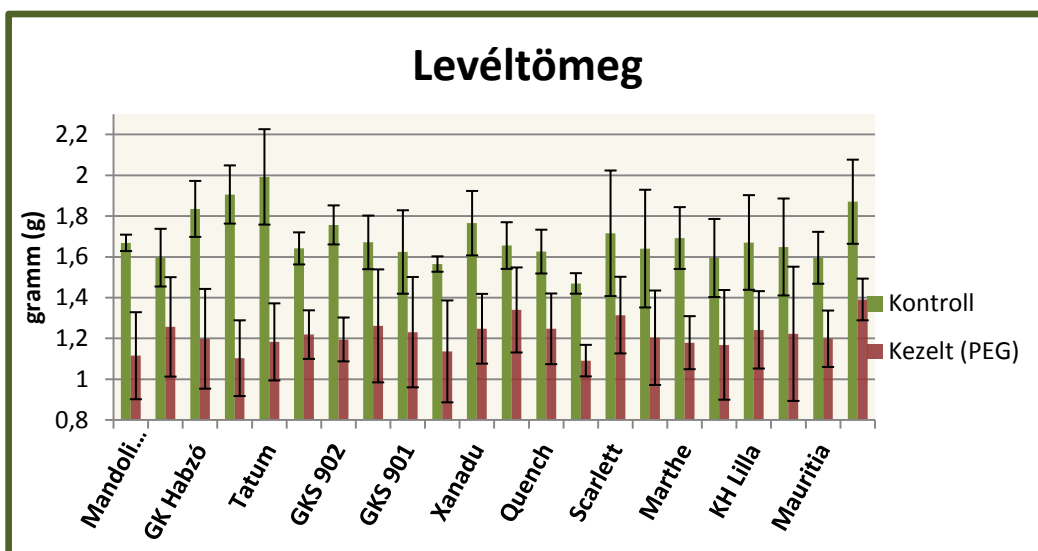
3. táblázat: Gyökérhossz és gyökértömeg változása PEG kezelés hatására

5.2. A levélhossz és levéltömeg változása PEG kezelés hatására

Az eredményeink alapján elmondható, hogy a levelek hossza is minden fajtánál csökkent (8. ábra) vízelvonó kezelésre. A 22 kontroll fajta összesített levélhossza átlagban 17,71 mm volt, míg PEG-gel kezelték 15,69 mm ($SzD.p\%=1,45E-10$) (4. táblázat). A levél tömegek esetében is csökkenést tapasztaltunk (9. ábra) a kontroll növények átlaga 1,69 g volt, míg PEG-gel kezelték 1,22 g volt ($SzD.p\%=3,57E-19$) (4. táblázat). Mindkét növényélettani bélyeg esetében a csökkenés szignifikáns volt. A levél és gyökér hosszúság csökkenésének mértéke stressz kezelés hatására közel azonos (gyökér: 92%, levél: 89%) azonban a stresszelt növények levél tömege a 72%-ára csökkent, míg a gyökerek tömegcsökkenése arányos a hosszúság csökkenésükkel (89%). A hajtás gyökér arány stressz kezelésre csökken.



8. ábra: A levélhossz változása PEG kezelés hatására (n=4)



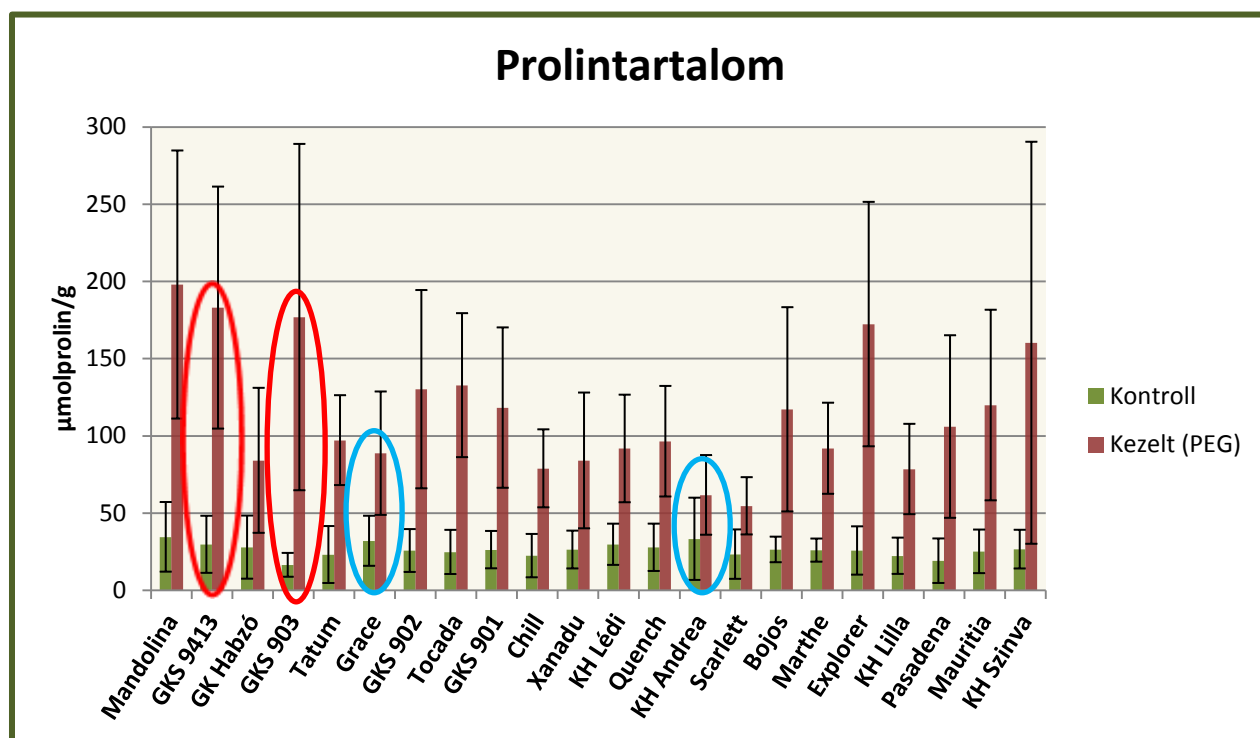
9. ábra: A levéltömeg változása PEG kezelés hatására (n=4)

