

A NÖVÉNYEK ÉLETE



Egyetemi jegyzet

Borító: Nagy völgycsillag (*Astrantia major*)

A kép forrása: Wikimedia commons. Szerző: Uoaei1. A képen változtatás nem történt. Felhasználható a Creative Commons Attribution-Share Alike 4.0 International licence alapján.

kép: https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/3a/Astrantia_major_Mitterbach_01.JPG;

licence: <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/deed.en>

Szerk.: Fehér Attila Sándor

Szegedi Tudományegyetem

2019.

Jelen tananyag a Szegedi Tudományegyetemen készült
az Európai Unió támogatásával.
Projekt azonosító: EFOP-3.4.3-16-2016-00014.

A NÖVÉNYEK ÉLETE

egyetemi jegyzet

Szerkesztette: Prof. Dr. Fehér Attila, egyetemi tanár

Írták: Prof. Dr. Fehér Attila, egyetemi tanár
Dr. Csiszár Jolán, egyetemi docens
Dr. Pécsváradai Attila, egyetemi docens
Ördögné Dr. Kolbert Zuzsanna, egyetemi docens

Szerzői jog © 2019

Dr. Fehér Attila, Dr. Pécsváradai Attila, Dr. Csiszár Jolán, Ördögné Dr. Kolbert
Zsuzsanna

E jegyzet kutatási és oktatási célokra szabadon használható.
Bármilyen formában való sokszorosítása a jogtulajdonosok írásos engedélyéhez kötött.

Tartalom

Bevezetés: A növények életének és egyedfejlődésének sajátosságai	8
1. rész A növények vízháztartása és táplálkozása	12
1.1. Fejezet A növények vízháztartása.	12
1.1.1. A víz különleges tulajdonságai.....	12
1.1.2. A víz mozgása	13
1.1.2.1. A tömegáramlás	13
1.1.2.2. A diffúzió.....	14
1.1.3. A vízpotenciál	14
1.1.3.1. A növényi sejtek vízviszonyainak jellemzésére használt paraméterek. A vízpotenciál és komponensei	14
1.1.3.2. A növényi sejtek vízpotenciáljának meghatározása	17
1.1.4. A sejtmembrán vízvezető képessége, az aquaporinok.....	18
1.1.5. A víz útja a növényben	20
1.1.5.1. Az apoplastikus és szimplasztikus transzport	20
1.1.5.2. Vízfelvétel a gyökérszónában.....	20
1.1.5.3. A víz útja a xilémbe.....	22
1.1.5.4. Transzspiráció, gázcseré, a sztóma működése	23
1.1.6. A floém transzport.....	25
1.2. Fejezet A növények ásványos táplálkozása, nitrogén és kén anyagcsere	30
1.2.1. A talaj, mint tápanyagraktár.....	30
1.2.2. A növényi gyökérzet és a rizoszféra	32
1.2.3. A növényi tápanyagellátás és a hozam kapcsolata, vízkultúrák rendszerei	33
1.2.4. A növények számára nélkülözhetetlen tápelemek és hiányuk	34
1.2.5. A nitrogén (N) anyagcsere	35
1.2.5.1. A N körforgalma	35
1.2.5.2. A biológiai N-fixálás	35
1.2.5.3. Nitrát asszimiláció	37
1.2.6. A kén (S) anyagcsere.....	38
1.2.6.1. A S körforgalma	38
1.2.6.2. Kén asszimiláció.....	38
1.2.7. Egyéb makroelemek (K, P, Ca, Mg).....	39
1.2.7.1. A kálium (K)	40
1.2.7.2. A foszfor (P)	40
1.2.7.3. Kalcium (Ca).....	40

1.2.7.4. A magnézium (Mg)	41
1.2.8. Mikroelemek	41
1.2.8.1. A vas (Fe)	41
1.2.8.2. Egyéb mikroelemek	42
1.3. Fejezet Fotoszintézis.	47
1.3.1. A fényenergia hasznosulása, fotoszintetizáló szervezetek, a fotoszintézis általános reakcióegyenlete	48
1.3.2. Fény szakasz	49
1.3.2.1. A fotoszintetikus apparátus szerkezete: kloroplasztisz, pigmentek, fényabszorpció és gerjesztődés.....	49
1.3.2.2. A fotoszintetikus elektrontranszportlánc működése	51
1.3.3. Sötét szakasz.....	53
1.3.3.1. Áttekintés	53
1.3.3.2. A ribulóz biszfoszfát karboxiláz/oxigenáz (Rubisco).....	54
1.3.3.3. A Calvin-ciklus szabályozása	55
1.3.3.4. Fotorespiráció: a Rubisco oxigenáz aktivitása	56
1.3.3.5. A kompenzációs pont	57
1.3.3.6. A C4-es növények fotoszintetikus CO ₂ asszimilációja.....	58
1.3.3.7. A Calvin-ciklusban megkötött szénváz sorsa: a szénhidrátok szintézise.....	59
2. Rész A növények növekedésének és fejlődésének szabályozási szintjei.....	65
2.1. Fejezet. A növényi genom és működésének szabályozása	65
2.1.1. A növényi genom és szerveződése	66
2.1.2. A növényi gének felépítése	67
2.1.3. A génátíródás szabályozása.....	68
2.1.3.1 Általános vonatkozások.....	68
2.1.3.2. A transzkripció faktorok.....	68
2.1.3.3. A kromatin szerkezet.....	69
2.1.3.4. A heterokromatikus kis interferáló RNS-ek.....	70
2.1.4. A génműködés szabályozásának további szintjei	71
2.1.4.1. Poszttranszkripció szabályozás I: az mRNS érési folyamata	71
2.1.4.2. Poszttranszkripció szabályozás II: a mikroRNS-ek	71
2.1.4.3. Poszttranszlációs szabályozás.....	72
2.2. Fejezet A növények növekedésének és egyedfejlődésének sejt szintű folyamatai (sejt megnyúlás, osztódás, és differenciáció)	76
2.2.1. A növényi növekedés és fejlődés definíciója	76
2.2.2. A növekedés térben és időben	77
2.2.3. A növényi sejtosztódás és szabályozása.....	78

2.2.4. A sejtmegnyúlás és szabályozása	80
2.2.5. Sejtdifferenciáció és szabályozása.....	82
2.3. Fejezet A növényi egyedfejlődés fényszabályozása.	86
2.3.1. A növények és a fény.....	86
2.3.2. A vörös és távoli vörös fény érzékelése.....	87
2.3.2.1. A fitokrómok.....	87
2.3.2.2. A fitokrómok molekuláris szerkezete	88
2.3.2.3. A fitokrómok működésének alapja: a fotokonverzió	88
2.3.2.4. Az aktív fitokrómok inaktivációja	90
2.3.2.5. A fitokrómok kináz aktivitása és autofoszforilációja	90
2.3.2.6. A fitokrómok jelátviteli hálózata	90
2.3.2.7. A fitokrómok jelátvitelének modellje	90
2.3.2.8. A fitokrómok közvetítette válaszreakciók	92
2.3.2.9. A sejtmagi import	93
2.3.3. UV-A és kék fény érzékelése.....	93
2.3.4. Az UV-B sugárzás érzékelése	94
3. Rész A növények növekedésének és alkalmazkodásának hormonális szabályozása	97
3.1. Fejezet. A növényi hormonok.....	97
3.1.1. A növényi hormonok fogalma és alapvető sajátosságai.....	97
3.1.2. A növényi hormonok érzékelése	100
3.1.3. A növényi hormonok vizsgálati módszerei	101
3.2. Fejezet Az auxin	106
3.2.1. Az auxinok felfedezése	106
3.2.2. Természetes és mesterséges auxinok – szerkezet és hatás	108
3.2.3. Az auxin metabolizmusa.....	110
3.2.4. Az auxin szállítása (transzportja)	111
3.2.5. Az auxin érzékelése és jelátvittele	115
3.2.6. Az auxin fiziológiai funkciói és szerepe a növények növekedésében és fejlődésében	116
3.2.6.1 A tropizmusok.....	117
3.3. Fejezet Citokininek	123
3.3.1. A citokininek felfedezése.....	123
3.3.2. A citokininek fogalma és szerkezete.....	123
3.3.3. A citokininek metabolizmusa	124
3.3.4. A citokininek érzékelése és jelátvittele.....	125
3.3.5. A citokininek biológiai funkciói.....	126
3.4. Fejezet. Gibberellinek.....	131

3.4.1. A gibberellinek és felfedezésük	131
3.4.2. A gibberellinek szintjét befolyásoló folyamatok	132
3.4.3. A gibberellinek érzékelése és jelátvittele	134
3.4.4. A gibberellinek főbb biológiai funkciói	134
3.5. Fejezet. Brasszinoszteroidok	139
3.5.1. A brasszinoszteroidok felfedezése	139
3.5.2. A brasszinoszteroidok szerkezete.....	140
3.5.3. A brasszinoszteroidok szintjét meghatározó folyamatok	140
3.5.4. A brasszinoszteroidok érzékelése és jelátvittele	142
3.5.5. A brasszinoszteroidok főbb biológiai funkció	144
3.6. Fejezet. A strigolakton, mint növényi hormon.....	148
3.6.1. A strigolaktonok felfedezése	148
3.6.2. A strigolaktonok szerkezete és bioszintézise	149
3.6.3. A strigolakton érzékelése és jelátvittele	150
3.6.4. A strigolakton, mint növényi hormon főbb funkció	151
3.7. Fejezet Abszcizinsav	154
3.7.1. Az abszcizinsav felfedezése	154
3.7.2 Az abszcizinsav előfordulása, kémiai szerkezete	155
3.7.3 Az abszcizinsav metabolizmusa	155
3.7.3.1. Az ABS bioszintézise	155
3.7.3.2. Az ABS inaktiválódása	157
3.7.4. Az abszcizinsav érzékelése és jelátvittele	157
3.7.5. Az abszcizinsav biológiai funkciói	158
3.7.5.1. Az ABS szerepe a magvak és rügyek nyugalmi állapotának kialakításában	158
3.7.5.2. Az ABS az abiotikus stresszválasz fontos szabályozója.....	159
3.7.5.3. Az ABS befolyásolja az öregedést, virágzást indukálhat.....	160
3.7.6. Az abszcizinsav kimutatása.....	160
3.8. Fejezet Etilén	164
3.8.1. Az etilén felfedezése.....	164
3.8.2. Az etilén előfordulása, kémiai tulajdonságai.....	165
3.8.3. Az etilén metabolizmusa	165
3.8.4. Az etilén érzékelése és jelátvittele	168
3.8.5. Az etilén biológiai funkciói.....	170
3.8.5.1. Az etilén szerepe a növekedési, fejlődési folyamatokban.....	171
3.8.5.2. Az etilén befolyásolja a levelek öregedését, a virágzás idejét, a virág- és termés fejlődését és -öregedését.....	172

3.8.5.3. Az etilén szerepe az abiotikus és biotikus stressz válaszokban	172
3.8.6. Az etilén kimutatása	173
3.8.7. Az etilén gyakorlati felhasználása.....	173
3.9. Fejezet. A szalicilsav.....	177
3.9.1. A szalicilsav felfedezése	177
3.9.2. A szalicilsav kémiai szerkezete, előfordulása	178
3.9.3. A szalicilsav bioszintézise és metabolizmusa	178
3.9.4. Az SA érzékelése és jelátvitel.....	178
3.9.4.1. Az SA receptorának és jelátvitelének megismerésében fontos alapvető növényi betegség-ellenállóság mechanizmusok	178
3.9.4.2. Az SA jelátviteli mechanizmusai	179
3.9.5. A szalicilsav biológiai funkciói.....	181
3.9.5.1. Az SA részt vesz a biotikus és abiotikus stressz rezisztencia kialakításában	181
3.9.5.2. Az SA szerepe növekedési és fejlődési folyamatokban	181
3.10. Fejezet A jázmonátok	185
3.10.1. A jázmonátok felfedezése	185
3.10.2. A jázmonátok kémiai szerkezete, előfordulása	186
3.10.3. A jázmonátok bioszintézise és metabolizmusa	187
3.10.4. A jázmonátok érzékelése és jelátvitel	188
3.10.5. A jázmonátok fiziológiai hatásai	190
3.10.5.1. A jázmonátok nagyon fontos szerepet töltenek be a biotikus stressz elleni védekezésben, a rezisztencia kialakításában	190
3.10.5.2. A jázmonátok szerepe növekedési és fejlődési folyamatokban.....	190
4. Rész A zárvatermő növények egyedfejlődésének szakaszai	194
4.1. Fejezet Ivarsejtképződés, megporzás és megtermékenyítés	195
4.1.1. A gametofitikus egyedfejlődési szakasz	195
4.1.1.1. A női gametofiton és a petesejt fejlődése.....	196
4.1.1.2. Megagametogenezis	196
4.1.1.2. A hím gametofiton és a hímivar sejtek fejlődése	197
4.1.2 Pollináció és megtermékenyítés.....	199
4.1.2.1. A pollen-bibe kölcsönhatás	200
4.1.2.2. A pollencső növekedése	200
4.1.2.3. A kettős megtermékenyítés	202
4.1.2.4. Az önmegtermékenyítés gátlása	202
4.2. Fejezet A mag és termés biológiája.....	206
4.2.1. A mag összetevői és fejlődésük	206

4.2.1.1. Embriógenézis	207
4.2.1.2. Az endospermium és fejlődése	211
4.2.1.3. A maghéj kialakulása	214
4.2.1.4. Az apomixis.....	214
4.2.1.5. A magnyugalom környezeti és hormonális szabályozása.....	215
4.2.1.6. A magok csírázása.....	217
4.2.2. A termés fejlődése és érése	218
4.2.2.1. A termés fejlődésének szakaszai	218
4.2.2.2. A termések érése.....	219
4.3. Fejezet A növények növekedésének és fejlődésének vegetatív szakasza.....	225
4.3.1. Fejezet A hajtás morfogenezeise.....	225
4.3.1.1. A hajtás merisztéma és funkciója	226
4.3.1.2. A levél	228
4.3.2 A gyökér morfogenezeise	235
4.3.2.1. A gyökér merisztéma és működése.....	235
4.3.2.2. Az oldalgyökök fejlődésének szabályozása	237
4.3.2.3. A gyökérszőrök morfogenezeise	238
4.3.3. A szállító szövetek differenciálódása.....	238
4.3.3.1. A kambium.....	239
4.3.3.2. A vaszkuláris sejtek differenciálódása	239
4.3.3.3. A másodlagos vastagodás.....	240
4.3.4 A hajtás és a gyökérzet architektúrájának környezeti szabályozása	241
4.3.4.1. A hajtáselágazódás szabályozása – apikális dominancia.....	242
4.3.4.2. A gyökérzet architektúrájának környezeti szabályozása	243
4.3.4.3. A gravitropikus beállítási szög	244
4.4. Fejezet Virágzásbiológia	249
4.4.1. A vegetatív-reproduktív egyedfejlődési átmenet a hajtás merisztémában	249
4.4.1.1. A hajtás-, a virágzati és a virágmerisztéma	249
4.4.1.2. A virágmerisztéma azonossági gének.....	250
4.4.1.3. A virágzati merisztéma és a virágzati struktúra szabályozása	251
4.4.2. A virágzási idő szabályozása	252
4.4.2.1. A virágzás integrátor gének.....	252
4.4.2.2. A virágzás nappalhossztól függő szabályozása	253
4.4.2.3. A vernalizáció.....	259
4.4.2.4. A virágzás egyedfejlődési szabályozása.....	260
4.4.2.5. A gibberellin, mint virágzási hormon.....	261

4.4.2.6. Az autonóm virágzásszabályozás.....	262
4.4.3. A virágfejlődés szabályozása	262
4.4.3.1. A virág felépítése és szervei	262
4.4.3.2. A virágfejlődés ABC modellje	262
4.4.3.3. Az ABC modell kibővítése – az „E” funkció és a kvartett modell.....	264
4.4.3.4. A virág determinált növekedése	264
4.4.3.5. Az ABC modell általános érvényessége	265
4.4.4. A MADS-box transzkripciós faktorok és a virág evolúciója	265
4.4.5. A virágzási idő és a virágfejlődés szabályozásának integrációja.....	266
4.5. Fejezet Szeneszscencia és a növények halála	271
4.5.1. A szeneszscencia fogalma és szintjei	271
4.5.2. Programozott sejthalál	272
4.5.3. Szerv szeneszscencia - a levél öregedése.....	273
4.5.4. Teljes növény szeneszscencia	276

Bevezetés: A növények életének és egyedfejlődésének sajátosságai

Írta: Prof. Dr. Fehér Attila

A növények sok olyan vonással rendelkeznek, ami alapvetően megkülönbözteti őket a többi élőlénytől és ami miatt életmódjuk, egyedfejlődésük is számos egyedi jellegzetességet mutat.

A növények létüket egy endoszimbiogenetikus eseménynek köszönhetik: ősi fotoszintetizáló kékbaktériumokkal endoszimbionta kapcsolatra lépett egysejtű szervezetek lehettek a legősibb képviselőik. A fotoszintézis autotróf életmódot tesz lehetővé: a növények képesek vízből és széndioxidból a nap energiáját felhasználva szerves anyagaikat előállítani. Emellett még ásványi sók, mint tápanyagok felvétele szükséges a számukra. A növények életfenntartásához szükséges fény, víz, széndioxid és ásványi sók a Földön szinte mindenütt megtalálhatóak, így a növények gyakorlatilag az egész bolygót benépesítik. A szükséges környezeti feltételek, a fény, víz, széndioxid és ásványi sók, szinte mindenütt rendelkezésre állnak ugyan, de alacsony dózisban, koncentrációban. Ennek két fontos következménye volt a többsejtűvé váló növények evolúciója során: feleslegessé vált a helyváltogatásuk, amennyiben kellően nagy területre tesznek szert a nem-koncentrált tápanyagok, illetve a fény begyűjtéséhez. A többsejtű növények nagy része helyhez kötött életmódot folytat és két nagy szervrendszert fejleszt: a hajtást, amelynek segítségével a légkörből begyűjtik a széndioxidot és a fényt, és a gyökérzetet, amellyel a talajból felveszik a vizet és az ásványi sókat. Hogy mekkora felületekről van szó, néhány adat: egy 10 méteres lombkorona átmérővel rendelkező fának több tízezer levele lehet, amelyek teljes levélfelülete elérheti az 1000 m²-t; egy rozs növénynek kb. 13-14 millió gyökere van, ezek összes hossza kb. 600 km, felülete kb. 200-250 m².

A helyhez kötött életmódnak természetesen fontos következményei vannak az egyedfejlődésre és az élőlénynek a környezethez való alkalmazkodására tekintettel is. A növények mozgás helyett növekedéssel tudnak több és újabb tápanyagforrásra szert tenni. Másrészt a káros környezeti hatások elől nem tudnak elmenekülni, így folytonosan alkalmazkodniuk kell, az időnként igen gyorsan és drasztikusan, megváltozó feltételekhez. Ezt elsősorban fiziológiájuknak, anyagcseréjüknek és fejlődésüknek gyors megváltoztatásával érik el, amihez rugalmas egyedfejlődési programra van szükségük és a sejtfolyamatok, valamint nagyszámú gén működésének gyors megváltoztatására kell képesnek lenniük. Kiváló alkalmazkodó képességük ellenére elkerülhetetlen, hogy a növényeket károsodások ériék, akár fizikai (tűz, szél, víz stb.), akár biológiai (kórokozók, kártevők) behatások következtében. A növények túlélését ilyen körülmények között moduláris felépítésük és rendkívüli regeneráló képességük biztosítja. A többsejtű növényeknek nincsenek létfontosságú egyedi specializált szervei (agy, szív, tüdő, gyomor stb.). Ha lennének ilyenek, egy kártétel könnyen a növény pusztulásához vezethetne. A növények ehelyett folyamatosan újabb és újabb szerveket (szár, levél, gyökér stb.) hoznak létre, köszönhetően a folytonosan működő szervképző régióknak a merisztémáknak. Mind a hajtás, mind a gyökér ismétlődő moduláris egységekből áll (fitomerek), melyek rendelkeznek nyugvó vagy aktív merisztémákkal. A növény hajtásának vagy gyökérzetének nagy részét elveszítheti, de amíg van legalább egy működő hajtás és gyökér merisztémája szerveit újra képezheti. Ehhez járul a növényeknek az a regenerációs képessége, hogy testi sejtjeik, szöveteik új merisztémákat is létre hozhatnak. In vitro tenyészetben, akár egyetlen növényi testi sejtből is felnevelhetünk egy teljes növényt. Továbbá, növények esetében nem csak a megtermékenyített petesejtből képződhet embrió, hanem testi sejtekből is (szomatikus embriogenezis).