	Levélhossz		Levéltömeg	
	Kontroll	Kezelt (PEG)	Kontroll	Kezelt (PEG)
átlag	17,710	15,691	1,691	1,216
szórás	1,391	1,6810	0,155	0,196
SZD p%	1,45E-10		3,57E-19	

4. táblázat: Levélhossz és levéltömeg változása PEG kezelés hatására

5.3. A Prolin-tartalom változása PEG kezelés hatására

Az árpafajták prolin-reakcióját mutatja az 10. ábra kontroll és stressz körülmények között. Prolin nagymértékű felhalmozódása következik be a növények vízhiánya esetén (Galiba 2000), melyet méréseink is alátámasztanak, akár tízszeres prolintartalom növekedés is bekövetkezik a PEG stressz hatására.



10. ábra: A prolin-tartalom változása PEG kezelés hatására (n=4)

	Prolin-tartalom	
	Kontroll	Kezelt (PEG)
átlag	26,080	114,609
szórás	14,809	54,315
SZD p%	7,19E-13	

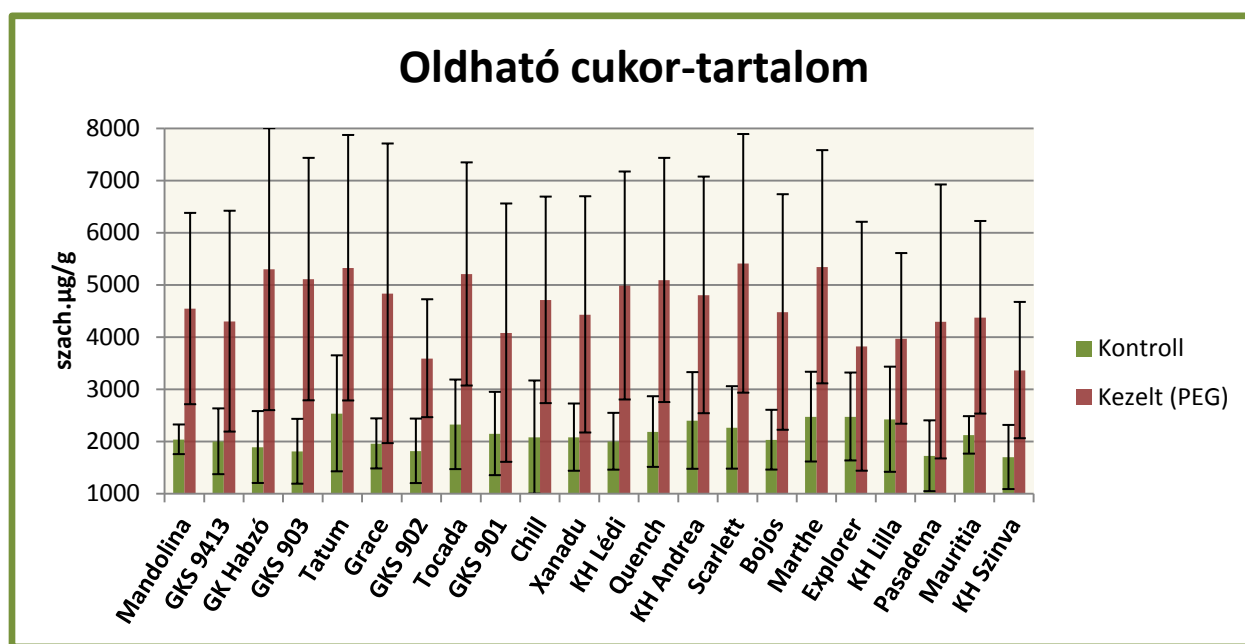
5. táblázat: Prolin-mennyiség változása PEG kezelés hatására

Az eredmények alapján elmondható, hogy a prolintartalom ugyan minden fajtánál szignifikánsan ($SzD.p\%=7,19E-13$) (5. táblázat) növekedett kezelés hatására, ugyanakkor a növekedés mértékében egyes fajtáknál nagy eltérést tapasztaltunk. A GKS 903 és 9413

nemesítési vonalnál, nagyon nagyarányú, míg a KH Andrea és Grace fajtáknál kisebb arányú növekedést tapasztaltunk (2-3-szoros). A prolin felhalmozódás mértékéből a növények szárazságtűrő képességére lehet következtetni (Sinha 2006).