A növények és az állatok egymástól függetlenül léptek a többsejtűvé válás útjára, így a sejtjeik működésének koordinálása is eltérően alakult, számos egyéb mellett. A növényi testi sejtek differenciált állapota nem olyan véglegesen meghatározott, mint az állatok esetében. Mivel a növényi sejtek sejtfallal rendelkeznek, nem képesek helyváltogatásra, szemben számos állati sejtrel. A növényi

sejtek differenciálódását így elsősorban pozíciójuk határozza meg: ha kiszakítunk egy növényi sejtet a környezetéből, elveszíti azokat a hatásokat, melyek ezt a differenciált állapotot fenntartják. Az állati sejtek differenciált állapotát a leszármazásuk (sejtvonal) határozza meg, és az nem változik akkor sem (normális állapotban), ha a szervezetben mozogva más környezetbe kerülnek.

A növények szervképződése kizárólag posztembrionális, szemben az állatok embrionális szervfejlődésével. A kifejlett állatra jellemző szervek már az embrionális fejlődés során kifejlődnek, azaz a kifejlett állati embrió vagy magzat a felnőtt organizmus kicsinyített mása. A növényi embrió ezzel ellentétben nem rendelkezik a kifejlett növényre jellemző szervekkel, csak azokat a szervképző régiókat (merisztémákat) fejleszti ki, melyek a csíranövény fejlődése során, illetve azt követően folyamatosan hozzák létre a vegetatív szerveket. A növényi embrió nem hasonlít a kifejlett növényre, és a növény végső méretét, alakját nagyban befolyásolják az egyedfejlődési program mellett a környezeti tényezők.

A helyhez kötöttség korlátot szab a növények elterjedésének is. Ezt a növények úgy hidalják át, hogy olyan szaporító képleteket (spóra, mag) fejlesztenek, melyek az anyanövénytől különböző élő vagy élettelen közvetítőknek köszönhetően távolra kerülve lehetővé teszik újabb területek meghódítását. A helyhez kötöttség miatt a növények szaporodása is gyakran közvetítőkhöz (szél, víz, állatok) kötött. Ezt elősegítendő a magasabb rendű növények egy speciális szaporító hajtást, virágot, fejlesztenek.

A növények és állatok ivarsejtjeinek képződése is eltér. Az állati ivarsejtvonal az embrionális fejlődés korai szakaszában elkülönül a testi sejtektől, a szómától, így kivonja magát a szomatikus mutációk hatása alól. Állatokban csak az ivarsejtek rendelkeznek haploid kromoszóma szerelvénnyel. A növények esetében két életfázis, egy többsejtű diploid sporofitikus és egy többsejtű haploid gametofitikus váltakozik. A gametofitont a sporofiton hozza létre a növény életének egy késői (reproduktív) szakaszában. Így az ivarsejteket létrehozó gametofitonba átkerülhetnek a sporofitonban kialakult szomatikus mutációk. Bár a káros változások a genetikailag aktív haploid gametofiton pusztulásával kiszűrődnek, a semlegesek/hasznosak növelhetik az utódnemzedék genetikai variabilitását és alkalmazkodó képességét.

Míg az állatok a környezet változásaira aktív mozgással, viselkedéssel reagálnak, addig a növények gyors fiziológiai vagy genetikai változással, illetve fejlődésük, növekedésük lassú megváltoztatásával. Az állatok a környezetüket speciális érzékszerveken keresztül érzékelik és az információt egy erre specializálódott központban, a központi idegrendszerben dolgozzák fel, amely a viselkedési ill. fiziológiai válaszokat is koordinálja. A növényeknek, mint említettük, nincsenek ilyen specializált szervei, és nincs a szervezetet behálózó idegrendszerük. Ezzel szemben maga az egész növény egy érzékelő, információ feldolgozó és végrehajtó hálózat. A növényi sejtek mindegyike érzékeli a környezet változásait, ezekről kémiai közvetítők által informálja a szervezet többi sejtjét, és ezek a kémiai közvetítők felelősek a megfelelő fiziológiai, illetve növekedési, fejlődési válaszok koordinálásáért is. Ezeket a kémiai közvetítőket növényi hormonoknak nevezzük, melyek számos tekintetben eltérnek az állati hormonoktól: nem speciális szervekben termelődnek, nagyon szerteágazók a hatásaik és a célsejtjeik is.

A fentebb leírtak alapján elmondhatjuk, hogy a növények élete „gyökeresen” eltér az állatokétól. Az életük más elvek, más „logika” alapján szerveződik. Ennek megértése speciális ismereteket igényel, amit megpróbáltunk ebben a jegyzetben összefoglalni.

És hogy miért szükséges a növények életének a megértése? A jelenlegi földi bioszférát jelentős mértékben a növények alakították és tartják fenn. Ők adják a Földön fellelhető biomassza túlnyomó részét (a növények biomasszája az állatokénak 150-szerese). Nagyrészt nekik köszönhetjük a légköri oxigént, a széndioxid szint mérséklését, a változatos élőhelyeket és az állatok, valamint az emberiség

táplálékának jelentős hányadát, fosszilis üzemanyagainkat és a megújulók egy részét, valamint a környezetbarát, lebomló ipari alapanyagokat. Ha korunk civilizációjának legfőbb problémáit tekintjük, megállapíthatjuk, hogy ezek megoldásában is a növények jelentős szerepet játszhatnak (1. táblázat).

MIVEL VAN PROBLÉMÁNK?	MIT ADNAK NEKÜNK A NÖVÉNYEK?
Légszennyezés, ózonlyuk	Tiszta levegő Oxigén és szennyeződések megkötése 1 fa annyi oxigént termel évente, amennyit négy ember lélegez be és évente 27 kg szennyező anyagot köt meg a levegőből
Éhínség (migráció)	Táplálék (élelmiszer, takarmány) A növények állítják elő minden tápanyagunkat! Kb. 80 000 ehető növény él a Földön, de táplálékunk 90%-a mindössze 30 fajból származik
Klíímaváltozás, felmelegedés	Klíma 1 fa 22 kg CO ₂ -t köt meg évente (egy hektár erdő annyi CO ₂ -t köt meg amit egy autó 100 000 km megtétele alatt bocsájt ki). Egy ember 2,3 t CO ₂ -t generál évente.
Energiabiztonság	Energia (fosszilis, megújuló) 1 millió év alatt képződött fosszilis energiát égetünk el egyetlen év alatt
Környezetszennyezés	Ipari alapanyag (fa, papír, pamut, gumi stb.)
Civilizációs betegségek	Egészség Kb. 70 000 növényről ismert, hogy gyógyhatású az esőerdőben élő növényeknek csak egy százalékát vizsgálták ilyen szempontból, a leggyakrabban használt 100 gyógyszer felének a hatóanyaga növényi eredetű.

1. Táblázat Napjaink emberiséget érintő problémái és a növények jelentősége a lehetséges megoldásokban.

A növények életét a jegyzetben négy különálló, egymásra épülő részben tekintjük át. Az első részben a növények anyagcseréjével foglalkozunk, a növények élete szempontjából rendkívül fontos vízháztartással, az ásványi anyagok felvételével, a tápanyagok rövid és hosszútávú szállításával, valamint a fotoszintézissel. A második részben a növényi genom szerveződésével és működésével, és a növények fejlődését befolyásoló sejtszintű folyamatokkal ismerkedtetjük meg az olvasót. A harmadik részben a növények fejlődését és életfolyamatait koordináló kémiai anyagokról, a hormonokról lesz szó általánosságban és egyedileg jellemezve azokat, míg a negyedik részleteiben mutatja be a növények egyedfejlődésének legfontosabb szakaszait a megtermékenyítéstől a növények haláláig.

A jegyzet célja a klasszikus fiziológiai és a modern molekuláris növénybiológiai ismeretek összefoglalása magyar nyelven és egy átfogó kép kialakítása a növények életéről, fejlődéséről. Az ismeretanyag elsajátítása révén a hallgatónak nem csak a tudása bővül, de képességeik, hozzáállásuk és felelősségük is megváltozik a növények és a növénytudományok vonatkozásában az alábbi táblázatban részletezett módon:

A jegyzet elkészítésével a következő konkrét tanulási eredmények kialakítása volt a cél:

Tudás	Képesség	Attitűd	Autonómia/felelősség
Ismeri a növények jellegzetes vonásait a molekuláris, a celluláris, a fiziológiai és az egyedfejlődési szinteken.	Képes a modern növényélettan ismeretköreit, alapfogalmait és terminológiáját helyesen használni.	Nyitott a növények megismerése felé.	Szakmai és nem szakmai körökben önállóan nyilvánít véleményt a növények alapvető szerepéről a jelenlegi földi bioszféra kialakításában és fenntartásában.
Tudja a növények helyhez kötött életmódja, egyedfejlődése, valamint fiziológiai működése közötti összefüggéseket.	Képes elemezni a növények és állatok egyedfejlődési és alkalmazkodási stratégiája közötti különbségeket.	Nem tekinti a növényeket alacsonyabbrendűnek az állatoknál.	Mások figyelmét is felkelti a növények iránt, rávilágítva azok életstratégiájának egyediségére és sikerességére.
Ismeri a legfontosabb növényi növekedés szabályozókat és azok szerepét az egyedfejlődésben és a környezethez való alkalmazkodásban.	Képes felhasználni a megszerzett ismereteket a növényekkel kapcsolatos tudományos kutatásban és új tudományos eredmények létrehozásában	Érdeklődik a növények életfolyamatainak mélyebb megértése iránt.	Szakmai körökben önállóan nyilvánít véleményt növények életműködésének, egyedfejlődésének és környezeti alkalmazkodásának kérdéseiben.
Ismeri a növénytudományok fontosságát napjaink égető természeti és civilizációs problémáinak megoldásában.	Képes ismereteit bővíteni növényvédelmi, növénynemesítési, növény nevelési (termesztési) ismeretekkel.	Nyitott az alkalmazott növénytudományok megismerése irányában.	Felhívja környezetét figyelmét a növények jelentőségére a mindennapi életben. Szakmai és nem-szakmai körökben önállóan érvel a növénytudományok fontossága mellett.

1. rész A növények vízháztartása és táplálkozása

A növények táplálkozása alapján véve nagyon egyszerű: a napsugárzás energiájának egy részét elnyelve a légkörből felvett széndioxidból és a talajból felvett vízből szénhidrátokat szintetizálnak. A szénhidrátok energia raktárként/forrásként, valamint a többi szerves vegyület vázaként szolgálnak, amihez egyéb kémiai elemek, elsősorban nitrogén, foszfor, kén szükségesek, illetve az életfolyamatokhoz további ásványi sók szükségesek, melyeket a növény szintén nagyjából a talajból vesz fel a vízzel együtt. A víz a növények számára rendkívül fontos. Nemcsak, mint oldószer és a biokémiai reakciók jelentős részének közege, hanem mint a növényi sejtek/szövetek szilárdságához hozzájáruló anyag, nem utolsósorban pedig tápanyag és szállító közeg. Éppen ezért a növények vízháztartása és a vízben oldott anyagok forgalma rendkívül fontos a növények élete szempontjából.

A növények legközismertebb jellegzetessége a fotoszintézisre való képességük. Az oxidatív fotoszintézis megjelenése a földtörténet során alapvetően változtatta meg a Föld arcát és az élővilág evolúcióját az oxigénnek a légkörben, a szerves anyagoknak pedig a felszínen és a vizekben való feldúsulásán keresztül. A jelenlegi földi élete szempontjából minden túlzás nélkül állíthatjuk, hogy ez a legfontosabb biofizikai/biokémiai folyamat, amelynek a komplexitása, szervezettsége, és hatékonysága lenyűgöző.

Az első részben ezeket a növények életét befolyásoló alapvető anyagcsere folyamatokat tekintjük át.

1.1. Fejezet A növények vízháztartása.

Írta: Dr. Pécsváradi Attila

Tanulási célkitűzések:

Tudás

- ismerje a víz fizikai kémiai tulajdonságait
- tudja hogyan történik a víz tömegáramlása és diffúziója
- ismerje a vízpotenciál fogalmát és komponenseit
- ismerje az aquaporinokat
- ismerje az apoplaszt és szimplaszt fogalmát
- ismerje a sztóma nyitás, zárás mechanizmusát
- tudja magyarázni a víz talajoldatból induló hosszútávú szállítását a xilémbe
- tudja magyarázni a floém feltöltési, anyagleadási folyamatait, a pozitív nyomásgradiens kialakulását

Képesség

- képes felismerni a növények vízháztartásának zavarait és megoldást javasolni azok megszüntetésére

Attitűd

- szemléletében hangsúlyozottan fontossá válik a víznek a földi bioszférában betöltött szerepe

Autonómia/felelősség

- a víz növényekben betöltött szerepének megismerése a környezettudatosságát fokozó tényezővé válik

1.1.1. A víz különleges tulajdonságai

A víz, H_2O . A hidrogén-oxigén kötések kb. 105° -os szöget zárnak be, a molekulának jelentős dipólusmomentuma van (1,85 D), a töltések súlypontja nem esik egybe. A két H pozitív töltésű, az O

két magányos elektronpárja két negatív töltést hordoz, összességében a molekula semleges. Ez a négy aszimmetrikus töltés az oka annak, hogy a molekula 4 kisenergiájú hidrogénkötést tud létesíteni (kb. 20 kJ mol⁻¹). A vízmolekulák a folyadékban is viszonylag rendezetten helyezkednek el, rövid életű, folyton átrendeződő rajokká kapcsolódnak. Ez a rendezettség válik tökéletessé a szilárd víz, a jég tetraéderez szerkezetében. A víz olvadási- és fagyáspontja magas, ez szintén a hidrogénkötéseknek tulajdonítható. Hasonlítsuk össze hasonló tömegű hidridekkel, 1.1.1. ábra.

Vegyület	Képlet	Molekula tömeg	Olvadáspont (°C)	Forráspont (°C)
Metán	CH ₄	16	-184	-161
Ammónia	NH ₃	17	-78	-33
Víz	H ₂ O	18	0	100
Hidrogén-fluorid	HF	20	-92	19
Hidrogén-szulfid	H ₂ S	34	-86	-61

1.1.1. ábra. A víz és néhány hasonló tömegű hidrid néhány fizikai állandója.

További következmény a magas fajhő (4,18 J g⁻¹), a magas olvadási hő (334 J g⁻¹). Azzal az energiával, amivel a 0°C-os jeget 0°C-os vízzé tudjuk alakítani, a folyékony vizet 80°C hőmérsékletűre lehetne melegíteni. A víz párolgáshője nagy (2462 J g⁻¹), az elpárolgó molekulák hatékonyan hűtik a felületet.

A víz sűrűsége változik a hőmérséklettel, 4°C-on maximális (1,0000 kg dm⁻³ (4°C), 0,9991 kg dm⁻³ (15°C), 0,99991 kg dm⁻³ (0°C)). A jég térfogata a fagyáskor megnő, (9%), úszik a vízen. Ökológiai szempontból mindez nagy jelentőségű.

A víz kitűnő oldószer, mert a dielektromos állandója magas (80), azaz kitűnő szigetelő. Mivel orientálódik elektromos töltésű felületeken, burokként képes körülvenni különféle molekulákat, és a töltéseiket ily módon elszigetelni. A fehérjék vízburokát eltávolítva azok saját töltései egymással lépnek kapcsolatba, kicsapódnak (1).

A víz molekulái egymással kapcsolódnak, ez a kohézió, más molekulákkal létrejött fizikai kapcsolata az adhézió. A víz felületi feszültsége nagy, ennek a kapillaritás mértékében van jelentősége.

1.1.2. A víz mozgása

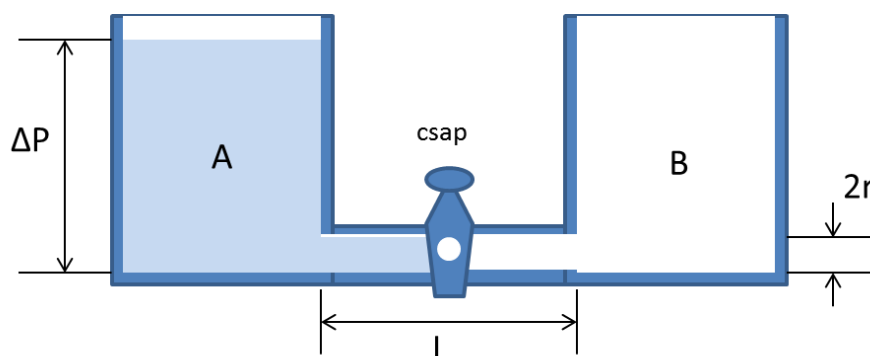
1.1.2.1. A tömegáramlás

Az anyagok akkor mozognak spontán egy fizikai rendszerben, ha energiatartalmuk ezáltal csökken, ill. entrópiájuk, vagyis a rendszer rendezetlensége nő. A víz a nehézségi erő hatására folyik lefelé, eközben helyzeti energiája kinetikai energiává alakul át. Az ilyen, oldott anyagokat és lebegő részecskéket is magával ragadó mozgást tömegáramlásnak nevezzük.

A 1.1.2. ábrán az A edényből a csap nyitásával az L hosszúságú, r sugarú csövön a folyadék a B edénybe jut ΔP hidrosztatikus nyomás hatására. A dv/dt áramlási sebesség a Poiseuille-egyenlettel írható le, a viszkozitás (η) figyelembevételével:

$$\frac{dv}{dt} = \frac{\Delta P \pi r^4}{8\eta L}$$

Lényeges, hogy az áramlás sebessége a sugár negyedik hatványával arányos, azaz a sugár (r) csekély növelése is nagymértékű áramlásnövekedéshez vezet (1).



1.1.2. ábra. Tömegáramlás. Magyarázat a szövegben. (Pécsváradi Attila ábrája)

1.1.2.2. A diffúzió

A tömegáramlástól eltérően a diffúzió az egyes részecskék rendszertelen, spontán mozgását jelenti. A víz és az oldott anyagok szabad diffúziója akkor következik be, amikor az energiatartalomban (=kémiai potenciál) különbség áll fenn a rendszer egyik és másik részében levő komponensek között. Az egyik helyen nagyobb koncentrációban előforduló anyagnak rendszerint nagyobb a kémiai potenciálja, és ezért arrafelé diffundál, ahol a koncentráció kisebb (kémiai potenciál=moláris szabadenergia). Eszerint, amikor egy kockacukor vízben oldódik, a cukordarabokból, ahol nagy a koncentráció, a cukormolekulák szabad diffúziója indul meg az oldat hígabb részeibe, és ugyanakkor a vízmolekulák diffundálnak a vízből a cukorba. Az egyensúlyi állapot akkor áll be, amikor a vízmolekulák és az oldott anyag molekulái egyenletesen oszlanak el az oldatban.

$$\frac{dn}{dt} = -Da \frac{dc}{dx} \quad \text{ill. leosztva } a \text{ felülettel:} \quad J_i = -D \frac{dc}{dx}$$

A folyamat sebességét a Fick-törvény írja le, ahol dn az a felületen dt idő alatt áthaladó molekulák száma, míg a dc a dx távolságon mérhető kémiai potenciálkülönbség. A D a diffúziós együttható, mely anyagonként változik, a negatív előjel azt mutatja, hogy az anyag a nagyobb koncentráció felől a kisebb irányába vándorol (1).

A diffundáló részecske sebessége is kiszámítható.

$$V = \sqrt{\frac{8RT}{\pi M}}$$

ahol V a részecske sebessége (m s^{-1}), R a gázállandó ($8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$), T az abszolút hőmérséklet (K), M a molekula tömege (kg).

1.1.3. A vízpotenciál

1.1.3.1. A növényi sejtek vízviszonyainak jellemzésére használt paraméterek. A vízpotenciál és komponensei

A vizes rendszereket, így a növényi sejtek vízviszonyait is, a kémiai potenciálból származtatott paraméterrel, a vízpotenciállal jellemezhetjük. Jelei a görög pszi: ψ , mértékegysége Pa (Pascal).

A vízpotenciál definíciója: a víznek (oldatnak) egy rendszer bármely pontján és a tiszta víznek ugyanolyan hőmérsékleten és légköri nyomáson mérhető kémiai potenciál különbségét (osztva a parciális molális térfogattal) vízpotenciálnak (ψ_w) nevezzük.

Képlettel:

$$\psi_w = \frac{\mu_w - \mu_w^0}{\bar{V}_w}$$

A tiszta víz vízpotenciálját 25°C-on, 0,1 MPa nyomáson önkényesen 0-nak tekintjük.

Membránok áteresztő képessége, a permeabilitás a permeabilitási együtthatóval (K) jellemezhető, hasonlóan a D diffúziós együtthatóhoz. A víz esetében ezt hidraulikus vezetőképességnek (konduktivitásnak) nevezzük, jele: L_p .

$$\frac{dv}{dt} = -L_p a d\psi \quad \text{ill. leosztva } a \text{ felülettel: } J_i = -L_p d\psi$$

Ezen a vízpotenciál adott grádiense mellett a molekulák által egységnyi idő alatt megtett távolságot értjük.

Egy rendszerben, ahol az oldott anyag mennyisége, a nyomás, a hőmérséklet változhat, ill. a rendszer mérete miatt a gravitáció keltette helyzeti energiát is figyelembe kell venni, a „j” anyag kémiai potenciálja az alábbi módon adható meg:

$$\mu_j = \mu_j^0 + RT \ln a_j + P\bar{V}_j + FEz_j + ghm_j$$

↑ konstans referencia
↑ koncentráció tag
↑ nyomás (= $n_j RT$)
↑ elektromos komponens
↑ gravitációs tag

R = gázállandó
 T = abszolút hőmérséklet
 a_j = az j anyag relatív aktivitása
 P = nyomás
 V = parciális molális térfogat
 n_j = mólok száma

F = Faraday állandó
 E = feszültség
 z_j = j töltése
 g = gravitációs állandó
 h = magasság
 m_j = j 1 móljának tömege

A víz kémiai potenciálja, $j=w$ (víz) és $z_w=0$ (töltés), π az ozmózis nyomás, ρ a sűrűség:

$$\mu_w = \mu_w^0 + RT \ln N_w + P\bar{V}_w + ghm_w$$

$$RT \ln N_w \approx RT \sum_i c_i \bar{V}_w \quad \text{és} \quad \pi \approx RT \sum_i c_i$$

$$RT \ln N_w \approx \pi \bar{V}_w \quad \text{és} \quad m = \rho \bar{V}_w$$

$$\mu_w = \mu_w^0 - \pi \bar{V}_w + P\bar{V}_w + gh\rho_w \bar{V}_w$$

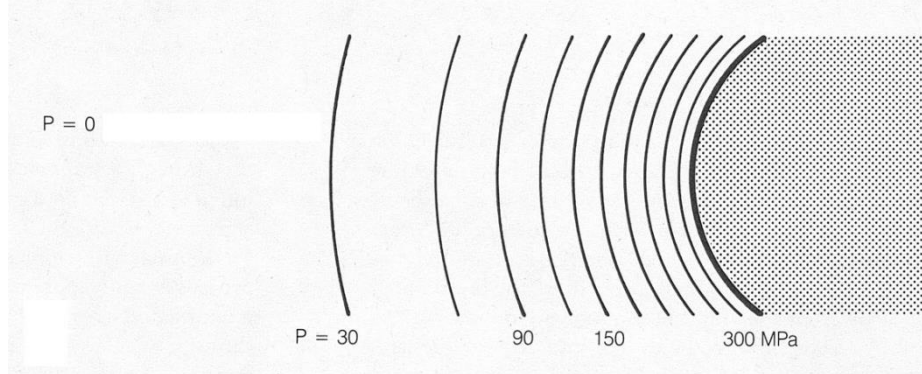
vagy

$$\psi = \frac{\mu_w - \mu_w^0}{\bar{V}_w} = P - \pi + gh\rho_w$$

Ez utóbbi egyenletet potenciálokként definiálva:

$$\psi_{sejt} = \psi_p + \psi_\pi + \psi_g$$

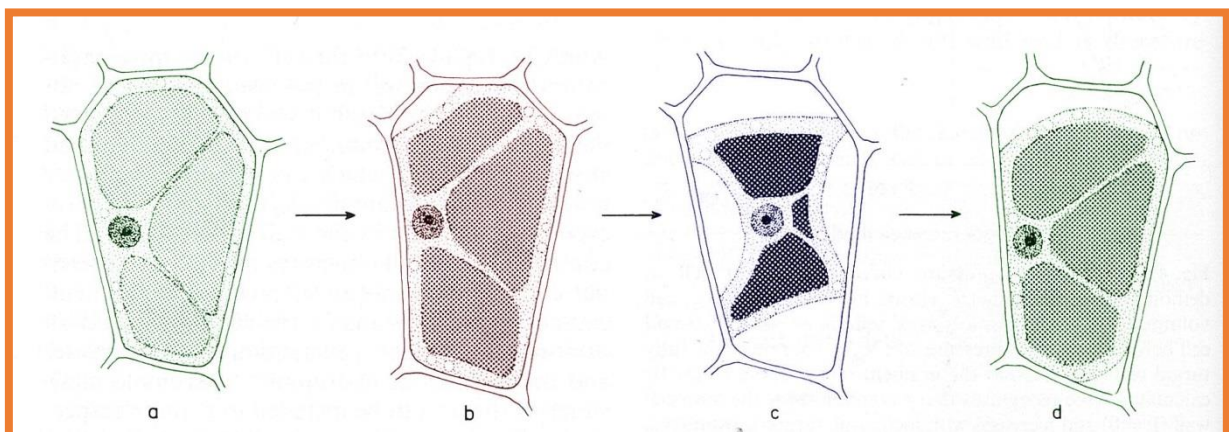
ahol, ψ_{sejt} = vízpoteenciál (MPa), általában negatív érték, ψ_p = falnyomás poteenciál, vagy turgor, pozitív érték, ψ_π = ozmózisos poteenciál, negatív érték, az ozmózisos nyomás (π) ellentettje, a ψ_g = gravitációs poteenciál pozitív érték. Száraz rendszerek esetén figyelembe vesszük a ψ_τ = mátrix poteenciált, mely negatív érték. A mátrixok hidrofil, töltéssel rendelkező, kolloid (makromolekulák), vagy makroszkopikus struktúrák (talajrészecskék, magvak), melyek vízburokot rendeznek maguk köré, ezzel csökkentve a szabad vízmolekulák számát (2). A vízzel jól ellátott, kiépült vízburokokkal bíró rendszerekben a mátrix poteenciál értéke nulla (1.1.3. ábra).



1.1.3. ábra. A mátrix poteenciál változása a vízburok kiépülésével (3, a kiadó engedélyével).

A ψ_{sejt} (alternatív jele: ψ_w , ψ_v) általában negatív érték, vízzel optimálisan ellátott rendszerben 0. Komponense a ψ_p = falnyomás poteenciál, pozitív érték, ami azáltal is változhat, csökkenhet, ha a sejtfal rugalmasságát növeljük. Sejtmegnyúlásnál az auxin okozta sejtfal lazulás csökkenti a ψ_p -t, így teszi negatívabbá a sejt eredő vízpoteenciálját, lehetővé téve a térfogatnöveléshez szükséges vízfelvételt. ψ_π = ozmózisos poteenciál (alternatív jele: ψ_s), negatív érték, az ozmózisos nyomás (π) ellentettje. A sejtek aktívan szabályozzák ezt, az aktív anyagfelvétellel, ill. molekulák szintézisével csökkentik, kifelé irányuló anyagtranszporttal növelik ezt az értéket.

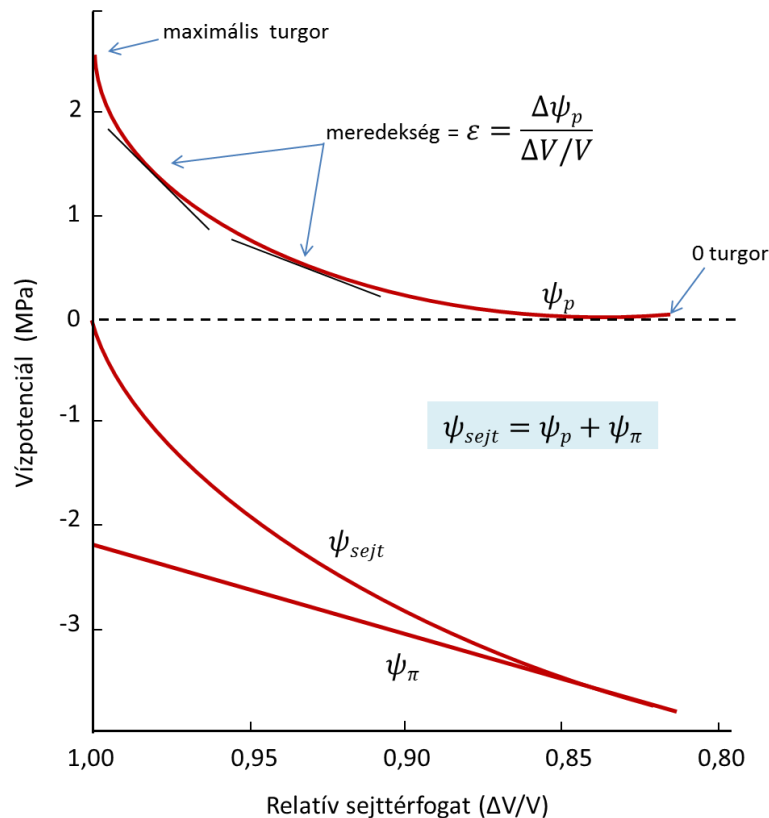
Határplazmolízis (1.1.4. ábra) következik be, ha a $\psi_p = 0$, a plazmamembrán nem nyomja a sejtfalat. Ez az állapot lehetővé teszi a ψ_π meghatározását. $\psi_{\text{sejt}} = \psi_\pi$, mert $\psi_\tau = 0$.



1.1.4. ábra. A sejtek plazmolízise. A sejt vízpoteenciáljánál alacsonyabb ozmotikus poteenciálú oldatba helyezve a sejtet vizet veszít. Magasabb ozmotikus poteenciálú oldatba áthelyezve ezután a sejt vizet vesz fel. A **b** a határplazmolízis (7, a kiadó engedélyével).

A sejtek kompatibilis ozmotikumokkal is alkalmazkodhatnak a vízvesztéshez, mérsékelve annak káros hatását. A kompatibilis ozmotikumok nemcsak a ψ_π csökkentéséhez járulnak hozzá, de a hidrátburokhoz hasonlóan védik a fehérjék, membránok szerkezetét is. Ilyen ozmotikumok a glicinbetain, prolin és a cukoralkoholok közül a szorbitol, mannitol (1).

A Höfler-diagram 1.1.5. ábra, grafikusán ábrázolja a sejt vízpotenciáljának (ψ_{sejt}), és komponenseinek (ψ_p , ψ_π) változását a relatív sejttérfogat függvényében.



1.1.5. ábra. A Höfler-diagram. (3, a kiadó engedélyével)

A ψ_p görbe meredeksége jelzi a sejtfal rigiditását: meredekebb szilárdabb, a kevésbé meredek rugalmasabb. Ez az elasztikus modulus, jele ϵ (epszilon).

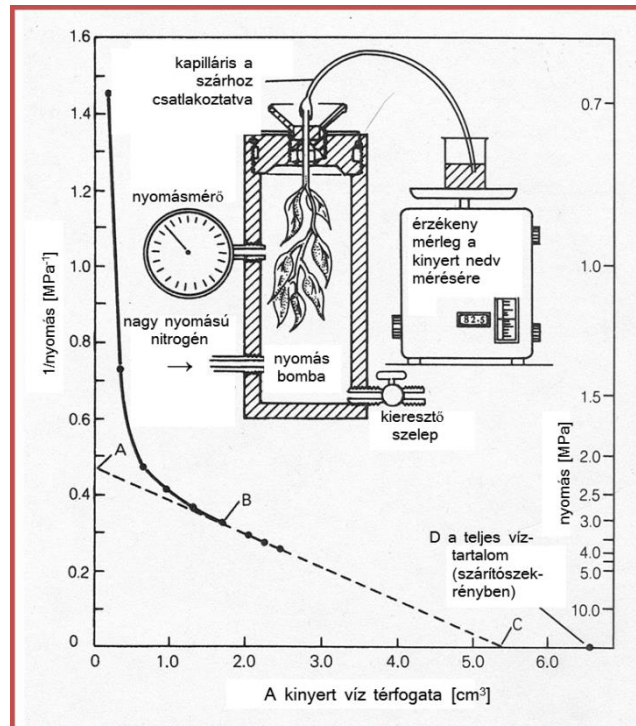
1.1.3.2. A növényi sejtek vízpotenciáljának meghatározása

A sejtek vízpotenciálját, annak komponenseit számos módon meg lehet határozni. Egy szövet vízpotenciálja meghatározható volumetrikus, gravimetriás módszerrel. Ezek lényege, hogy a növényi részt ismert potenciálú oldatba helyezzük, és mérjük a szövet vagy az oldat vízfelvételét/leadását.

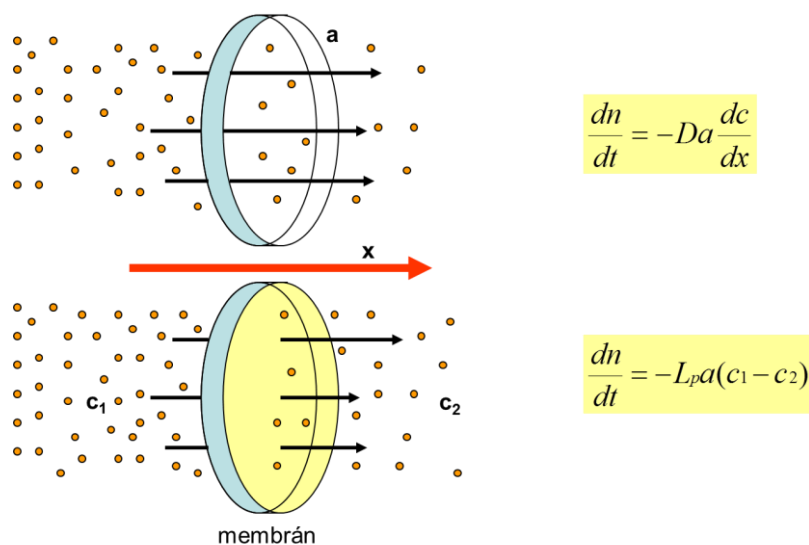
Az ozmotikus potenciált az oldat kolligatív sajátságainak mérésével (fagyáspont csökkenés, gőznyomás, ozmotikus nyomás) határozhatjuk meg. A Scholander-féle nyomáskamrában növényi részek, pl. levél, hajtás vízpotenciálját, komponenseit határozhatjuk meg. Az objektumot a kamrába helyezzük, úgy hogy a belőle kiáramló folyadékot mérhessük. Nitrogén gáz nyomását fokozatosan növelve felvesszünk egy görbét, ahol az X tengely a kinyert folyadék térfogata (vagy %-a), az Y tengely a gáznyomás reciproka (1.1.6. ábra) (3).

1.1.4. A sejtmembrán vízvezető képessége, az aquaporinok

Ha összehasonlítjuk a vízmolekulák diffúzióját szabad térben, ill. a (sejt)membránon át azt tapasztalhatjuk, hogy a diffúziós együttható (D) és a hidraulikus konduktivitás (L_p) értéke nem egyenlő, $L_p > D$, de pl. Hg-t tartalmazó szerrel kezelve megegyezhet (1.1.7. ábra). A reflexiós koefficiens (σ =szigma) magas értéke a szelektivitást jelzi. Ha $\sigma=1$, csak a víz permeál, ha $\sigma=0$, akkor a membrán nem szelektív. Mindez arra mutat, hogy a sejtmembránban a víz transzportját valamely ismeretlen komponens facilitálja. Ez a kísérleti eredmény vezetett a vízszállító csatornák, aquaporinok felfedezéséhez (2).

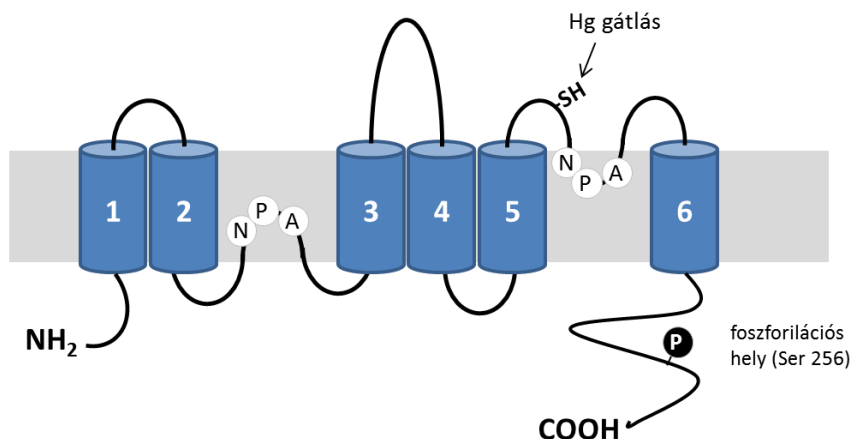


1.1.6. ábra. A Scholander-féle nyomáskamra. A görbéről leolvasható paraméterek: A = ψ_π optimális víztelítettségénél; B = a „turgorvesztés pontja”, határplazmolízis, ozmotikus potenciál; C = a hidratált szövet szabad víztartalma; D = a teljes szöveti víztartalom (3, a kiadó engedélyével).