5.4. Az Oldható cukor-tartalom változása PEG kezelés hatására

A vízelvonás hatására a növényeknél növekszik a cukortartalom (pentózok, hexósok, szacharóz) (Kerepesi 2000). Kísérleteinkben a cukortartalom átlagosan a PEG oldatban nevelt növényeknél 2494 $\mu\text{g/g}$ -al szignifikánsan ($\text{SzD}_{p\%}=1,77\text{E-}21$) növekedett (6. táblázat). A fajták és vonalak e tekintetben is különböző mértékben mutattak változást (11. ábra). Legkevésbé növekedett a cukortartalom az Explorer (164%) és Kh Lilla (154%) fajtákban, míg a GK Habzó 280%-kal a GKS 903 vonal 282%-kal növelte stressz hatásra a cukor koncentrációját a levelekben.



11. ábra: Az oldható cukor-tartalom változása PEG kezelés hatására (n=4)

	Oldható cukor-mennyiség	
	Kontroll	Kezelt (PEG)
várható érték	2114,065	4608,210
szórás	712,824	2219,136
SZD p%	1,77E-21	

6. táblázat: Az oldható cukor-mennyiség változása PEG kezelés hatására

5.5. A Hsdr4 expressziójának változása PEG kezelés hatására

Az árpa szárazságtűrésében szerepet játszó gén a Hsdr4 gén expressziójában különbség figyelhető meg a szárazságstresszre érzékeny és toleráns árpa genotípusok között. (Suprunova 2007).

Fajtasor	átlag	szórás	Alf . tol%
1. Mandolina *	1,030	0,108	25,4
2. GKS 9413	1,126	0,052	14,5
3. GK Habzó *	0,989	0,029	18,8
4. GKS 903 *	0,926	0,021	7,6
5. Tatum	1,049	0,032	-2,9
6. Grace	1,071	0,079	-14,7
7. GKS 902	1,019	0,024	5,2
8. Tocada	1,164	0,142	-7,9
9. GKS 901	1,051	0,067	0,8
10. Chill	1,107	0,160	3,6
11. Xanadu	1,053	0,125	2,3
12. KH Lédi	1,094	0,119	-14,1
13. Quench	1,120	0,137	-9,1
14. KH Andrea *	1,008	0,088	12,2
15. Scarlett	1,054	0,176	2,3
16. Bojos	1,126	0,179	-8,1
17. Marthe *	1,015	0,228	17,4
18. Explorer	1,271	0,052	-1,9
19. KH Lilla	1,216	0,216	-18,7
20. Pasadena	1,183	0,192	3,3
21. Mauritia	1,161	0,062	-20
22. KH Szinva	0,968	0,144	-15,8
átlag	1,093	0,111	0,009

7. táblázat: A Hsdr4 expressziójának növekedése PEG kezelés hatására (n=4)

(*: szárazságtűrő fajták)

	Hsdr4 expressziója	
	Kontroll	Kezelt (PEG)
átlag	1,0287	1,1017
szórás	0,1456	1,1017
SZD P%	0,00515	

8. táblázat: A Hsdr4 expressziójának változása PEG kezelés hatására

Eredményeink alapján megállapítható, hogy a Hsdr4 egy induktív gén. A vizsgálataink során azt tapasztaltuk, hogy átlagosan ~10 %-al nőtt a Hsdr4 génexpressziós szintje szárazságstressz hatására. Az adatok további elemzése azt mutatja, hogy a Hsdr4 gén legkevésbé expresszáldott a szárazságot toleráló fajtákban. Valószínűsíthetjük, hogy az általunk jellemzett szárazságtűrő fajtákban nem ez a gén biztosította a szárazsággal szembeni védekezést és az alkalmazott szárazság stressz nem érte el azt a mértéket, hogy a Hsdr4 gén bekapcsoljon (7. táblázat). Jól látható, hogy a szárazságtűrésre érzékeny fajoknál szignifikánsan nőtt a Hsdr4 expressziója, a szárazságot jobban toleráló fajtáknál viszont alig változott, esetenként csökkent a Hsdr4 mennyisége, feltételezhetően azért, mert nem kapcsol még be a gén, vagyis a növény más védekezési mechanizmusokat alkalmazott.

5.6. Összefüggés vizsgálatok

A növekedési és élettani paramétereket a szántóföldi kisparcellás tájtörzskísérlet alapján számolt szántóföldi szárazságtűréssel korreláltattuk (9. táblázat). A növények növekedési paraméterei a 22 fajtára összefüggést mutattak a szántóföldi szárazságstressz tűrő képességgel. A jó kezdeti fejlődést mutató fajták a szárazságtűrés tekintetében is előnyben voltak a kisebb gyökér és levél hosszúságot elérő fajtákkal szemben, szignifikáns összefüggést mutattak a kontroll növények gyökér és levélhosszában. A gyökértömeg és levéltömeg változása gyenge (pl. PEGGYH) vagy közepesen szoros (pl. PEGLT) kapcsolatban volt a szántóföldi szárazságtűréssel. A kezelés hatására bekövetkező élettani változások - oldható cukor és prolin tartalom – kísérletünkben nem jellemzik a fajták szárazságtűrését, annak ellenére sem, hogy a prolin és a cukor koncentráció is nő PEG jelenlétében az összes fajta átlagában. A prolin tartalom növekedése, inkább a stressz jelenlétének kimutatására mintsem az egyes egyedek, fajták közötti szárazságstressz tolerancia különbség mérésére alkalmas.

	<i>Szántóföldi szárazságtűrés (Alf . tol%)</i>
KGYH	-0,439
PEGGYH	-0,497
ΔgyhK-PEG	-0,110
ΔgyhK/PEG	-0,030
KLH	-0,416
PEGLH	-0,422
ΔLHK-PEG	-0,073
ΔLhK/PEG	-0,008
KGYT	0,211
PEGGYT	-0,235
ΔgytK-PEG	0,395
ΔgytK/PEG	0,364
KLT	0,0246
PEGLT	-0,531
ΔgLTK-PEG	0,320
ΔLtK/PEG	0,387
KSZ	-0,032
PEGSZ	0,250
ΔgSzTK-PEG	0,277
ΔSzK/PEG	-0,257
KP	0,188
PEGP	0,200
ΔgPK-PEG	0,180
ΔPK/PEG	0,029
HSDR4%	-0,426

9. táblázat: Az élettani paraméterek korrelációja a szántóföldi szárazságtűréssel

Magyarázat: $P_{0,1\%} = 0,35$

$P_{0,05\%} = 0,41$

$P_{0,01\%} = 0,52$

	Hsdr4 expressziója
KGYH	0,201
PEGGYH	0,295
KLH	0,0515
PEGLH	0,168
KGYT	-0,350
PEGGYT	-0,082
KLT	-0,517
PEGLT	0,107
$\Delta gLTK$-PEG	-0,540
ΔLTK/PEG	-0,522
KSZ	0,356
PEGSZ	-0,238
$\Delta gSzTK$-PEG	-0,407
$\Delta SzTK$/PEG	0,503
KP	-0,110
PEGP	-0,004

10. táblázat: Az élettani paraméterek korrelációja a Hsdr4 gén expressziójával

Magyarázat: $P_{0,1\%} = 0,35$

$P_{0,05\%} = 0,41$

$P_{0,01\%} = 0,52$

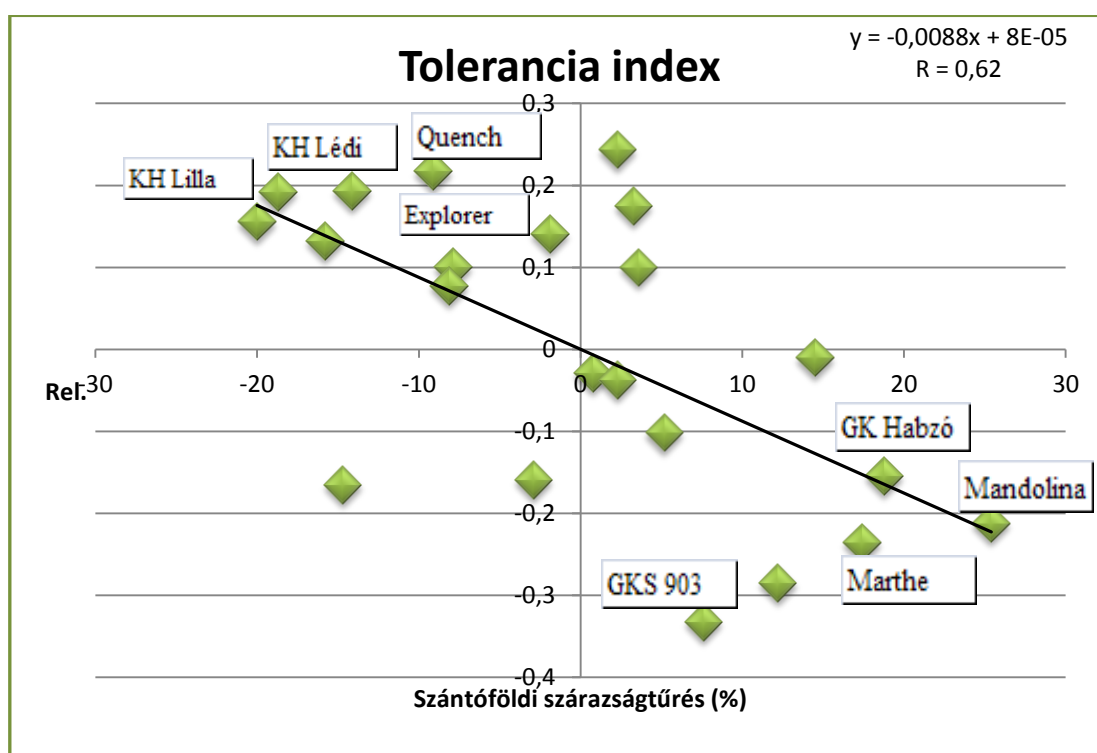
A Hsdr4 gén expresszió változás korrelációját az élettani paraméterekkel a 10. táblázat mutatja. A sörárpa levél és gyökérnövekedése és a Hsdr4 expressziója között nincs összefüggés. Kontroll növények oldható cukor-tartalma, a kontroll és kezelt növények oldható cukor-tartalmának különbsége, a kontroll és kezelt növények oldható cukor-tartalmának aránya mutat összefüggést. A cukortartalom stresszhatásra bekövetkező növekedése és a génexpresszió pozitív korrelációja ($r=0,5$) alapján azt feltételezzük, hogy a cukorkoncentráció növekedése az ozmotikus stressz kivédése mellett a génexpresszió energiaigényét fedezi.