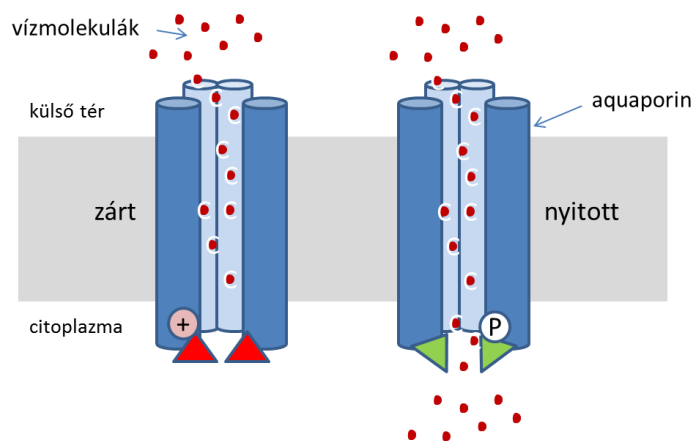


1.1.7. ábra. Diffúzió szabad térben és membránon át. (Pécsvárad Attila ábrája)

Az aquaporinok transzporterek, csatornák. Tömegük 27-31 kDa, 6 hidrofób transzmembrán domén és két funkcionális hurok alkotja a szerkezetüket (1.1.8. ábra). Ebben a két hurokban az aszparagin-prolin-alanin (NPA) motívum erősen konzervált. A vízmolekula keresztülhaladásakor az O és aszparagin közti kölcsönhatás úgy orientálja a 2 H atomot, hogy megakadályozza a H-kötések kialakulását a szomszédos vízmolekulák között, ezáltal protonok átvitele korlátozott ebben a régióban. Ionokra vonatkoztatva, a pórusok térbeli korlátozottsága létrehoz egy dielektromos gátat, ami eltaszítja az ionokat, a csatorna nagymértékben szelektív. Az AQP1 tetramerikus formájú, in vitro növényi aggregátumokban oligomerek lehetnek. Szabályozhatók, nyithatók, zárhatók (1.1.9. ábra).



1.1.8. ábra. Az aquaporinok szerkezete. A 6 transzmembrán hidrofób hélixet számok jelzik. Az 5-6 közötti hurok közelében levő cisztein tiol csoportja a Hg-gátlhatóság helye. A C-terminális szakaszon van a foszforilációs helyként működő szerin. (Pécsvári Attila ábrája)

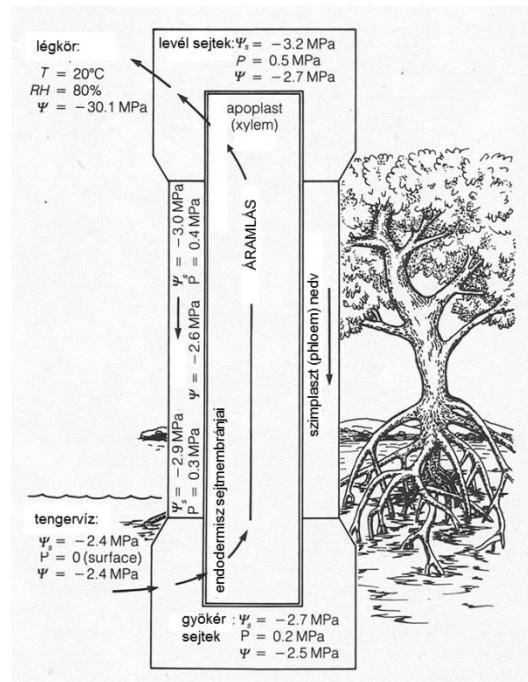


1.1.9. ábra. Az aquaporinok nyitásának-zárásának szabályozása. Nyitva: Ser-P, His. Zárva: Ser, His-H⁺. (Pécsvári Attila ábrája)

Az aquaporinok aktivitása csökken túlzott vízvesztés hatására, és csökken a víz permeabilitása. Azonban vízstressz hatására génexpresszió is történhet (ez a szárazságtűrésben játszhat szerepet). Biotikus és abiotikus stresszorok, környezeti változások, patogének okozta károk összefüggésbe hozhatók az aquaporinok aktivációjával és inaktivációjával. Gabonafélék gyökerében sóstresszre drámai változások történnek: ozmotikus gradiens erősen csökkent, az aquaporinok záródtak a víz deficitre válaszolva (2).

1.1.5. A víz útja a növényben

A vízmozgás iránya a vízpotenciál grádiens irányától függ. A növény gyökere a talajoldattal érintkezik, ha a gyökérsejt vízpotenciálja negatívabb, mint a talajoldaté, akkor megtörténik a vízfelvétel. Az egész növényre jellemző ez a grádiens: a hajtás legmagasabban levő levelének a vízpotenciálja a legalacsonyabb. A növény sejtjei aktívan alakítják vízpotenciáljukat, leginkább az ozmotikus potenciáljuk változtatásával. Ennek fontos eleme az aktív, szelektív anyag (ion) transzport a sejtmembránon át. A légkör relatív páratartalma is fontos befolyásoló tényező (1.1.10. ábra) (3).



1.1.10. ábra. A hajtásba irányuló vízzállítást a vízpotenciál grádiens tartja fenn (3, a kiadó engedélyével).

1.1.5.1. Az apoplasztikus és szimlasztikus transzport

Az apoplaszt a sejtfaalak összefüggő rendszere. A sejtfaalak fibrilláris szerkezete hidrofil csatornákat biztosít a vizes oldatok számára. Ebben a mikroszkópikus rendszerben a csatornák kb. 5 nm méretűek, az ennél kisebb részecskék mozgását nem akadályozzák. Fehérjék, vírusok, baktériumok elmozdulását azonban gátolja. A sejtek a körülöttük levő sejtfaalak rendszerből, az apoplasztból vehetnek fel, és adhatnak le anyagokat.

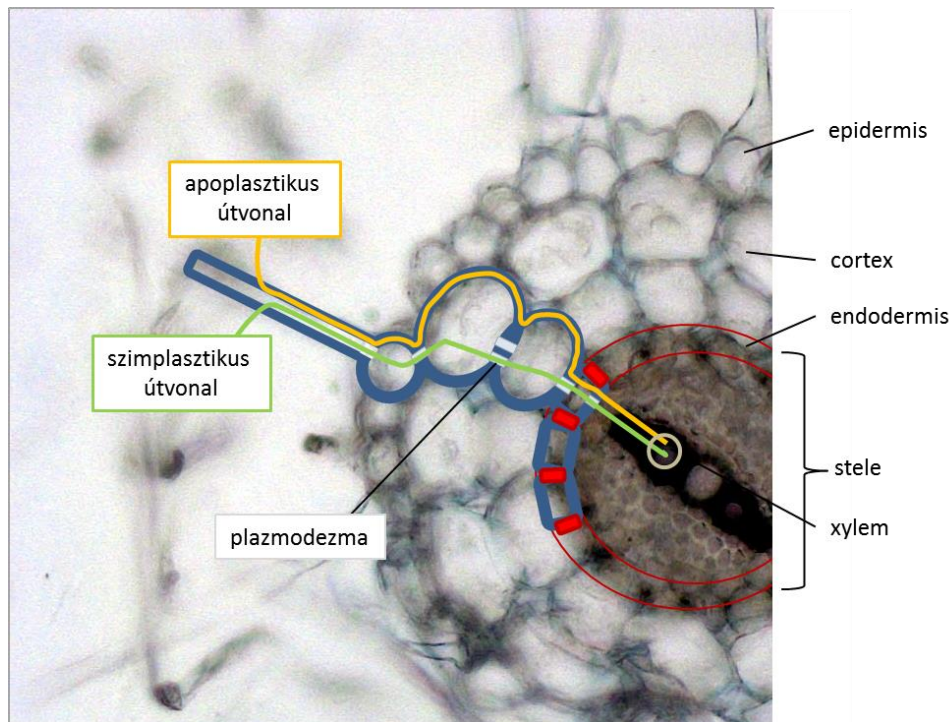
A szimlaszt a citoplazmák összefüggő rendszere. A növényi sejtek plazmodezmákkal kapcsolódnak szomszédjaikkal. A plazmodezmákon áthaladó citoplazma jelenti ezt az útvonalat. A szimlasztba való belépéshez legalább egyszer kereszteznie kell a plazmamembránt az anyagnak, ez a lépés nagymértékben szelektív lehet, mert a membrántranszporterek (csatornák, hordozók, pumpák) szelektívek.

1.1.5.2. Vízfelvétel a gyökérzónában

A talajoldatból a víz az aquaporinokon át beléphet a vele érintkező sejtbe, és a szimlasztikus útvonalon közvetlenül egészen a sztéle (központi henger) vízzállító elemeihez érhet. Hajtóereje a vízpotenciál grádiens. Az apoplaszt a sztéle külső sejt soráig, a Caspary csíkos endodermiszig nyitott. Az endodermisz transzverzális és radiális falai szuberinizáltak, az apoplaszt útvonal itt lezárul, a víz és más anyagok transzportja csak a sejtmembránon át valósulhat meg. Ez szelektivitást jelent. A szimlasztikus útra vált át a víz mozgása, de az endodermisz után ismét kiléphet a xilém apoplasztjába (1.1.11. ábra).

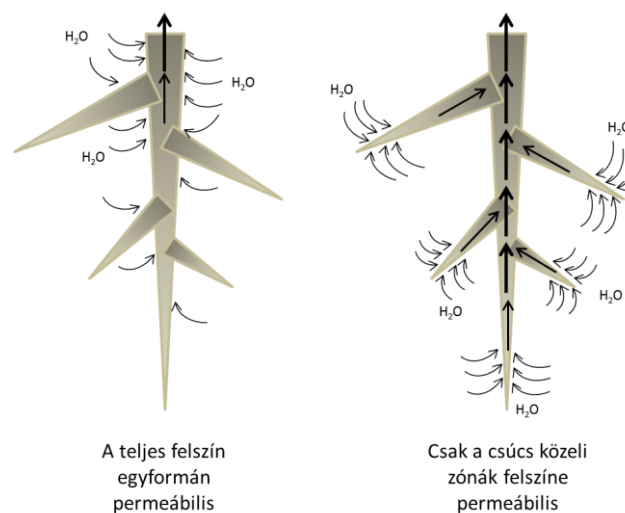
A sztéle sejtjei aktív anyag (ion) felvétellel a talajoldaténál alacsonyabb vízpotenciált tartanak fenn, ami folyamatossá teszi a vízfelvételt. Mivel a sztéle apoplasztja lefelé és oldalirányban zárt, a víz (oldat) áramlás a xilémbe felfelé indul el. A gyökér-hajtás határon átmetszve a növényt xilém nedv cseppek

áramlanak ki a gyökér vágásfelületéről, nyomásuk meghaladja a 0,1 MPa-t; ez az ún. gyökérnyomás. A xilém pályában a hajtás magasabban futó szakaszaiban már a nyomás negatív, a levelek felől ébredő szívóerő mozgatja a híg vizes oldatot, a xilém nedvet.



1.1.11. ábra. A víz útja az apoplasztban és a szimplasztban a központi hengerig a gyökérben. (Pécsváradi Attila ábrája)

A gyökerek csak a fiatal gyökérágakon képesek vízfelvételre, az idősebb gyökérágak felülete vízzáróvá alakul. Ez képes biztosítani a gyökércsúcs és gyökéralap között kialakuló vízpotenciál grádiens. Csak így lehetséges a mélyebbre nyúló gyökerek működése (1.1.12. ábra).



1.1.12. ábra. Gyökérzónák vízfelvétele, ha a felület minden pontja átjárható a víz számára (balra), vagy az idősebb gyökérágak felülete vízzáróvá válik (jobbra). A gyökérszálak hidraulikus konduktivitása a fiatal részeken nagyobb. (Pécsváradi Attila ábrája)

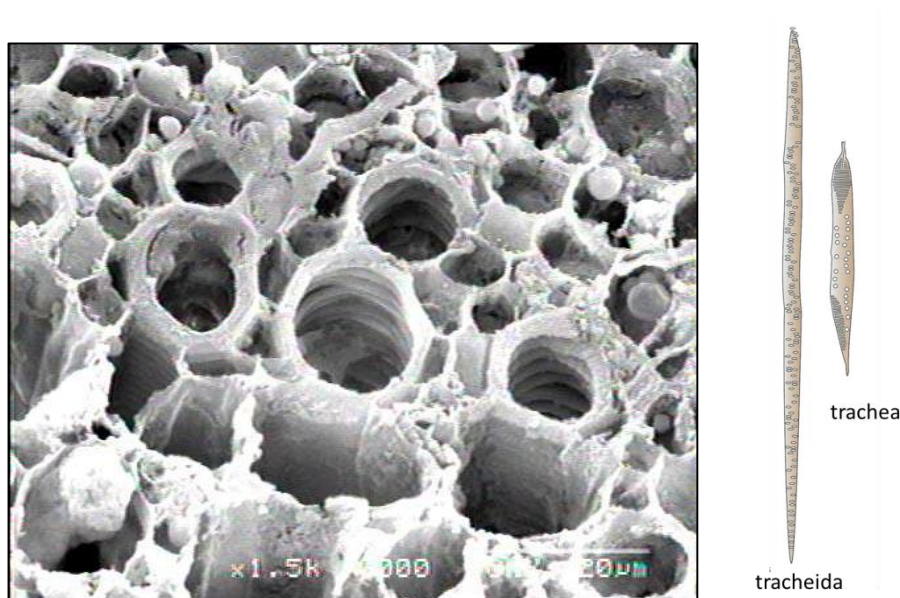
A növények jelentős mennyiségű vizet használnak fel életük során. Ennek mintegy 98%-át elpárologtatják (transzspiráció), a maradék 2% a növényi test víztartalma, és ebből kb. 0,2% kémiai reakciókban, a fotoszintézis vízbontó folyamatában fogy el (13. ábra).

Egyes kulturnövények transzspirációs együtthatója			
Köles	277	Zab	583
Kukorica	349	Tavaszi rozs	634
Cukorrépa	443	Vöröshere	698
Tavaszi búza	491	Len	783
Árpa	527	Lucerna	844
Burgonya	575		

1.1.13. ábra. Termesztett növények transzspirációs együtthatója. Ez az 1 kg szárazanyag létrehozásához szükséges vízmennyiség, literben mérve (1).

1.1.5.3. A víz útja a xilémben

A gyökerek által felvett víz a xilém hosszú távú, apoplastikus pályáján éri el a növény csúcsát, a leveleket. A xilém vízszállító elemei a tracheidák és a tracheák (1.1.14. ábra).



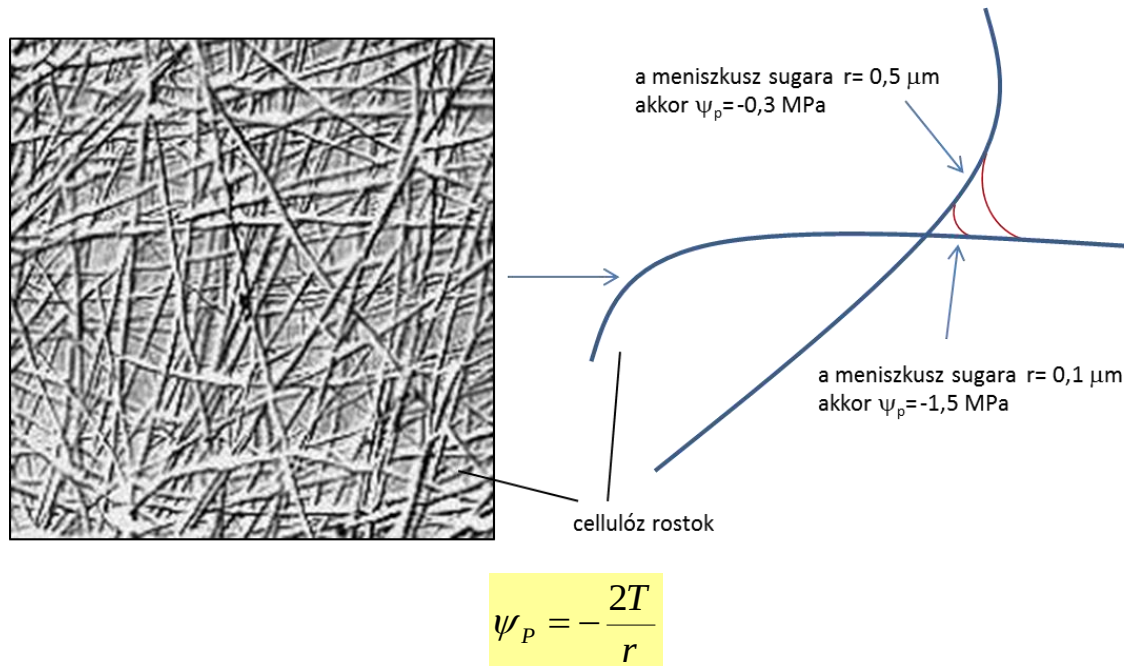
1.1.14. ábra. Vízszállító elemek a xilémben. A tracheidák átmérője 10-25 μm , a tracheáké 40-80 μm . (Pécsváradi Attila ábrája)

Ezek a vízszállító csövek az apoplast részei, elhalt, de kialakulásuktól kezdve mindvégig folyadékkal teltek. A pályát alkotó sejtek sejtfa másodlagosan megvastagodik, hogy ellenálljon a tenzió (negatív nyomás) összeroppantó hatásának. Az autofág folyamat végén a trachea, tracheida sejtek elvesztik sejtalkotóikat, membránjukat, vízszállító pályákká alakulnak. Ez a vízoszlop akár 100 m magas is lehet a víz kohézió és adhézió sajátosságai miatt. A vízoszlop szakítószilárdsága nagy, 30 MPa. A végtelen sokaságú tartópontot a mikroszkópikus rostok szegleteiben kialakuló vízfilm görbületéből eredő nyomás jelenti (1.1.15. ábra).

A xilémekben történő vízszállítás folyamatos vízoszlopot jelent. A legmagasabb fáknál -3-4 MPa mérhető a legfelső levelekben, és ez bőven elegendő 100 méternyi vízoszlop megtartásához. Ez 1 MPa, a további 2-3 MPa a szállítópálya ellenállásának kompenzálására is bőségesen elég (6).

A vízszállítás folyamatában a kapillaritás nem játszik szerepet. Egyfelől a xilém pályában a víznek nincs nyitott meniszkusza, másrészt egy 40 µm sugarú kapillárisban (mint a trachea mérete) mindössze 37 cm-t emelkedne.

A vízszállítás sebessége nagymértékben függ a vízszállító elem sugarától (Poiseuille-egyenlet).



1.1.15. ábra. A tartópontok kialakulása a cellulóz rostok mentén. Ez a nyomáspotenciál kiszámítható a vízfilm sugara (r) és a víz felületi feszültsége (T) ismeretében. $T=7,28 \times 10^{-8}$ MPa m. (Pécsváradi Attila ábrája)

1.1.5.4. Transzspiráció, gázcsere, a sztómák működése

A növények a kutikulán történő vízvesztéssel (evaporáció) és a nyitott gázcserenyílásaikon (sztómák) át párologtatva (transzspiráció) a felvett víz 98%-át elvesztik. A gázcserenyílásokat a CO_2 megszerzése érdekében kell nyitnia a növénynek. A levegő 21%-os oxigén tartalma biztosítja a növény számára, hogy a kutikulán át, zárt sztómák mellett is elegendő O_2 -hez jusson. A levegő jelenlegi alacsony CO_2 tartalma 0,035% (350 ppm), csak a nyitott sztómákon át juthat a növénybe. A víz és a CO_2 diffúziós sebessége méretük miatt eltérő: a CO_2 lassú, koncentrációja alacsony, a víz kis molekula, a gőzkoncentrációja magas; a vízvesztés a sztóma nyitásakor elkerülhetetlen (2).