A szárazságtűréssel összefüggő paraméterek összevonásával – PEG kezelt növények gyökér- és levélhosszúsága, Hsdr4 gén relatív expresszációja - tolerancia indexet készítettünk, melynek összefüggése a szántóföldön mutatott szárazságtűréssel $r=0,62$, azaz 0,01%-on szignifikáns (11. táblázat). A tolerancia index a fajták standardizált teljesítményének összege. A 12. ábrán látható, hogy az így nyert index alapján jól elkülöníthetők a szárazságot jól tűrő és arra érzékeny fajták. Az ábra jobb alsó sarkában találjuk azokat a fajtákat és vonalakat,

amelyek a szárazságtűrőknek tekinthetők, a bal felső sarokban pedig azokat amelyek szárazságstresszre érzékenyek. A szántóföldi szárazságtűrésre történő szelekcióban a tolerancia index alkalmas lehet a nemesítési vonalak előszelekciójára, így már csíranövény korban a szélsőségesen vízigényes vonalak kiszűrhetők.

	<i>Alf . tol%</i>	Tolerancia index
<i>Alf . tol%</i>	1	-0,62
Tolerancia index	-0,62	1

11. táblázat: Tolerancia index korrelációanalízise a szántóföldi szárazságtűréssel.



5. ábra: A szárazságtűréssel összefüggő paraméterek tolerancia indexe

6. KÖVETKEZTETÉS, MEGVITATÁS

A munkánk során arra kerestük a választ, hogy az általunk vizsgált növényélettani paraméterek: gyökér és levélhossz, gyökér és levél nedves tömeg, prolin valamint oldható cukor-tartalom, illetve a Hsdr4 expressziós szintje milyen változást mutat szárazságstressz (kezelés PEG4000 20%-os oldatával) hatására.

A gyökérhossz és gyökértömeg esetében azt tapasztaltuk, hogy mind a 22 rendelkezésünkre álló fajtánál szignifikáns csökkenést mértünk a kezelés hatására.

A levélhossz és levéltömeg szárazságstressz hatására szignifikáns csökkenés mutatott. A kontroll növények gyökérhossza PEG kezelés hatására átlagosan 2,02 mm-rel csökkent, a levelek tömege pedig 0,47 g-al. A szakirodalomban olvasható adatoknak megfelelően vízhiány jelenlétekor mi is prolin-tartalom növekedését kaptuk eredményül. A kezelés hatására ugyan mind a 22 árpafajtánknál szignifikáns (5. táblázat) növekedést észleltünk, de a növekedés mértékében az egyes fajták olykor jelentős különbségeket mutattak. A szántóföldi szárazságtűréssel azonban nem tudtunk összefüggést kimutatni a PEG-gel kezelt növények prolin-tartalmában.

Kerepesi (2000) szerint vízelvonás hatására növekszik a növények a cukortartalma. Méréseink eredményei azt mutatják, hogy szárazságstressz hatására a cukortartalom a PEG oldatban nevelt növényeknél szignifikánsan (6. táblázat) nőtt. A fajták és vonalak e tekintetben is különböző mértékben mutattak változást. A szántóföldi szárazságtűréssel azonban itt sem, viszont a Hsdr4 gén expressziójával közepesen szoros összefüggést mutat a stresszelt növényekben bekövetkező cukortartalom növekedés mértéke.