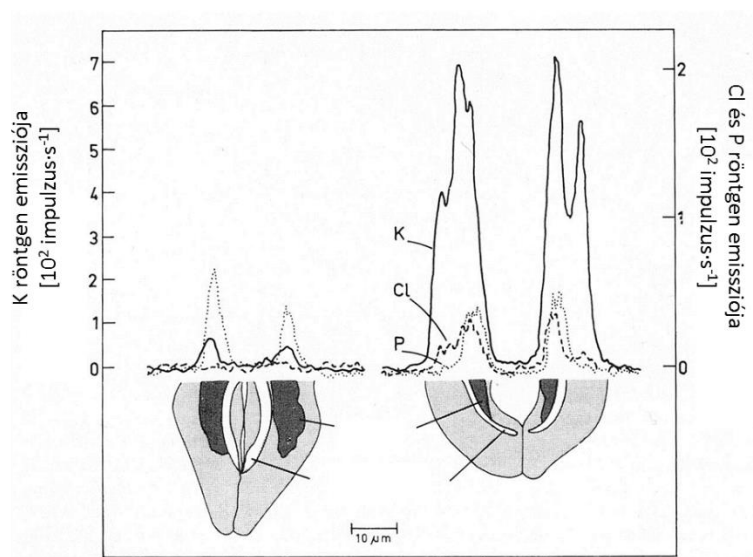
A növények érzékenyen szabályozzák sztómaikat. A CO_2 megszerzésére (lásd 1.3. Fotoszintézis fejezet) olyan élettani, biokémiai megoldások alakultak ki az evolúció során, ami megakadályozza a nagymértékű vízvesztést, de biztosítja a szükséges CO_2 mennyiséget.

A sztómák mérete és eloszlása a levelek felületén (1.1.16. ábra) hatékonyá teszi a gázcserét.

A sztóma zárósejtekben nagyobb sejtmagot, sok mitokondriumot, kloroplasztiszokat találunk. Szimplasztikusan izoláltak, egyetlen szomszédos sejttel sem kapcsolódnak plazmodezmákkal. Nyitásuk-zárásuk hidroaktív, a K^+ beáramlását követi a víz beáramlása. A sztóma így nyílik. A K^+ ionok kiáramlása a sejtől zárja a légrést, mert a víz is elhagyja a zárósejtet (1.1.17. ábra).

Faj	Átlagos sztómaszám /mm ² felső epid.	Átlagos sztómaszám /mm ² alsó epid.	Átl. nyitott sztóma mérete (H×Sz, μm)	Egymástól való távolság (μm)
Bab	40	281	7×3	68
Napraforgó	85	156	38×7	91
Borostyán	0	158	11×4	90
Paradicsom	12	130	13×6	99
Muskátli	19	59	24×9	146
Kukorica	52	68	19×5	137
Búza	33	14	18×7	302

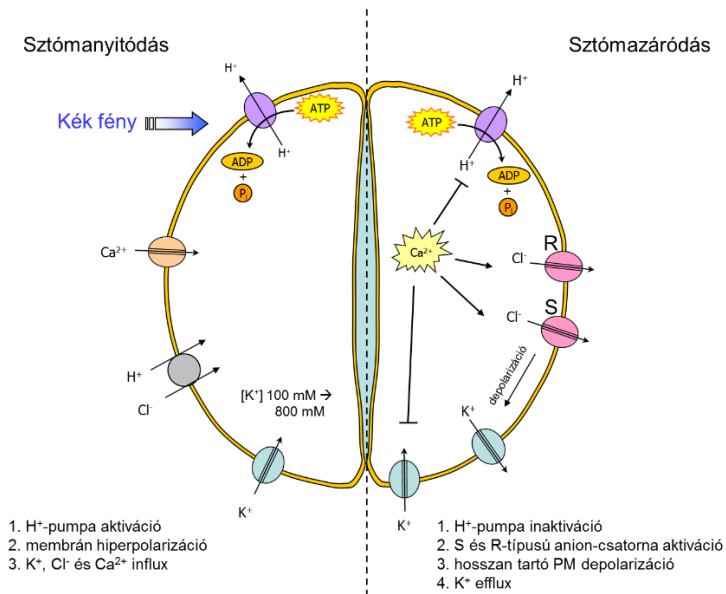
1.1.16. ábra. A sztómák eloszlása és mérete.



1.1.17. ábra. A nyitott sztóma zárósejtjeiben magas a K⁺ koncentráció (7, a kiadó engedélyével).

A K⁺ feszültség érzékeny csatornákon áramlik be és ki a sejtbe. Az influx (befelé irányító) K-csatorna a plazmamembrán hiperpolarizált állapotában nyit. Ezt mélyíti el a Cl⁻ ionok hordozóval történő felvétele. A P-típusú H⁺-ATPáz aktív. A csökkenő vízpotenciál hatására az apoplasztból az aquaporinokon át víz áramlik a zárósejtbe, az meggörbül és nyitja a légrést. Nyitó hatású a fehér és kék fény, a normál vagy alacsony CO₂ koncentráció, normál hőmérséklet, elegendő víz, auxin jelenléte.

Záráskor a P-típusú H⁺-ATPáz gátlódik, a membránpotenciál a depolarizáció irányába változik. A kifelé irányító Cl⁻-csatornák aktiválódnak abszcizinsav hatására, elmélyítik a membrán-depolarizációt. A befelé irányító K⁺-csatornák gátlódnak, az efflux (kifelé irányító) K⁺-csatornák, melyek a depolarizációt érzékelve nyitnak, kiengedik a K⁺ tartalmat az apoplasztba, emelkedik a sejt vízpotenciálja, a zárósejtből a víz az apoplasztba távozik (1.1.18. ábra).



1.1.18. ábra. A sztóma zárósejtek működésének vázlata. (Pécsvárad Attila ábrája)

1.1.6. A floém transzport

A xilém apoplasztikus, híg vizes oldatokat a gyökér felől a levelek felé szállító alacsony nyomású, hosszú távú transzportjával szemben, a floém szimplasztikus, élő sejtekből felépülő hosszú távú, nagy nyomású pályája a levelek felől a gyökér és a hajtás részei felé szállít szerves molekulákban bővelkedő tömény oldatot.

A floém szállító elemei a citoplazmatikus kapcsolatban álló rostacsó elemek, melyhez funkcionális kísérők, kísérősejtek kapcsolódnak. A rostacsó olyan szimplasztikus pálya, melynek felépítő sejtjei sajátos differenciálódáson esnek át, de élők maradnak, bár működésük fenntartásához a kísérősejtek metabolizmusára vannak utalva (1.1.19. ábra).

A rostacsó elem szelektív autofág folyamatoknak köszönhetően elveszíti a sejtmagját, riboszómáit. A megmaradó sejtalkotók a hosszanti sejtfa mellé rendeződnek, P-protein háló szögezi oda őket, védve az elsodródástól. A sejt középső terében akadálytalan a tömegáramlás (4).

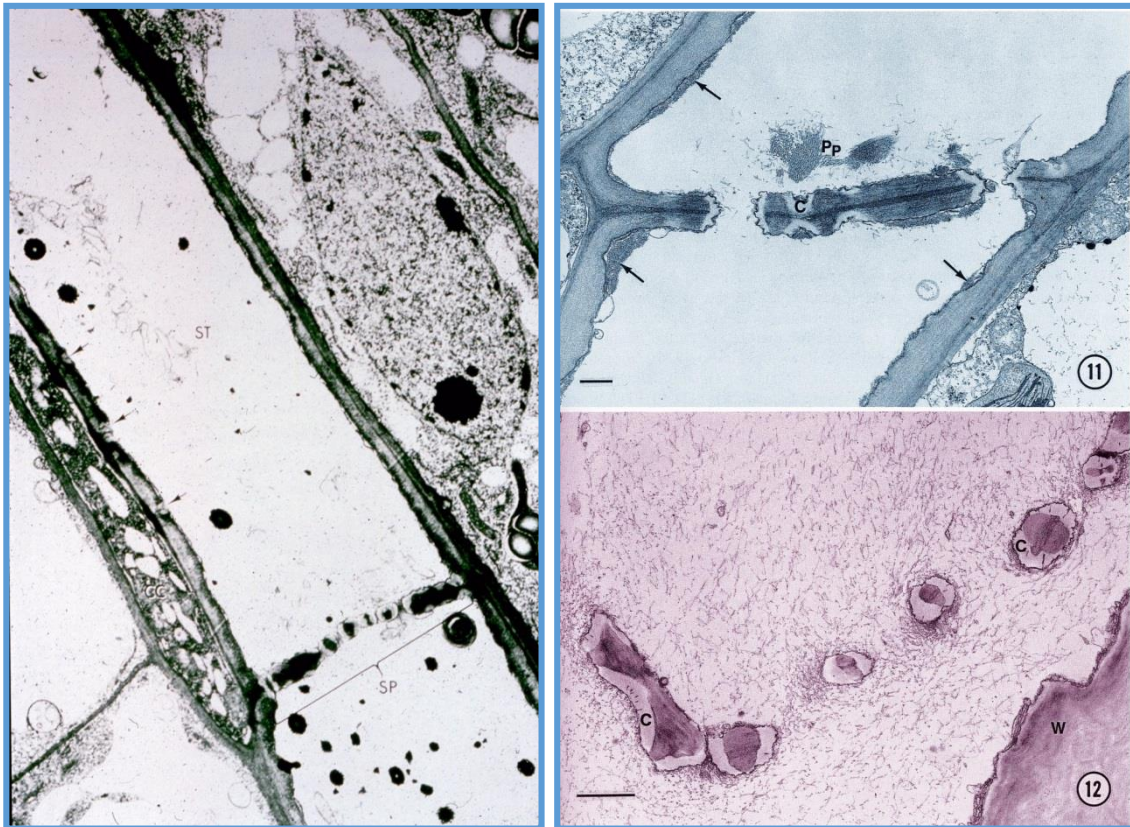
A kísérősejt differenciálódása ezzel ellentétes: aktív sejtmag, nagy számú riboszóma, sok mitokondrium. A rostacsóelemhez elágazó plazmodezmákkal kapcsolódik (1.1.20. ábra).

A floém nedv jellemzően bővelkedik szerves összetevőkben, nagy töménységű (a szacharóz koncentrációja elérheti az 1 M-t!).

A floém exudátumban kimutattak fehérjéket, RNS-féléket, hormonokat is.

A floém pálya feltöltésében a kísérősejtek fontos szerepet játszanak. A kísérősejt és a rostacsóelem közötti szimplasztikus kapcsolat miatt a kémiai potenciálgrádiense mozgatja a szacharózt a kísérősejtből a szállítópályába.

A floém feltöltésének két alapvető módja van: az apoplasztikus út és a szimplasztikus út; ez a kísérősejt és mezofillum sejt funkcionális viszonyára vonatkozik (1.1.21. ábra).



1.1.19. ábra. A floém rostacső elem (ST) és a kísérősejt (CC). A szimplasztikus pálya sejtjeit a pórusokkal áttört rostalemez (SP) választja el. A nyilak a kísérősejt felőli plazmodezmákat mutatják. Jobbra a P-protein elrendeződése (4, a kiadó engedélyével).

	Rostacső elem	Kísérősejt		Phloem exudátum	Xylem exudátum
sejtmag	nincs	van	Cukrok	100-300 g/L	0 g/L
tonoplaszt	nincs	van	Aminosavak (Glu, Asp, Gln, Asn)	5-40 g/L	0,1-2 g/L
mikrotubulusok	nincs	van	Szervetlen anyag	1-5 g/L	0,2-4 g/L
Golgi apparátus	nincs	van	Összes oldott anyag	250-1200 mmol/kg $\psi_{\pi} \approx -0,6 - -3$ MPa	10-100 mmol/kg $\psi_{\pi} \approx -0,02 - -0,2$ MPa
riboszóma	nincs	van	pH	7,3-8,0	5,0-6,5
plazmamembrán	van	van			
mitokondrium	van ($\pm$)	van			
plastiszok	van ($\pm$)	van			
sima ER	van	van			
P-protein	van	nincs			

1.1.20. ábra. Sejtalkotók a rostacső elemben és a kísérősejtben. Jobbra a xilém és floém exudátumok összetétele.

Az apoplasztikus út:

- a szacharóz passzív diffúziója az apoplasztba a mezofillum sejtéből;
- aktív transzport az apoplasztból a kísérősejt plazmamembránján át (aktív H^+ -ATPáz, H^+ -szacharóz kotranszport);
- jellegzetes kísérősejt a transzfersejt (zegzugos sejtfa, nagy membránfelület, sok szacharóz transzporter);
- általános.

A szimplasztikus út:

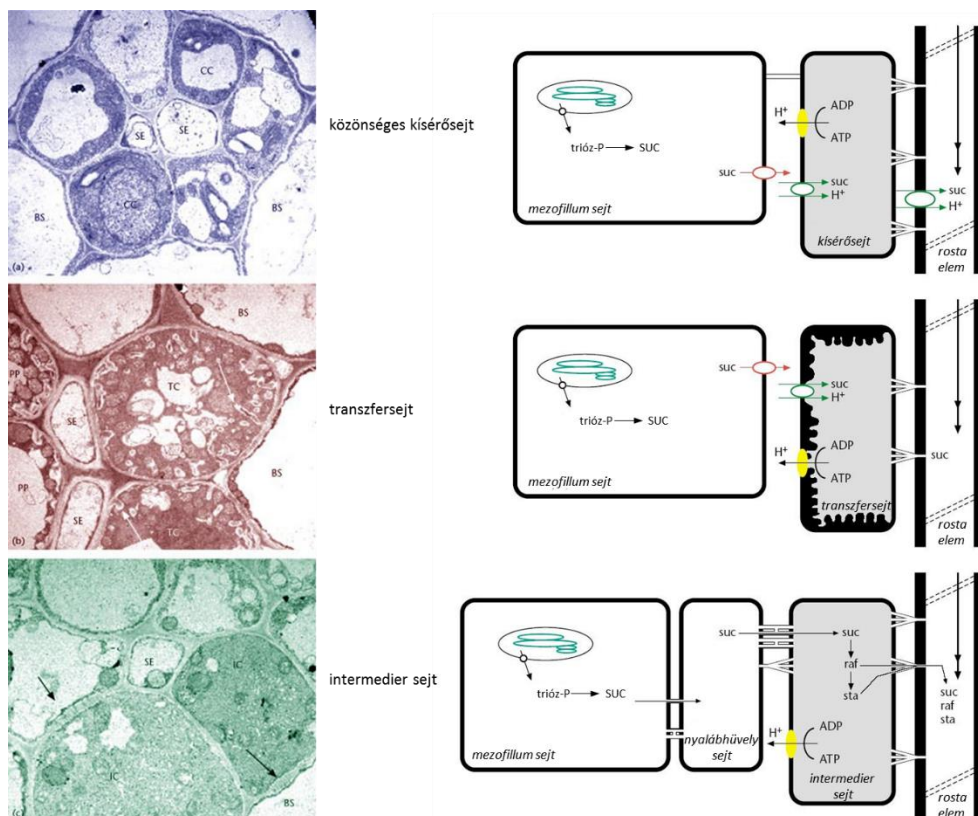
- a mezofillum vagy nyálábhüvely sejt és kísérősejt szimplasztikus kapcsolatban van;
- a szacharóz a kémiai potenciálgrádiens mentén jut a kísérősejtbe, és ott galaktózzal kapcsolódik, (raffinóz, sztachióz, verbaszkóz szintézis), ez az „oligomer csapdázódás”;
- jellegzetes kísérő sejt az intermedier sejt;

A rostacső ozmotikus potenciálja, ezzel együtt az eredő vízpotenciál jelentősen lecsökken (negatívabb lesz) és ennek az a következménye, hogy a xilémből, mely híg vizes oldatokat tartalmaz, víz áramlik a floém rostacső pályájába. Ez jelentősen megnöveli a rostacsőelemek turgorát, a falnyomás potenciált.

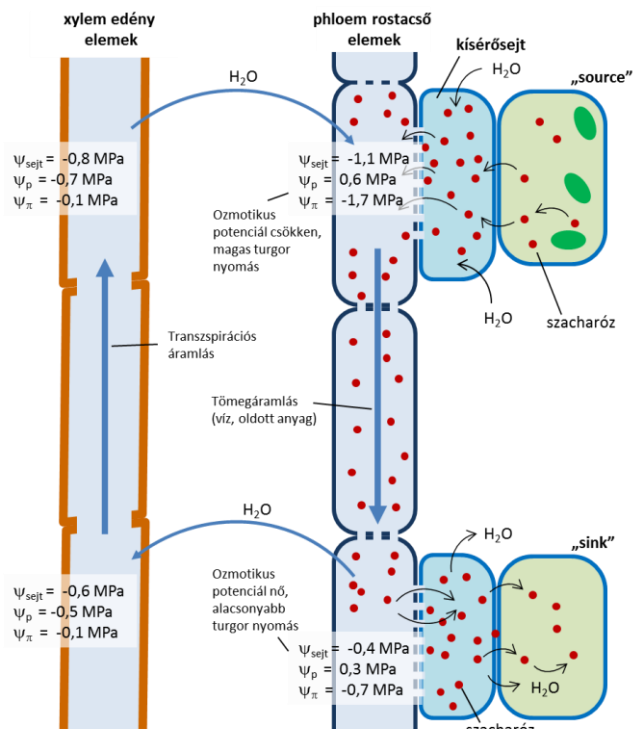
A pálya mentén a növényi test többi sejtje tápanyagot vesz ki ebből a pályából. A vízpotenciál ozmotikus komponense nő (kevésbé lesz negatív a fogyó oldott anyag miatt). Ezt a növekedést kíséri a víz kilépése a pályából, a falnyomás potenciál csökken (1.1.22. ábra).

A floémből az anyagleadás történhet apoplasztikus és szimplasztikus folyamatok révén. Vegetatív szervekben, gyökerekben, fiatal levelekben szimplasztikus; reproduktív és raktározó szervekben jellegzetesen apoplasztikus a szacharóz leadása.

A floém szimplasztikus pályája gyors információszállító. Jeleket közvetíthet pl. a levelekből a hajtáscsúcs felé, ami pl. indukálhatja a virágzást.



1.1.21. ábra. A floém feltöltés mechanizmusai (8, a kiadó engedélyével)



1.1.22. ábra. A floém feltöltés és a nyomásgrádiens kialakulása. (Pécsváradi Attila ábrája)

Összefoglalás

1. A víz kémiai szerkezete lehetővé teszi H-kötések létrehozását saját és más molekulákkal. Jó oldószer, kohézióra és adhézióra képes. Hőtani tulajdonságai kiemelkedőek.
2. Tömegáramlását a Poiseuille-egyenlettel, diffúzióját a Fick-törvénnyel írhatjuk le.
3. A növényi sejtek vízviszonyait a kémiai potenciálból származtatott vízpotenciállal írhatjuk le. Komponensei a falnyomás potenciál, az ozmotikus potenciál, a mátrix potenciál, gravitációs potenciál.
4. A sejtmembrán aquaporinokat, vízcsatornákat tartalmaz, ami elősegíti a víz átjutását. Az aquaporinok szabályozhatók.
5. A vízfelvétel útja a talajoldattól a gyökéren át a legfelső levélig a csökkenő vízpotenciál grádiens mentén történik. A sejtek vízpotenciáljukat aktívan szabályozzák.
6. A transzspirációt a gázcsere nyitása, zárása szabályozza.
7. A floém szimplasztikus, magasnyomású pályája sok szerves anyagot tartalmazó, koncentrált oldatot szállít. Ez a pálya a jelátvitelben is fontos szerepet játszik.
8. A floém feltöltését a kísérősejtek végzik, a pályából történő anyagfelvétel szintén aktív.

Ellenőrző kérdések

1. Miért jó oldószer a víz?
2. A növényi sejtek vízpotenciálja milyen tagokból áll?
3. Miért szükséges a xilém vízszállító csövek falának megerősítése?
4. A kísérősejt milyen kapcsolatban van a rostacsőelemmel?