Egy az irodalom által javasolt gén (Hsdr4) szerepét vizsgáltuk a szárazságtűrés kialakításában. Kérdésünk az volt, vajon lehetne-e ezt a gént markerként használni a szárazságtűrés fokozására irányuló nemesítési kísérletekben. A génkifejeződés mértékének megállapítása során azt tapasztaltuk, hogy átlagosan kb. 10 %-kal nőtt a Hsdr4 gén expressziós szintje szárazságstressz hatására a szántóföldi szárazságtűrés tolerancia indexe alapján szárazságra érzékeny fajtáknál, mind például KH Lilla, vagy a Bojos. A szántóföldi szárazságtűrés tolerancia indexe alapján szárazságtűrőnek ítélt fajtáknál, mind például a GKS 903 és a GK Habzó fajtáknál a génexpresszió nem vagy alig nőtt (7. táblázat). Feltételezéseink szerint, e fajták esetében a gén aktiválódásához nagyobb mértékű szárazság, vagy hosszabb ideig tartó stressznek kellett volna jelen lenni. Helyette más növényélettani mechanizmusok aktiválódtak. Tehát ez a gén a vizsgált fajták esetében egyértelműen nem használható a szárazságtűrő

képesség jellemzésére, de egy szenzitív fajtánál alkalmas lehet a szárazság mértékének jellemzésére.

Összességében elmondható, hogy noha a Hsdr4 mint marker, a fajták közötti szelekcióra önmagában kevésbé alkalmas, ugyanakkor a környezeti jellemzésre, illetve a stressz érzékenység mértékének a megállapítására a szárazságsresszre érzékeny fajtáknál alkalmasnak tekintető. Mindezt alátámasztja az is, hogy a Hsdr4 expressziójának változása és a szántóföldi szárazságtűrés között összefüggés mutatható ki (8. táblázat).

Vizsgálataink alapján elmondható, hogy a molekuláris biológiai mérések (Hsdr4 génexpressziója) is alkalmasak a köztermesztésben lévő fajták előszelekciójára, együtt a növényélettani bélyegekkel.

7. KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS

Szeretném köszönetem kifejezni Tomcsányi Andrásnak a Gabonakutató Kht. növénynemesítőjének, aki rendelkezésünkre bocsátotta a szántóföldi szárazságtűrés adatait.

Tiszteletem és köszönetem illeti konzulenseimet Dr. habil Skribanek Annát, Dr. habil Szilák Lászlót és Dr. Molnár Pétert a rengeteg segítségért, szakmai tanácsokért amellyel hozzájárultak dolgozatom elkészítéséhez. Köszönöm a Nyugat-magyarországi Egyetem Savaria Egyetemi Központ Természettudományi Karához tartozó Biológia Intézetnek, hogy a kutatásokhoz szükséges eszközöket rendelkezésemre bocsájtották.

Külön köszönet a **TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001** azonosító számú Nemzeti Kiválóság Program – Hazai hallgatói, illetve kutatói személyi támogatást biztosító rendszer kidolgozása és működtetése országos program című kiemelt projektnek, amely biztosította kutatásom anyagi hátterét.

8. FELHASZNÁLT IRODALOM

1. Alonso-Blanco C, Mendez-Vigo B, Koornneef M (2005b): From phenotypic to molecular polymorphisms involved in naturally occurring variation of plant development. *Int. J. Dev. Biol.* 49: 717–732.
2. Bandurska, H. (2000): Does proline accumulated in leaves of water deficit stressed barley plants confine cell membrane injury? I. Free proline accumulation and membrane injury index in drought and osmotically stressed plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, 22: 409-415.
3. Barnett NM, AW Naylor (1966): Amino acid and protein metabolism in Bermuda grass during water stress. *Plant Physiol* 41:1222–1230.
4. Bartels D., Sunkar R. (2005): Drought and salt tolerance in plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 24, 23-58.
5. Bates L. S. (1973): Rapid Determination of free proline for water- stress studies, *Plant and Soil*, 39, 205-207.
6. Battaglia M., Olvera-Carrillo Y., Garcarrubio A., Campos F., Covarrubias A.A. (2008): The enigmatic LEA proteins and other hydrophilins. *Plant Physiology*, 148, 6-24.
7. Blum WH (1997):Cadmium uptake by higher plants. In: *Proceedings of Extended Abstracts from the Fourth International Conference on the Biochemistry of Trace Elements*. pp. 109-110.
8. Boyer J. S. (1982): Plant productivity and environment. *Science*, (218) 443-448. p.
9. Braye. A. (1997): Plant responses to water deficit. *Trends in Plant Science*, (2) 48-54. p.
10. Cattivelli L, Baldi P, Crosatti C, Di Fonzo N, Faccioli P, Grossi M, Mastrangelo AM, Pecchioni N, Stanca AM (2002): Chromosome regions and stress related sequences involved in resistance to abiotic stress in Triticeae. *Plant Molecular Biology* 48:649-665.
11. Chaves MM, Flexas J, Pinheiro C (2009): Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Ann Bot* 103:551–560.
12. Chen T.H.H, Murata N. (2002): Enhancement of tolerance of abiotic stress by metabolic engineering of betaines and other compatible solutes. *Current Opinion in Plant Biology*, 5, 250–257.
13. Close TJ, Dong-Woog C, Salvi S, Tuberosa R, Ryabushkina N, Nevo E (2000): Allelicvariation at loci encoding dehydrins in wild and cultivated barley *Plant and Animal Genome VIII*, 9-12San Diego, January 2000 (Abstract)
14. Cone AE, Slafer GA, Halloran GM (1995): Effects of moisture stress on leaf appearance, tillering and other aspects of development in *Triticum tauschii*. *Euphytica* 86: 55-64.
15. Cooper, M. és Fox. P (1996): Enviromental characterization based on probe and reference genotypes in: plant adaptation and crop improvement. In: Cooper, M. és Hammer, G. L. (ed) *Plant adaptation and crop improvement*.p:529-547.CAB International, IRRI, ICRI.

16. Diab AA, Teulat-Merah B, Dominique T, Neslihan Z, Ozturk DB, Mark E S (2004): Identification of Drought- Inducible Genes and Differentially Expressed SequenceTags in Barley. *Theor Appl Genet* 109:1417-1425.
17. Dombvári V. (szerk)(2011): Molekuláris biológiai módszerek, Egyetemi jegyzet, Debrecen, Debreceni Egyetem- Orvos-és Egészségtudományi centrum
18. Dubois M., Gilles K. A., Hamilton J. K., Rebers P. A., Smith F. (1956): Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances, *Analytical Chemistry*, 28. 3. 50-356.
19. Ford CW, Wilson JR (1981): Changes in levels of solutes during osmotic adjustment to water stress in leaves of four tropical pasture species. *Aust J Plant Physiol* 8:77 –91.
20. Frensch J (1997): Primary responses of root and leaf elongation to water deficits in the atmosphere and soil solution. *Journal of Experimental Botany* 48: 985-999.
21. Dr. Galiba Gábor, Dr. Sutka József (2001): A termesztett növények abiotikus stresszrezisztenciája, Egyetemi jegyzet, Gödöllő Szent István Egyetem- Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar
22. Galiba Gábor, Kerepesi Ildikó (2000): Osmotic and Salt Stress- Induced Alteration in Soluble Carbohydrate Content in Wheat Seedlings, *Crop Science*, Vol. 40., March-April
23. Henson IE, Jensen CR, Turner NC (1989): Leaf gas exchange and water relations of lupins and wheat. III. Absciscic acid and drought-induced stomatal closure. *Aust J Plant Physiol* 16:429–442.
24. Hirayama T., Shinozaki K. (2010): Research on plant abiotic stress responses in the post-genome era: past, present and future. *The Plant Journal*, 61, 1041-1052.
25. Iszályné és mtsai.: XIII Növénynevelési tudományos Napok Budapest : MTA, 2007. - p. 105
26. Kerepesi I., Galiba G. (2000): Osmotic and salt stress-induced alteration in soluble carbohydrate content in wheat seedlings, *Crop science*, vol. 40, n°2, pp. 482-487 (ISSN 0011-183X)
27. Láng Ferenc (1998): Növényélettan- A növényi anyagcsere, ELTE Eötvös Kiadó, Budapest
28. Lelley J. (1963): A nemesítés módszerei. In.: Lelley Y., Mátyás GY. (Szerk.): A búza-
29. *Triticum aestivum* L. Kultúrfióra sorozat 19. Budapest: Akadémiai Kiadó, pp. 233-240.
30. Lorenzo O., Solano R. (2005): Molecular players regulating the jasmonate signaling network. *Current Opinion in Plant Biology*, 8, 532-540.
31. Lőrincz J. (1984) : A sörárpa termesztése, Mezőgazdasági Kiadó, Budapest
32. Hidvégi Sz. (szerk.) (2007): Növénytermesztés, Egyetem jegyzet.
33. New Age Foods (2006): Előcsíráztatott árpa (Dr. Lerner Péter fordításában), Vitality Kiadó, Budapest
34. Nguyen T.T.T., Klueva N., Chamareck V., Aarti A., Magpantay G., Millena A.C.M., Pathan M.S., Nguyen H.T. (2004): Saturation mapping of QTL regions and identification of putative candidate genes for drought tolerance in rice. *Molecular Genetics and Genomics*, (272) 35-46. p.