Megvitatandó kérdések

1. Képesek-e az élőhelyük viszonyaihoz alkalmazkodni a növények a szövetek, szerveik vízpotenciáljának változtatásával?

Javasolt irodalom

1. Láng Ferenc (szerk.) 2007. Növényélettan – Növényi anyagcsere I és II. ELTE Eötvös Kiadó
2. Buchanan BB, Gruissem W, Jones RL (Eds) Biochemistry and molecular biology of plants. Second Edition. American Society of Plant Biologists, 2015.
3. Sutcliffe J (1982) A növények és a víz. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest.

Felhasznált irodalom

1. Sutcliffe J (1982) A növények és a víz. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest. pp. 21-40.
2. Taiz L, Zeiger E (szerk.). Plant Physiology. Fourth edition. Sinauer Associates, Inc., Publishers, Sunderland, Massachusetts, 2006. ISBN 10: 0-87893-856-7
3. Salisbury F B, Ross C W (1992) Plant Physiology. 4th edition. Wadsworth Publishing Company. ISBN 0-534-15162-0
4. Behnke H-D and Sjolund R D (1990) Sieve elements. Comparative structure, induction and development. Springer (Heidelberg).
5. Heldt H W, Piechulla B (2015) Pflanzenbiochemie. 5. überarbeitete Auflage, Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
6. Koch G W , Sillett S C, Jennings G M & Davis s D(2004) The limits to tree height. Nature 428: 851-854.
7. Mohr H, Schopfer P: Plant Physiology. Springer-Verlag Berlin, 1995. ISBN 3-540-58016-6
8. Lalonde S, Franceschi V R, Frommer W: Companion Cells. April 2001, DOI: 10.1038/npg.els.0002087, In book: eLS Encyclopedia of Life Sciences / & 2001 Nature Publishing Group / www.els.net

1.2. Fejezet A növények ásványos táplálkozása, nitrogén és kén anyagcsere

Írta: Ördögné Dr. Kolbert Zsuzsanna

A növények ásványi anyagokhoz való hozzájutásának és hasznosításának ismerete különös fontosságú a modern mezőgazdaságban. A népesség növekedésével fokozódik a globális élelmiszer igény, ami maga után vonja a nagyobb terméshozamok iránti igényt is. A haszonnövényeink hozamának emelése elérhető a műtrágyák fokozott alkalmazásával. Azonban a mezőgazdasági növények kevesebb tápanyagot használnak fel, mint amit a környezetükbe juttatunk, ezért a tápelemek feleslege a felszíni, felszín alatti vizekbe jut vagy a talajban kötődik és légszennyezéshez járul hozzá, jelentős környezetvédelmi problémákat okozva. Továbbá a tápelemek a bioszférába a növényeken keresztül jutnak be, ezért a humán táplálkozás egészségügy szempontjából is lényeges a növények ásványos táplálkozásának megértése.

Tanulási célkitűzések:

Tudás

- ismerje a növényi ásványos táplálkozás fogalmát
- ismerje és értse a tápanyag ellátottság és a növekedés/hozam közötti összefüggéseket
- ismerje a legfontosabb makro- és mikroelemek növényélettani jelentőségét és hiányuk tüneteit
- fel tudja sorolni a növények számára esszenciális tápelemeket
- tudja csoportosítani az esszenciális tápelemeket

Képesség

- képes jellemezni egy adott talajt, mint a növények szerves tápanyag forrását
- fel tudja tárni a talaj jellemzői (kémhatása, talajrészecskék felületi töltése) és a tápanyagok felvehetősége közötti összefüggéseket
- képes a tünetei alapján meghatározni az elemhiányt

Attitűd

- belátja, hogy a növények segítségével, közvetítésével, jutunk hozzá a számunkra esszenciális tápelemekhez

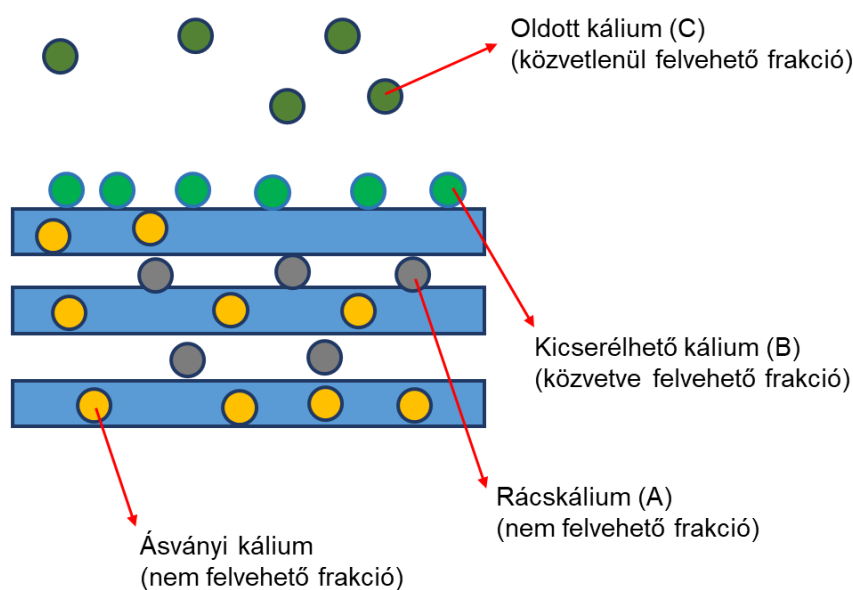
Autonómia/felelősség

- tudatában van, hogy a népességnövekedésből adódó növekvő élelmiszer igény következtében fokozódik a műtrágya felhasználás, ami károsan hat a természetre

1.2.1. A talaj, mint tápanyagraktár

A növények számára a szerves tápanyagoknak két raktára van: a levegő és a talaj, melyekkel a hajtás- és gyökérrendszerük létesít kapcsolatot. A növények szerves anyagai nagy részét a légköri CO₂ felhasználásával építik fel, de emellett a talajból is igényelnek szerves tápanyagokat (pl. nitrogén, foszfor, réz). A talaj minősége meghatározza a tápelemek felvehetőségét, ezáltal pedig a növények elterjedését is. A talaj következő minőségi tényezői hatnak a növények tápanyagfelvételére: szerkezet (pl. homokos, agyagos), összetétel (pl. a szerves és szerves kémiai komponensek mennyisége és aránya), művelt talajréteg milyensége, vastagsága. A talaj egy **heterogén összetételű**, komplex biológiai, fizikai és kémiai rendszer. A szilárd fázisát alkotják a szerves agyagásványok (pl. szilikát kristályok) és a szerves humuszanyagok, melyek felületükön kötik a tápelemeket ionos formában, ezért a talaj szilárd fázisa fő tápanyagraktárnak tekinthető. A cseppfolyós fázis, vagyis talajoldat oldott

formában tartalmazza az ionokat és bizonyos gázokat, és azok fő szállítóközegeként szolgál. A légnemű talajfázis (talajlevegő) összetételében eltér a légköri levegőtől, hiszen több nitrogént (N_2) és széndioxidot (CO_2) tartalmaz, míg oxigén (O_2) koncentrációja alacsonyabb és tartalmazhat pl. kén-hidrogént (H_2S). A tápelemek háromféle formában lehetnek jelen a talaj komplex rendszerében (1.2.1. ábra; Láng 2007). A tápelemek egy része a talajrészecskék kristályrácsában kötve, a növények számára nem felszabadítható és nem felvehető formában van jelen (A). A tápelem ionok egy része a talajrészecskék felületén abszorbeálva a szolvát burokban található, ami a növények számára közvetlenül nem felvehető, de felszabadítható ionfrakciót jelent (B). A felületen kötött ionok a kimosódástól védve vannak, vagyis a növények számára egy jelentős tápanyag poolt jelentenek. A tápelemek ionos formái megtalálhatóak a cseppfolyós fázisban oldva is (C), mely ionfrakció a növényi gyökerek számára közvetlenül elérhető, viszont kimosódásra hajlamos.



1.2.1. ábra A tápelemek előfordulásának lehetőségei a talajokban. Az ábra a kálium kation (K^+) példáját mutatja be, ami jelen lehet ásványi formában az agyagásványokban, az agyagásványok kristályrácsában kötve (A), az agyagásványok felületén abszorbeálva (B) vagy pedig oldott formában a talaj cseppfolyós fázisában (C). (Ördögné Dr. Kolbert Zsuzsanna ábrája)

A trópusi talajokban a részecskék túlnyomórészt pozitív töltésű vas- és alumínium-hidroxidok, amik miatt ezekben a talajokban az anion adszorpció jelentősebb. A mérsékelt övi talajokban ezzel szemben dominálnak a negatív töltésű talajrészecskék, ezért az anionok (pl. nitrát, szulfát) könnyebben kimosódnak, a kationok a felületén abszorbeálódnak. Azonban pl. protonok (H^+) adása a talajba leszorítja a talajrészecske felületén kötött kationokat (pl. kalcium, Ca^{2+}), beköt annak helyére, a kation (Ca^{2+}) pedig felvehető formába kerül. Vagyis kation csere (a példában Ca^{2+}/H^+ kicserélés) történhet a talajrészecske felületén, és a mérsékelt övi talajtípusok jellemzésére használhatjuk az úgynevezett **kation kicserélő kapacitás** mérőszámot (cation exchange capacity, CEC). A CEC megmutatja, hogy egy talajtípus/részecske/kolloid a felületén mennyire képes kationt cserélni. Az agyagos talajok nagyobb

részecskemérettel rendelkeznek, melyek a nagyobb felületük miatt több ion tudnak a felületükön megkötönni, így kicserélni is. Ezzel szemben a homokos talajok részecskemérete kisebb, kisebb felülettel, ebből adódóan pedig kisebb mértékű ionkötő képességgel. Ezért a CEC mérőszám az agyagos talajok esetén nagyobb, mint a homokos talajok esetén.

A **talaj kémhatását** a talajoldatban lévő protonok és hidroxil ionok (OH^-) egymáshoz viszonyított mennyisége határozza meg. A talaj össz savasságát a talajoldatban oldott H^+ -ok és a talajrészecskék felületén abszorbeált H^+ -ok mennyisége alakítja ki. A H^+ -ok beoldódása a talajoldatba (deszorpció) és onnan a felületen való megkötődése (adszorpció) egyensúlyban van, ezért a talaj kémhatása nem változik jelentősen, másszóval a talajok pufferoló képessége a legtöbb jó szerkezetű talajnál igen jelentős. Általánosságban a pH 9 feletti vagy a pH 4 alatti kémhatású talajok a növényre (főként annak gyökérzetére) nézve toxikusak, de a közbülső pH értékek közvetlenül nem befolyásolják jelentősen a növény fiziológiai állapotát. A különböző növényfajok pH tűrése azonban eltérő, hiszen a legtöbb termesztett növényünk pH 6,0-6,5 között kedvezően fejlődik, de vannak acidofil tulajdonságú növények (pl. *Ericaceae*, *Papilionaceae* család fajai), melyek a pH 4 és pH 6 közötti tartományt kedvelik (Korczák 1987). Ennek az ellenkezőjére példa a lucerna és az árpa, melyek számára a pH 6,5 és 7,4 közötti kémhatás az optimális. A talaj kémhatása közvetve is hatással van a növényekre azáltal, hogy az egyes nutriensek hozzáférhetőségét különbözőképp befolyásolják. A savanyú talajok kalcium tartalma általában alacsony, míg a vas, mangán és alumínium tartalma magas, ezért kalcium hiány valamint vas, mangán, és alumínium toxicitás előfordulhat. Lúgos talajokon épp az ellenkezője következhet be (Lucas és Davis 1961).

1.2.2. A növényi gyökérzet és a rizoszféra

A gyökérzet biztosítja a növény kapcsolatát a talajjal, mint tápanyag raktárral és szerkezete meghatározó a tápanyagfelvétel szempontjából. Az egyszikűek csírázó magjából 3-6 elsődleges gyökérkezdemény fejlődik, majd további új gyökerek jelennek meg mellékgyökérzetet kialakítva, ahol a gyökerek átmérője azonos. A kétszikűek ezzel szemben főgyökérzetet fejlesztenek, melyben a főgyökér kambiummal vastagszik, és másodlagos, vékonyabb oldalgyökereket képez (Haraszty 1979).

A talajrétegek víz- és tápanyagtartalma eltérő, amihez a növény különböző szerkezetű gyökérzetek kialakításával képes alkalmazkodni. Pl. nedvesebb talajban a gyökérzet sekélyebb, míg szárazabb talajfelszín esetén mélyebbre hatoló gyökérzet alakul ki (Weaver 1926). Táplálkozásélettani szempontból a gyökérsüveg és a felszívási gyökérszóna kiemelt szerepű. A gyökérsüveg szerepe az ásványi táplálkozásban az, hogy nyálkaanyag kiválasztása révén segíti a tápanyagok bejutását a gyökérbe, és segíti a mikroorganizmusokkal való asszociációt. Újabb kutatások kiderítették, hogy a gyökérsüveg sejtekben a foszfát (Pi) transzporterek előfordulása nagy, így a gyökérsüveg kiemelt szerepű a Pi felvételében, emellett pedig a Pi érzékelésében és a Pi szintekhez való alkalmazkodásban egyaránt (Kanno és mtsai 2016). A felszívási gyökérszónában speciális epidermiszsejtekből (trichoblaszt) differenciálódott gyökérszőrsejtek találhatóak nagy számban (felületnövelés), melyeken keresztül történik a talajoldatból az ionok és a víz felvétele.

A gyökérszőrsejtek apoplasztjában negatív töltésű csoportok vannak, amiken többszörösen pozitívan töltött kationok kötődnek meg, **tápanyaghiányos zónát** kialakítva a gyökérszőrök közvetlen közelében található talajoldatban. Ennek következtében iondiffúzió indulhat meg a talajoldat távolabbi, ionokban gazdagabb része felől a gyökérszőr közeli, tápanyag szegény zóna felé, ami biztosítja a folyamatos tápanyag utánpótlást. A folyadékfázis és a benne oldott ionok együttes mozgása alakítja ki a **tömegáramlásokat** a talajoldatban, mely szintén hozzájárul a gyökerek folyamatos tápanyagutánpótlásához. Olyan tápelemek esetén, melyek mobilitása a talajban kicsi (pl. cink, Zn^{2+}), a gyökér növekedése új, tápanyag gazdagabb talajzónák felé (**gyökérintercepció**) biztosítja a tápanyagutánpótlást (Barber 1966).

A talaj-növény kapcsolat kétirányú, hiszen nem csak a talaj tulajdonságai hatnak a gyökérzetre, hanem a gyökérzet is befolyásolja a környező talajt (rizoszféra) bizonyos anyagok leadásával. A gyökerek által a rizoszférába kiválasztott anyagok közül a protonoknak különös jelentősége van a táplálkozásban. Gyökérszőrők közvetlenül szekretálnak H^+ -kat, vagy sejtlégzésből származó CO_2 -ot szabadítanak fel, mely a talajoldatban karbonsavvá alakul, majd disszociálva végső soron protont eredményez. Ez a proton exréció részt vesz a kation kicserélésben, aminek eredményeképp esszenciális kationok (pl. K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+}) a talajoldatba kerülnek és onnan könnyen felvehetőkké válnak a növény számára. A proton kiválasztás a rizoszféra kémhatását is savanyítja, ennek következtében pedig a fémsók oldhatósága és felvehetősége nő (Láng 2007). A protonok kiválasztása mellett, a gyökerek szerves savak (pl. citromsav) exréciójával is módosítják a rizoszféra kémhatását. A gyökerek ezenkívül leadhatnak foszfatáz enzimeket, nem fehérje felépítő aminosavakat (pl. mugineinsav), cukrokat, nyálkaanyagokat. Ez utóbbiak a rizoszféra mikroorganizmusokkal való kapcsolat kialakításában kulcsfontosságúak, melyek befolyásolják a gyökérzet növekedését ugyanakkor segítik a növények tápanyagfelvételét.

A magasabbrendű növények és a gombák között kialakuló mutualista, szimbionta együttélés, a **mikorrhiza**, aminek jelentősége van a növény táplálkozása szempontjából. A gomba szénhidrátokat, zsírokat, hormonokat, vitaminokat kap a növénypartnertől, a növénynek pedig a tápanyagfelvétele (elsősorban foszfor, cink, réz, kálium) javul egyrészt azért, hogy a gombafonalak a vastagabb gyökérszőrőknél mélyebbre tudnak hatolni a talajrészecskék között, így hatékonyabb felvételt biztosítva, másrészt a gombafonalak növelik a talajban a tápanyag felszívásra alkalmas felületet. A mikorrhizáknak hagyományosan két morfológiai típusát különítjük el: ektomikorrhiza és endomikorrhiza (Frank 1887). A fásszárú növények (főként bükkfélék, nyírfélék, fenyőfélék) gombákkal (pl. galócák, tinóruk) alkotott szimbiózisa ektomikorrhiza típusú, mert a gombafonalak nem hatolnak be a gyökérsejtek sejtfalába, csupán a gyökér kortex szövetrétegének sejtjei között alkotnak sűrű szövédéket (Hartig-háló). A magasabbrendű növények 3%-a képes ektomikorrhizás kapcsolat kialakítására. Ennél sokkal gyakoribb, a lágyszárú növényekre és mezőgazdasági növényeink nagy részére jellemző endomikorrhiza. Az arbuskuláris (endo)mikorrhiza típusú együttélés esetén a gombahifa laza szövédéket alkot a gyökér körül, behatol a gyökérsejtekbe, ahol arbuskulumot képez, ami a partnerek közötti tápanyag kicserélődés helye. A növény tápanyagellátottsága befolyásolja a szükséges mikorrhiza mennyiségét. Pl. enyhe foszforhiányra fokozódik a növény mikorrhizáltsága, míg jól trágyázott talajokban a mikorrhiza visszaszorulhat, illetve bizonyos esetekben parazitizmusba csaphat át.

1.2.3. A növényi tápanyagellátás és a hozam kapcsolata, vízkultúrás rendszerek

A tápelemek a növények növekedését és fejlődését befolyásoló környezeti faktorokként foghatók fel. A hatásuk pedig azzal az összefüggéssel írható le, hogy a növények fejlődésének ütemét a rendelkezésre álló tápelemek közül az szabja meg, mely a legkisebb mennyiségben van jelen a szükségeshez képest. Ennek az elemnek a mennyiségét növelve nő a terméshozam mindaddig, míg egy másik tápelem nem kerül relatív minimumba. Ezt az összefüggést első leírójáról **Liebig-féle minimumtörvénynek** nevezzük (Liebig 1855). A tápanyag ellátottság és a növény hozama közötti összefüggésre érvényben lévő másik szabály szerint a növekvő tápanyaadagolás a hozamot csökkenő mértékben növeli. A tápanyag koncentráció növekedése a hozamot mindaddig növeli, míg el nem éri az ún. kritikus koncentrációt, mely a maximális növekedést/hozamot eredményező legkisebb tápanyagkoncentráció (**Mitscherlich-szabály**). További tápanyag adagolása a hozamot nem növeli tovább, egy bizonyos koncentráción túl pedig már kedvezőtlen hatású. Vagyis a tápanyagkoncentráció és a növekedés/hozam összefüggése optimumgörbével írható le, mert van a tápanyagoknak egy optimális koncentrációtartománya mely maximális növekedést eredményez, míg ennél kisebb koncentrációk esetén hiánytünetek lépnek fel, az optimálisnál nagyobb tápelem dózisok pedig hozam/növekedés visszaesést, extrém esetben pedig a növény halálát okozzák.

Az 1800-as évek elején felismerték azt, hogy a növényeket fel lehet nevelni terméshozásig talaj nélkül, vízkultúrában (hidropónia), abban az esetben, ha a közeg a szükséges tápelemeket a megfelelő koncentrációban tartalmazza. Ezzel bizonyítást nyert, hogy a növények számára elegendő a szervesetlen tápsók jelenléte, nem igényelnek szerves talajfázist. A vízkultúrák növénynevelését a korai kísérletekben a tápelemek élettani jelentőségének felderítésére használták, ma pedig széleskörűen alkalmaznak hidropónikus rendszereket a kertgazdaságokban. Mivel a folyadékfázisban nem érvényesül a talaj pufferoló képessége, a tápoldat pH-ját rendszeresen kell ellenőrizni és beállítani (Sardare és Admane 2013).

1.2.4. A növények számára nélkülözhetetlen tápelemek és hiányuk

A zöld növények alapvetően különböznek a nem autotróf szervezetektől, hiszen a számukra nélkülözhetetlen elemek kizárólag szervesetlen anyagok. A növényi szövetekben a bioszféra 90 stabil eleme közül 40-50 mutatható ki. Ezek közül azonban csak 17 elem (C, O, H, N, S, P, K, Ca, Mg, B, Fe, Zn, Cu, Mo, Mn, Cl, Ni) tekinthető esszenciálisnak. Esszenciálisnak akkor tekintünk egy tápelemet, ha az alábbi három feltétel teljesül:

- (1) hiánya esetén a növény tüneteket mutat és elpusztul, mielőtt az életciklusát befejezné,
- (2) funkciója nem helyettesíthető más elemmel,
- (3) közvetlenül részt vesz az anyagcserében pl. enzimkomponensként.

Egyes esszenciális tápelemeket a növény nagyobb mennyiségben tartalmazza és igényli, mint másokat. A tápelemeket tehát csoportosíthatjuk aszerint, hogy mennyit igényelnek belőle a növények általánosságban. A makroelemekből mM-os koncentrációk szükségesek a közegben, míg a mikroelemek esetén μM -os koncentrációk adagolására van szükség. A hagyományos felosztás szerint a növények számára esszenciális elemeknek három csoportját különítjük el:

organogén elemek (C, O, H)

makroelemek (N, S, P, K, Ca, Mg)

mikroelemek (B, Fe, Zn, Cu, Mo, Mn, Cl, Ni)

Az esszenciális tápelemek elégtelen mennyisége esetén hiánytünetek jelentkeznek a növény szervein. A tápelem élettani funkciója mellett, annak mobilitási és reutilizációs képessége is meghatározza, hogy milyen hiánytünetet, a növény mely részén észlelünk. Bizonyos elemek (pl. N, P, K, Mg, Zn) hiány esetén az idősebb hajtásrészekből a fiatalabb levelekbe transzlokálódnak és ott felhasználódnak (reutilizálódnak), aminek következtében a hiánytünetek az idősebb leveleken jelentkeznek. Más elemek (pl. Ca, S, Fe, B, Cu) ezzel ellentétben nem transzlokálódnak a fiatal levelekbe, így a hiánytünetek elsődleges megjelenési helye a hajtáscsúcs és az ahhoz közeli fiatal levelek (White 2012). A tápanyaghiány általános tünetei között találjuk a sárgulást (klorózis), mely jelentkezhet a levél erek között, azok mentén vagy a levéllemezen foltokban. Súlyosabb elemhiányok kialakíthatnak szövet elhalást (nekrózis), mely jelentkezhet az erek között vagy foltokban. További tünetek lehetnek a levélnyel lilulása, a levélszél perzselődése vagy sodródása. A fejezet további részében két makroelem, a nitrogén és a kén anyagcseréjét tárgyaljuk részletesen, majd a további makro- és mikroelemek élettani szerepét és hiányuk tüneteit mutatjuk be röviden.

1.2.5. A nitrogén (N) anyagcsere

1.2.5.1. A N körforgalma

Az atmoszférikus N vegyületek kémiai, fizikai és biológiai fixációs folyamatokkal jutnak a talajba, melyek során a stabil N_2 kötés felbomlik és N-vegyületek képződnek. A természetben a **N fixáció** 90%-a élőlények működése révén, biológiai úton történik: szabadon és növényekkel szimbiotikus kapcsolatban élő N-fixáló szervezetek a N_2 -t ammóniává (NH_3) alakítva azt saját anyagaikba beépítik. A fixált N-formák egymás között átalakulnak. Ennek egyik lehetősége, hogy az élőlényekben lévő N-vegyületek hulladék útján vagy az élőlények elpusztulása révén a talajba kerülnek, ahol megtörténik azok ammóniává alakítása mikrobiális (gombák, baktériumok) tevékenység révén az **ammonifikáció** folyamatában. A talaj NH_3 tartalmának nagy része **nitrifikációval** nitráttá (NO_3^-) oxidálódik talajbaktériumok működése révén, savas, anaerob talajokban azonban NH_3 formában marad. A növények bár képesek az NH_3 felvételére is, mégis a nitrátot részesítik előnyben. A NO_3^- ammóniává való visszaredukálása a **NO_3^- asszimiláció** folyamata, amire mind az algák, mind pedig a magasabbrendű növények valamint számos gomba és baktérium képes. A talajban lévő NO_3^- könnyen kimosódhat és a talajvizekbe kerülhet, valamint anaerob talajbaktériumok működése révén sorozatos redukcióval N_2 -né alakul és visszajut a légkörbe (**denitrifikáció**). Összefoglalva tehát, a növényvilágban a szerves N két folyamat révén épülhet be szerves anyagokba: biológiai fixációval (erre azonban kevés baktériumtörzs, illetve kevés baktérium-növény szimbiotikus asszociáció képes) és nitrát asszimilációval (általános képesség az élővilágban). Az előzőekből adódik, hogy a szerves vegyületekbe beépített N mennyiségét illetően a növényvilágban a NO_3^- asszimiláció dominál a N fixáció felett.

1.2.5.2. A biológiai N-fixálás

A légköri N_2 -t szabadon vagy növényekkel szimbiózisban élő prokarióták nitrogenáz enzimük segítségével, energia felhasználásával NH_3 -vá képesek redukálni, ami ezután a növényi sejt anyagaiba (aminosavakba) beépül.

A nem szimbiotikus N-kötők között találunk heterotróf anyagcseréjű baktériumokat (pl. *Clostridium*, *Klebsiella*, *Azospirillum*), melyekben a N-fixálás mértéke kisebb, mivel ehhez az energiaigényes folyamathoz csak korlátozott mennyiségű szénhidrát áll rendelkezésre. Az autotróf N-fixálók között előfordulnak egysejtűek, fonalas, heterocisztát nem képzők illetve heterocisztás baktériumok. A heterocisztát a sejtfonal N-fixálásra specializálódott sejtje, mely fotoszintézist nem végez, sejtfala pedig egy poliszacharid és egy glikolipid réteggel megvastagodott. A sejtfonalban 10-12 vegetatív (fotoszintetizáló) sejt választja el a heterocisztátokat egymástól, melyek a vegetatív sejtekkel plazmodezmás összeköttetésben állnak (Wolk 1996). A fonalas, heterocisztás N-fixáló baktériumok kialakíthatnak együttéléseket is. Erre példa az *Anabaena azollae* fonalas cianobaktérium *Azolla* nemzetség páfrányfajaival alkotott szimbiózisa, melynek mezőgazdasági jelentősége van, hiszen ez az *Anabaena-Azolla* szimbiotikus asszociáció felhasználható, mint biotrágya többek között rizsföldek esetén, ahol 14-40%-os hozamnövekedésről számoltak be az inokulációt követően (Raja és mtsai 2012).

A N-fixációs szimbiózis esetén a kapcsolat előnyös mind a N-hiányos, de szénhidrátokban bővelkedő gazdanövény, mind pedig a N-kötésre képes, de szénhidrátokban szűkölködő baktérium (mikroszimbióta) számára. A szimbiózis akkor tud a leghatékonyabban működni, ha a baktérium partner organellum-szerűen működik. Ezek közül az asszociációk közül a leghatékonyabbak, így mezőgazdaságilag a legjelentősebbek a rhizóbiumok (*Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*) *Leguminosae* (pillangósvirágúak) növény család fajaival alkotott együttélései (Zahran 2001). A szimbiózisok specializált helyei a növényben az ún. gyökérgümők vagy noduluszok. Ezek a hengeres vagy gömbölyű képletek a gyökér periciklusán kívül kapcsolódnak a gyökérhez. A hengeres alakú gümők indeterminált növekedésűek, egy folyamatosan osztódó merisztéma részből és különböző

fejlettségű zónákból állnak. A gömbölyű gümők növekedése determinált, így egyforma korú sejtekből állnak. A nodulusokat szuberinizált falú epidermisz burkolja, a belső térben pedig a poliszacharid tokjukat és nyálkarétegüket elveszített, a szimbionta életmódra módosult baktériumok (bakteroidok) találhatóak. A peribakteroid membránnal körülvett bakteroidokat szimbioszómáknak nevezzük.

A szimbionta asszociáció kialakulása, vagyis a noduláció a két partner kölcsönös felismerésével indul és az alábbi lépésekben foglalható össze:

A baktérium és a növény felismerik egymást (a baktérium kemotaktikus migrációja a rizoszféra felé, növényi jelmolekula: flavonoidok)

A baktérium megtapad a gyökérszőr felszínén: elsődleges nodulusz merisztéma képződése

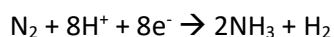
A gyökérszőr behajlása: infekciós csatorna keletkezik

A baktériumok az endodermiszig és a periciklusig penetrálnak

Osztódás után bakteroiddá alakulnak, nitrogén fixálás kezdődik

A noduluszok belsejében jelentős mennyiségű leghemoglobin halmozódik fel, mely a hemoglobinhoz hasonlóan oxigént köt és szállít, biztosítva ezzel a N-fixáláshoz elengedhetetlen anaerob közeget. A bakteroidok nitrogenáz enzime ugyanis oxigén érzékeny, mivel a Fe-S komponenseit a reaktív oxigénszármazékok (pl. hidrogén-peroxid, szuperoxid aniongyök, hidroxil gyök) irreverzibilisen oxidálják, így oxigén jelenlétében az enzim aktivitása gátolt.

A molibdén-tartalmú nitrogenáz enzimkomplex felépítése meglehetősen összetett, hiszen tartalmaz egy két, egyenként 30 kDa-os alegységből álló Fe-proteint, melyben az alegységek között hidat képző $\text{Fe}_4\text{-S}_4$ csoport is található. Az enzimkomplex másik része a kb. 220 kDa nagyságú MoFe-protein, mely két 50 kDa-os α és két 60 kDa-os β alegységből áll, valamint tartalmaz a proteinhez cisztein oldalláncokkal kapcsolódó két P-centrumot és két FeMo-kofaktort (FeMoCo). A P-centrumot 2 db cisztein tiol láncokkal (Cys-S) összekapcsolt $\text{Fe}_4\text{-S}_4$ centrum alkotja, míg a FeMoCo rész szulfid hidakkal ($-\text{S}-$) kapcsolt $\text{Fe}_4\text{-S}_3$ és Fe_3MoS_3 csoportokból áll (Peters és mtsai 1995). Az enzimkomplex ferredoxin elektrondonor, Mg^{2+} és ATP jelenlétében, anaerob közegben ATP-függő szubsztrát redukciót katalizál. Több szubsztráttal is működik az enzimreakció, mely szubsztrátok a N_2 -hez hasonló, kisméretű, hármas kötést tartalmazó molekulák (pl. azid, dinitrogén-oxid, cianid stb.). A N_2 szubsztráttal mért nitrogenáz aktivitás a legnagyobb, és a reakció az alábbi egyenletnek megfelelően megy végbe:



A ferredoxinról a Fe-protein vesz fel elektront, majd az elektronok a MoFe-protein P-centrumainak közvetítésével a FeMoCo részre kerülnek. A szubsztrát kötés és redukció a FeMoCo enzimrészen történik, tehát a MoFe-protein N_2 reduktázként funkcionál (Peters és mtsai 1995).

A gyökérgümő bakteroidjaiban a nitrogenáz működés révén keletkezett NH_3 nagy része átalakítás nélkül választódik ki a gazdasejtbe, mivel a bakteroidokban a glutamin szintetáz (GS)- glutamát szintáz (GOGAT) enzimrendszer aktivitása alacsony. A fertőzött nodulusz sejtekben van GS-GOGAT aktivitás, itt megtörténik a NH_3 egy részének beépítése glutaminba. A glutaminból különböző transzportálható N vegyületek képződnek, melyek a gyökérgümőből a xilémen keresztül a felhasználási helyekre szállítódnak. Bizonyos pillangósokban a transzportforma a glutamin vagy az aszparagin, más fajokban amid származékok (pl. 4-metilén-glutamin) vagy ureidek (Tegeder és Masclaux-Daubresse 2018).

1.2.5.3. Nitrát asszimiláció

Azok a növények, melyek nem alakítanak ki N-kötő szimbiózist, a talajból nitrát aniont vagy kisebb mennyiségben ammónium kationt vesznek fel. A NO_3^- felvételét, transzlokációját, tárolását, redukcióját és a keletkezett NH_3 aminosavakba történő beépítését összefoglaló néven **nitrát asszimiláció**nak nevezzük. A NO_3^- felvételéről az ismert, hogy nagy affinitású és alacsony affinitású transzporterek katalizálják. Az alacsony affinitású szállító rendszer a nitrát transzporter 1/peptid transzporter fehérjecsald (NPF/NTR1) tagjait foglalja magában. A nagy affinitású NO_3^- transzporter az NTR2 fehérjecsaldba tartozik. Mindkét transzporter típus NO_3^-/H^+ szimportot valósít meg (Tegeder és Masclaux-Daubresse 2018). A nitrát felvételét K^+ felvétel kíséri, valamint az elektroneutralitás fenntartása érdekében a nitrátfelvételhez anionleadás (OH^- , HCO_3^-) kapcsolódik. A OH^- leadás lúgosítja a közeget, ezért a nitrátfelvétel a savanyúbb talajokon dominál. A felvett nitrát ion egy része a gyökérsejtekben redukálódik, más része a vakuólumokban raktározódik, részben pedig a xilémen keresztül a hajtásba transzportálódik, ahol redukálódik. A növények a nitrát mellett, képesek az ammónium iont is felvenni telíthető, nagy affinitású uniporterek (ammónium transzporterek, AMT-k) segítségével. A nagy ammónia koncentrációk esetén működő kis affinitású, nem telíthető felvétel valószínűleg a NH_3 (aquaporinokon vagy kation csatornákon keresztüli) diffúziójával valósul meg (Tegeder és Masclaux-Daubresse 2018). Az ammónium felvétel H^+ leadással párosul, így a közeg savanyodik, ami gátolhatja más elemek felvételét (pl. PO_4^- , Ca^{2+} , K^+ , Mg^{2+}).

A növényi sejtekbe felvett nitrát két enzimatis lépésben, 8 elektron felvételével ammónium ionná redukálódik. A nitrát kételektronos redukcióját nitritté a **nitrát reduktázok** katalizálják, míg a nitrit redukció 6 elektronnal a **nitrit reduktázok** működésével zajlik. A nitrát reduktázok 200-400 KDa-os, citoplazmikus enzimek, melyek a magasabbrendű növényekben két alegységből állnak, és tartalmaznak alegységenként egy FAD, egy hem és egy Mo-kofaktor alegységet. Két aktív centrumuk van, melyek közül az egyik a flavin redukciója zajlik NADH-val, a másikon a nitrát redukálódik Mo által. A növényi NR-ok NADH-specifikusak, de a gyökérben kis mennyiségben NADH-val és NADPH-val működő enzimet is kimutattak (Campbell 1996). A nitrit reduktázok kis móltömegű, ferredoxin elektrondonorral redukáló enzimek, melyek a gyökérsejtek prolasztisztaiban, illetve a levélsejtek szintestjeiben lokalizálódnak. Két fő alegységük a $\text{Fe}_4\text{-S}_4$ centrumot tartalmazó és a sirohem. A sirohem egy Fe-tetrahidroporfirin, ami 8 karboxil-csoportot és két redukált pirrol gyűrűt tartalmaz. A nitrit anion, mint szubsztát megkötése és redukciója a sirohemen történik (Campbell és Kinghorn 1990).

A nitrát redukció végeredményeképpen képződő NH_4^+ szabad ionként toxikus, ezért gyorsan be kell építeni szerves vegyületekbe. Növényekben az ún. GS-GOGAT enzimrendszer felelős a N közvetlen beépítéséért. Az oktamer szerkezetű glutamin szintetáz (GS) a glutamátból és NH_3 -ból ATP-függő módon glutamint szintetizál (Eisenberg és mtsai 2000). Plasztiszban és citoplazmában lokalizált GS izoenzimeket azonosítottak a hajtásban, míg a gyökérspecifikus izoenzimek főként citoplazmikusak. A glutamát szintetáz vagy másnéven glutamin:2-oxoglutarát-aminotranszferáz (GOGAT) enzim ferredoxin-függő glutamin-glutamát átalakulást irányít, és mind a hajtásban, mind pedig a gyökérben főként plasztisz-lokalizált (Suzuki és Knaff 2005). A képződő két glutamin egyike a ciklusban marad, a másik kilép és továbbadhatja az amino-nitrogénjét. A glutamát és az α -ketosavak között lejátszódó amino-csoport transzfer eredményeképpen aminosavak keletkeznek, melyek a peptidek és fehérjék építőkövei. Maga a glutamin prekuzora a nukleotid bázisoknak, a koenzimeknek az amidoknak és az ureideknek. A glutamát a δ -aminolevulinsav prekuzora, ezért a hem- és klorofill-szintézisben alapvető fontosságú.

Az előzőekből is láthattuk, hogy a N alapvető fontosságú az aminosavak, fehérjék, nukleinsavak, koenzimek, egyes hormonok, alkaloidok szintéziséhez. Ennek megfelelően a növények nagy mennyiséget igényelnek, vesznek fel és raktároznak a nitrogénből. A növények N-tartalma általában az

összes száraztömeg 0,5-5%-a. Nem megfelelő N ellátottság esetén a hajtás alaphoz közeli levelek sárgulnak, erős hiány esetén teljesen kifehérednek és lehullanak. Ha a N hiány lassan alakul ki, a szár elfásodhat. Ennek oka az, hogy a szénhidrátok nem tudnak elhasználni a N-tartalmú vegyületek képzésére, így azok felhalmozódnak. Továbbá a szénhidrátok, -melyek nem használódnak fel a N metabolizmusban- antocianin szintézisre fordítódnak, ezért bizonyos fajokra (pl. paradicsom, banán) jellemző lehet a lila elszíneződés a leveleken, levélnyeleken, száron. A N hiányos gyökerek elvékonyodnak, de az egész gyökérzet nagyobb kiterjedésű, vagyis a gyökérzetre nézve a N hiány kedvező hatású (Hawkesford és mtsai 2012).

Összegzésképp elmondható, hogy a növények egy kisebb része szimbionta N-fixálás révén jut hozzá a számára hasznosítható nitrogénformához (ammónia). A növények többsége ilyen szimbionta asszociáció kialakítására nem képes, ezért a talajból nitrátot és ammóniát vesznek fel. Az ammónia (ammónium ion) közvetlenül beépíthető az aminosavakba a GS-GOGAT enzimrendszerrel, a nitrátot azonban előbb redukálni kell nitrát reduktázzal és nitrit reduktázzal ammóniává. A nem megfelelő N ellátottság negatív hatású a hajtás fejlődésére, míg pozitívan befolyásolja a gyökérzet méretét, kedvezőtlen gyökér:hajtás arányt kialakítva.