35. Molnár Z. P. (1995): Növényélettani gyakorlatok, kari jegyzet, Pannon Agrártudományi Egyetem Mosonmagyaróvári Mezőgazdaságtudományi Kar, Mosonmagyaróvár
36. Munns R. (2002): Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell and Environment* 25: 239-250.
37. Rachel A. Burton, Neil J. Shirley, Brendon J. King, Andrew J. Harvey, Geoffrey B. Fincher (2004): The **CesA** Gene Family of Barley. Quantitative Analysis of Transcripts Reveals Two Groups of Co-Expressed Genes. *Plant Physiology* January 2004 vol. 134 no. 1 224-236.
38. Passioura JB (1988): Root signals control leaf expansion in wheat seedlings growing in drying soils. *Australian Journal of Plant Physiology* 15: 687-693.
39. Pálfi G., Juhász J. (1969): Relationships among water deficiency, saline or cold root medium on proline, pipercolic acid and total amino acid contents of plants. *Z. Pflanzenernähr. Bodenkd.* 124: 6-42.
40. Price A. H. (2006): Believe it or not, QTLs are accurate! *Trends in Plant Science*, (11) 213-216. p.
41. Révai Nagy Lexikona (1994) (Arány- Béke 107.- 110.o.), Babits Kiadó Budapest
42. Ried J.L., Walker-Simmons M.K. (1993): Group 3 late embryogenesis abundant proteins in desiccationtolerant seedlings of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Physiology*, 102, 125-131.
43. Schachtman DP, Goodger JQD (2008): Chemical root to shoot signaling under drought. *Trends Plant Sci* 13:281–287.
44. Schmidthoffer I., Molnár P., Solymosi K., Szilák L., Skribanek A., (2011): Árpa szárazság és stressz tűrésének vizsgálata-Hsdr4 gén genomi kimutatásával., A Magyar Növénynevelési Napok X. Kongresszusa, Szeged, poszter összefoglaló nélkül.
45. Simon T. (2000): A magyarországi edényes flóra határozója- Harasztok- virágos növények, Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest
46. Sinha N.C., Patil B.D (2006): of Barley Varieties for Drought Resistance, *Plant Breeding* 97:1:13-19.
47. Skribanek A., Tomcsányi A. (2008): Sörárpafajták szárazságstressz reakciói. A Nyugat-magyarországi Egyetem Savaria Egyetemi Központ Tudományos Közleményei XVI. Természettudományok 11, 137-145.
48. Stitt M., Gibon Y., Lunn J.E., Piques M. (2007): Multilevel genomics analysis of carbon signalling during low carbon availability: coordinating the supply and utilisation of carbon in a fluctuating environment. *Functional Plant Biology*, 34, 526-549.
49. Suprunova T., Krugman T., Distelfeld A., Fahima T., Nevo E., Korol A. (2007): Identification of a novel gene (Hsdr4) involved in water-stress tolerance in wild barley. *Plant Mol Biol* 64:17-34.
50. Suprunova T., Krugman T., Fahima T., Chen G., Shams I., Korol A., Nevo E. (2004): Differential expression of dehydrin genes in wild barley, *Hordeum spontaneum*, associated with resistance to water deficit. *Plant Cell Environ* 27:1297-1308.

51. Süle A. (2008): Környezeti tényezők hatásának vizsgálata az árpában proteomikai módszerekkel, Budapesti Corvinus Egyetem Doktori értekezés, Központi Élelmiszer-tudományi Kutatóintézet Budapesti Corvinus Egyetem, Budapest
52. Takahashi N., Goto N., Okada K., Takahashi H. (2002): Hydrotropism in abscisic acid, wavy, and gravitropic mutants of *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, 216, 203-211.
53. Tari I., Csiszár J., Gallé Á., Bajkán Sz., Szepesi Á., Vashegyi Á. (2003): Élettani megközelítések gazdasági növényeink szárazságtűrésének genetikai transzformációval történő javítására, *Bot. Közlem.* 90(1-2): 139-158.
54. Temesváriné Ábrahám Edit. (2004): A prolin felhalmozódása, és az ebben szerepet játszó gének transzkripcionálási szintű vizsgálata Szeged.
55. Teulat B., Merah O., Souyris I., This D. (2001b): QTLs for agronomic traits from a mediterranean barley progeny grown in several environments. *Theoretical and Applied Genetics*, (103) 774-787. p.
56. Tomcsányi A., Turcsányi Á. (2004.): Az árpa. Akadémiai Kiadó Budapest
57. Tomcsányi A. (2005): A fajtasor mint bioassay (Elhangzott az MTA Szabolcs-Szatmár-Bereg Megyei Tudományos Ülésén 2005. szept. 31. Nyomtatás előtt.)
58. Tondelli A., Francia E., Barabaschi D., Aprile A., Skinner J.S., Stockinger J., Stanca A.M., Pecchioni N. (2006): Mapping regulatory genes as candidates for cold and drought stress tolerance in barley. *Theoretical and Applied Genetics*, (112) 445-454. p.
59. Szepesi Á. (2009): Hosszútávú szalicilsav előkezelés hatása paradicsom növények sóstressz akklimatizációjára, Doktori értekezés.

Internetes hivatkozások:

1. http://www.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tamop425/0010_1A_Book_adaptalt_02_egyeb_gabonanovenyek_termesztese/ch09s02.html