1.2.6. A kén (S) anyagcsere

1.2.6.1. A S körforgalma

Kén vegyületek a legnagyobb mennyiségben a talajokban és a vizekben találhatóak, mint szulfát (SO_4^-). Az atmoszférában kisebb gyakorisággal kén-dioxid (SO_2) és kén-hidrogén (H_2S) található meg. A környezetben előforduló oxidált kén-vegyületek redukálódnak és a redukált kén-vegyületek oxidálódnak élőlények közreműködésével. Minden élőlény képes arra, hogy a környezetben jelenlévő SO_4^- -ot redukció nélkül szerves vegyületekbe, szulfonsavakba és szulfátészterekbe építse be. A növények, egyes mikroorganizmusok és gombák a szulfátot szulfid (S^{2-}) szintre redukálják és aminosavaikba építik, ez a **szulfátredukció** folyamata. Néhány anaerob baktériumtörzs a szulfátot a légzési lánc elektron akceptoraként hasznosítja, vagyis esetükben a szulfiddá való redukálás energianyeréssel párosul. A keletkezett S^{2-} egy részét saját anyagaikba építik, másik része a környezetbe bocsájtódik ki, mint H_2S . Ezt a folyamatot **szulfátlégzésnek** nevezzük. Minden élőlény képes a redukált kén-vegyületek oxidációjára, mely nem jár energianyeréssel. Néhány kemoszintetikus (*Thiobacillus*) és fotoszintetikus (*Chlorobium*) baktériumtörzsben energianyerés történik, és bennük az oxidáció sebessége nagyobb (Láng 2007).

1.2.6.2. Kén asszimiláció

A kénvegyületek asszimilációja a különböző kénformák növényi felvételét, raktározását, transzlokációját, redukcióját és a redukált kén-vegyületek beépítését foglalja magában.

A növények elsődleges kénforrása a talaj szulfátja, de hozzájuthatnak a kénhez a légkörből is, a SO_2 vagy a H_2S felvétele útján. A SO_2 esetén toxicitás léphet fel, tehát az csak egy bizonyos légköri koncentráció alatt hasznosítható a növények számára. Az illékony kénvegyületek a gázcsereenyílásokon át vevődnek fel elsősorban, de a SO_2 a kutikulán át is beoldódik. A növényi szervezetbe jutott SO_2 és H_2S szulfáttá oxidálódik, majd szulfátként (esetleg szulfitként vagy szulfidként) a szulfát asszimiláció folyamatába lép.

A talaj szulfátjának felvétele a gyökérsejtek plazmamembránjában lokalizált, nagy affinitású transzporterrel történik (SULTR), ami H^+/SO_4^- (3:1) kotranszportot valósít meg. Egy szulfátion felvételéhez 3 ATP molekula szükséges. A felvett szulfát legnagyobb részt a xilémen keresztül a levélsejtekbe transzportálódik, ahol bejut a kloroplasztiszokba (foszfát szállítókon keresztül), itt redukálódik. A gyökerekben és más nem fotoszintetizáló szövetben a szulfát redukció csekély mértékű. A szulfát feleslegének raktározása a vakuólumban történik változatlan formában vagy redukciót

követően glutationt felépítve. Ezek a tárolt kén-vegyületek a floémában mobilizálhatóak (Buchner és mtsai 2004).

A szulfát beépítésének első lépése az aminosavakéhoz hasonló szulfát aktiválás. A szulfát anion az ATP-ről képződő AMP-vel reagálva anhidridet képez. A reakciót az ATP szulfuriláz enzim katalizálja, és eredményeként adenozin-5'-foszfoszulfát (APS) keletkezik. A továbbiakban az APS-t egy kináz (ATP:adenililszulfát-3'-foszfo-transzferáz) foszforilálja, és foszfo-adenozin-5'-foszfoszulfáttá (PAPS) alakítja. Az aktiválási reakciókban képződő APS a szulfát-redukció kiindulási vegyülete, a PAPS pedig a szulfát transzfer reakciókban szerepel (Takahashi és mtsai. 2011).

A szulfát transzfer reakciók során a szulfát redukció nélkül épül be szerves kötésbe, és szulfát észterek, valamint szulfonsavak képződnek. Szulfát transzferáz enzimek katalizálják a reakciókat, a szulfát donor pedig a PAPS. Szulfátészterre példaként említhető a vörösmoszatok agar elnevezésű sejtfalkomponense, ami egy poliszacharid-szulfát. A szulfonsavak C-S kötést tartalmaznak, és közéjük tartoznak a fotoszintetikus membránok szulfolipidjei (pl. szulfokinovozil-diacilglicerol, SQDG).

A szulfát redukciós reakciókban a kiindulási vegyület az APS. Ennek szulfo-csoportját az APS-szulfotranszferáz enzim egy kis molekulatömegű tiol karrierre viszi át, ami a *Chlorella* alga esetében a glutation. A karrieren megkötött szulfo-csoportot egy szerves tiosulfonát reduktáz kötött szulfiddá redukálja redukált ferredoxin segítségével. Emellett előfordul egy szabad szulfidot (SO_3^{2-}) szabad szulfiddá (S^{2-}) redukáló enzim is, a szulfid reduktáz, ami a nitrit reduktázhoz hasonlóan shirohem prosztetikus csoportot tartalmaz, és ferredoxin-függő aktivitást mutat. Ennek szerepe a kívülről felvett szulfid (és SO_2) vagy a szulfát-redukció során lehasadó szulfid redukálása lehet. A következő lépésben a kötött (és szabad) szulfid (S^{2-}) O-acetil-szerin (OAS) szénvázához kapcsolódva a cisztein szintáz (OAS-szulfhidriláz) enzim katalizációjával cisztein aminosavat alakít ki. A cisztein nagyobb koncentrációban toxikus, ezért keletkezése után hamar beépül a glutationba (γ -glutamil-ciszteinil-glicin) a kloroplasztiszban. Ez a glutaminból, ciszteinből és glicinből felépülő kis molekulású tiol többes szerepű. Egyrészt jól oldható, tárolható, transzlokálható, mobilizálható kénraktár, másrészt a sejtek redox egyensúlyának egyik fő szabályozója. Redoxállapot változásra képes, aminek megfelelően két állapota van, a redukált (GSH) és az oxidált (GSSG). A glutation antioxidánsként is jelentős, hiszen hatékonyan távolítja el többek között a szuperoxid gyökánionokat. A glutation-S-transzferáz enzimek a glutation redukált formáját konjugálják xenobiotikumokkal, melyek ilyen formában ártalmatlanításra kerülnek. Az ún. fitokelatinok szintén glutation származékok. Ezek a vegyületek nehézfémek komplexálására és vakuólumba irányítására képesek (Hasanuzzaman és mtsai. 2017). A glutationon kívül a cisztein felhasználódik a Fe-S-centrumot vagy SH-csoportot tartalmazó koenzimek és az etilén hormon szintéziséhez is. A hagyma és a mustár íz- és illatanyagai is kéntartalmú szulfoxid, illetve izotiocianát típusú vegyületek (Takahashi és mtsai. 2011).

Az átlagos kéntartalom a növényi szövetekben a szárazanyag 0,2%-a, de a keresztesvirágúak esetén ez az érték 1,1-1,7% is lehet. A nem megfelelő kénellátottság a fehérje metabolizmust érinti, csökken a fehérje és a klorofilltartalom. A N hiányhoz hasonló tünetek jelentkeznek, és amennyiben a S és a N hiány egyszerre érinti a növényt, úgy az idős levelek klorózisa figyelhető meg, míg kedvező N ellátottság esetén a fiatal levelek sárgulnak. Továbbá kicsi, rosszul fejlett, keskeny levelek alakulhatnak ki a kénhiány miatt (Láng 2007).

1.2.7. Egyéb makroelemek (K, P, Ca, Mg)

Az előzőekben részletesen tárgyalt nitrogénen és kénen kívül a növényi szervezet nagyobb mennyiségben igényli a káliumot (K), a foszfort (P), a kalciumot (Ca), és a magnéziumot (Mg) is. A következőkben, azonos szempontok szerint, röviden áttekintjük ezeket a makroelemeket.

1.2.7.1. A kálium (K)

A K a talajban szinte kizárólag szervesen kötött formában fordul elő. Az agyagásványok kristályrácsában kötött rácskálium nem felvehető, míg a talajrészecskék felületén adszorbeált K^+ -ot kicseréléssel fel tudják venni a növények. A talajoldatban oldott K^+ ionok diffúzióval jutnak el a gyökérszőrkökhöz. A K mobilitása a talajban igen kicsi, a művelt talajrétegben a legnagyobb a koncentrációja. Ennek következtében a mélyen gyökerező növényeket (pl. a szőlő) gyakran érinti K hiány. A növényi K^+ felvétel szelektív folyamat. A növényi szervezetben a K mozgása gyors, amit szelektív K csatornák tesznek lehetővé. A K mozgása a membránokon keresztül befolyásolja az ozmotikus potenciált, így a vízmozgást és a turgor nyomást is, valamint a membránpotenciált is. Az apoplast K koncentrációja alacsony, míg a citoplazmában és a kloroplasztiszokban magas (100-200 mM), aminek az elektronneutralizációban van jelentősége (a K pozitív töltése révén semlegesíti az oldható és oldhatatlan anionok töltéseit). A K biológiai szerepei közé tartozik még bizonyos enzimek aktivitásának fokozása. A K ozmoregulátor szerepe révén a sztomatómozgást szabályozza, mely alapvetően fontos a növényi test vízháztartásának fenntartása miatt. A K^+ gyors mozgása irányítja a nasztias levélmozgásokat is (pl. a mimóza levelének csukódása, hüvelyesek fotoperiodikus levélmozgása). Köszönhetően a sokrétű és alapvető regulátor szerepének, a K-ból a növényi szervezet igen nagy mennyiséget igényel (szárazanyag 2-5%-a). Hiánya esetén hamar megfigyelhető a turgor csökkenésből adódó lankadás, majd pedig az idősebb levelek széleinek klorózisa, nekrozisa, a csúcsok perzselődése (Wang és Wu 2017).

1.2.7.2. A foszfor (P)

A P a talajban kalcium-, vas-, alumínium-foszfátok formájában, agyagásványok és humuszanyagok felületén kötve található meg. Savasabb talajból $H_2PO_4^-$, míg lúgosabb talajból HPO_4^{2-} formában tudnak hozzájutni a foszforhoz a növények. A P oxidált formában vesz részt az anyagcsere folyamatokban, és felvételét követően gyorsan (percek alatt) beépül szerves kötésbe. A xilémbe szervesen formában (P_i) kerül, majd szerves molekulák formájában transzlokálódik. A P_i cukorfoszfátokat képez, és másik foszfát-csoporttal kapcsolódva energia gazdag pirofoszfátokat alkot (pl. ATP). A szerves foszfát diészterkötések is kialakítható (pl. nukleinsavakban, foszfolipidekben). A szerves foszfátnak két poolja van a növényi sejtekben: a raktározott a vakuólumban és az anyagcserében résztvevő aktív pool a citoplazmában. Ezen kívül a magokban a fő raktározási forma a fitát, mely a fitinsav (=mioinositol foszfát észtere) kalciumot, magnéziumot, cinket vagy vasat tartalmazó sója. A növények foszfortartalma általában alacsony (a szárazanyag 0,1-0,3%-a), mégis elégtelen rendelkezésre álló koncentrációja esetén a növények rosszul fejlődnek, a levélszövetek merevvé válnak, haragoszölddé válhatnak vagy lilásan elszíneződhetnek. A foszfor jól mobilizálódó és reutilizálódó elem, ezért a hiánytünetek először az idős leveleken jelentkeznek. A N-hez és a S-hez hasonlóan, a P hiánya is kedvezően hat a gyökérzetre (Versaw és Garcia 2017).

1.2.7.3. Kalcium (Ca)

A talajok Ca tartalmának egy része az agyagásványok kristályrácsában kötött, másik része azok felületén adszorbeált, de a talajoldatban is megtalálható 0,5-5 μM koncentrációban. Kétszeresen pozitívan töltött ion formájában veszik fel a növényi gyökerek, és azoknak főleg a sejtfalában kötődik meg nagy mennyiségben. Itt a pektin alapállomány karboxil-csoportjaihoz kötődik, Ca-pektátot kialakítva, melynek mennyisége a szomszédos sejteket elválasztó középlemezben a legnagyobb. A sejten belül a Ca megtalálható még az endoplazmatikus retikulumban, a vakuólumban és a kloroplasztiszokban, és koncentrációja a citoplazmában igen alacsony (0,1-0,2 μM). A citoplazma Ca koncentrációjának megemelkedése jelfunkciót tölt be. A Ca élettani szerepei között meg kell említeni a membránintegritás fenntartását, enzimek aktivitásának növelését, a sejt ozmotikus viszonyainak szabályozását a Ca-oxalát kristályok képződésén keresztül. Általában a növények a Ca tartalma a szárazanyaguk 0,1-5%-át teszi ki, de az érték függ a növény fajtától, szervétől és a növekedési

körülményektől is. A Ca a xilémben mobil a floémában azonban nem, ezért az idős szervekből a fiatalokba nincs transzlokáció. Így a hiánytünetek a fiatal hajtásrészekben mutatkoznak először. Kisméretű, deformált, kanalasodott fiatal levelek, levélszéli perzselődés, klorotikus és nekrotikus foltok megjelenése lehet jellemző. A paradicsom termés jellegzetes rothadást mutat kalcium hiányában (Taylor és Locascio 2004).

1.2.7.4. A magnézium (Mg)

A talajban a Mg, rácsmagnéziumként, felületen abszorbeálva és szabad oldott ionként is megtalálható. Kétszeresen pozitívan töltött ionként (Mg^{2+}) kerül felvételre, majd a növényi szervezetben jelentős mennyiségben sejtfalakhoz kötődik, és Mg-pektát formában van jelen. A Mg a klorofill molekulák porfirin vázának központi szerkezeti eleme, szabályozza a foszfoenol-piruvát-karboxiláz, glutation szintáz, ribulóz-1,5-biszfoszfát karboxiláz/oxigenáz, fruktóz-1,6-biszfoszfátáz enzimeket. A Mg részt vesz továbbá a riboszóma alegységek összekapcsolásában. Szárazanyagra vonatkoztatva a növények Mg tartalma kb. 0,3%. Nem megfelelő Mg ellátottság a klorofilok szintézisét megakadályozza, így a fotoszintetikus fényszakasz működése nem megfelelő, aminek következtében a cukrok és a keményítő akkumulálódik a szövetekben. A hiánytünetek az idős leveleken jelentkeznek, élénk klorózist majd nekrózist kialakítva az érközőkben (Guo és mtsai 2016). A búza, árpa és rozs esetén a klorotikus foltok gyöngysor-szerűen jelennek meg, míg a kukoricán csíkokban figyelhető meg sárgulás, ez az ún. tigrisfoltosodás.

1.2.8. Mikroelemek

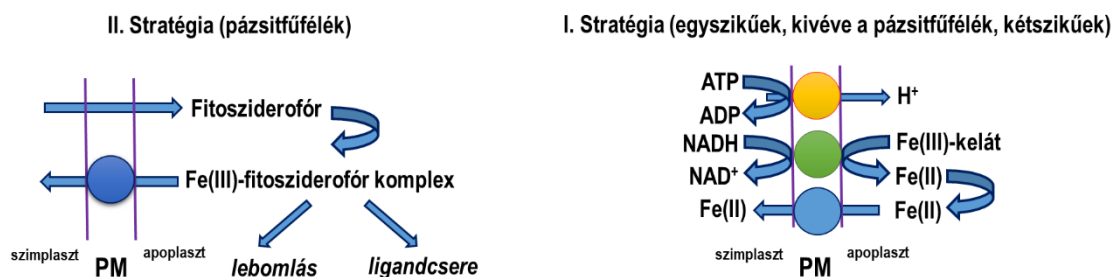
A makroelemeken kívül a növényi szervezet igényli további tápelemek jelenlétét is kisebb mennyiségben. Ezek közül a vas (Fe) növényi táplálkozásélettani vonatkozásait tárgyaljuk részletesebben, a többi mikroelem élettani szerepét és a hiányukban bekövetkező változásokat azonos szempontok szerint egy összefoglaló táblázatban mutatjuk be.

1.2.8.1. A vas (Fe)

A vas a talajban különböző szervesetlen kötésekben van jelen (oxidok, szilikátok, foszfátok, szulfidok) és a talajok vastartalma átlagosan 0,02-10% között mozog. Ez az összvas mennyiség meghaladja a növények vasszükségletét, de a számukra felvehető, oldható vasforma kevés. Alacsony talaj pH-n a vas oldékonyabb, magasabb pH-n azonban kicsapódik, ezért a lúgos talajokon növekvő növények esetén gyakran lép fel vashiányos állapot. A fás szárú növények vaspótlására többféle módszert kidolgoztak. Például a fa törzsébe vas-szulfát rudakat fúrnak, vagy a fák törzséhez vas-kelát oldatot csepegtetnek.

A növények kétféle speciális mechanizmussal képesek felvenni a talajból a vasat (Römheld és Marschner 1986, 1.2.2. ábra). A pázsitfűfélék (II. stratégia) kelátképző anyagot, fitosziderofort (mugineinsav) adnak le a rizoszférába, ami komplexbe viszi a Fe^{3+} -t, és ez a vas-fitosziderofór komplex felvehető a gyökérbe. A mugineinsavat L-metioninból szintetizálják nikociánaminon keresztül egy aminosztransferáz (NAAT) enzimmel. A mugineinsav rizoszférába való leadásának napi ritmusa van, és vashiányra indukálódik a szekréciója. Más egyszikű és az összes kétszikű növény nem tartalmaz NAAT enzimet, így a nikociánamint nem tudják mugineinsavvá alakítani. Ezen növények Fe felvételi stratégiája abban áll, hogy a Fe^{3+} -at a sejten kívül egy reduktáz enzimmel Fe^{2+} -vé redukálják, ami a Fe^{2+} transzporterjük segítségével felvehető forma. A szabad vas nagyobb mennyiségben toxikus, ezért a sejten belül a vasat a nikociánamin komplexálja. A xilémben a Fe-citrátot mutatták ki, mint transzportformát. A növénysejtek összvas tartalmának 80%-át a kloroplasztiszok és a mitokondriumok tartalmazzák. Raktározása ferritin formájában történhet főként a kloroplasztisz sztrómájában. A ferritin 4500 Fe atom tárolására képes (Kim és Guerinot 2007). A vas szükséges a klorofillszintézis enzimeinek aktivitásához, valamint enzimekben molekuláris Fe-ként, hem Fe-ként vagy Fe-S proszterikus csoportként is megtalálható.

Vashiányos állapotot idézhet elő nehézfémek (pl. Cu, Ni, Zn stb.) többlete a rizoszférában, melyek leszorítják a vasat a felvevőhelyekről. Az I. stratégiájú növények esetén vashiány kialakulhat továbbá a meszes, oxigénhiányos talajokon, ahol a magas HCO_3^- koncentráció pufferolja a pH-t a membrán-sejtfal határon, így gátolja a savas kémhatást igénylő Fe(III)-reduktáz enzim működését (mészklorózis). A vashiány megjelenése elsőként a fiatal levelekre korlátozódik, melyek sárgulnak, esetleg egészen kifehéredhetnek. Az oldalgyökerek növekedése gátolt a vas hiánya esetén, és azok vége megvastagszik.



1.2.2. ábra A növények két vas felvételi stratégiája. A pázsitfűfélék (II. stratégia) komplexképző fitosziderofórt leadását követően, majd Fe(III)-at vesznek fel. A többi egyszikű faj valamint a kétszikű növények a Fe(III)-at a sejten kívül redukálják és Fe(II)-t vesznek fel. (Ördögné Dr. Kolbert Zsuzsanna ábrája)

1.2.8.2. Egyéb mikroelemek

A vason kívül esszenciális a növények számára a bór (B), a cink (Zn), klór (Cl), mangán (Mn), molibdén (Mo), a nikkel (Ni) és a réz (Cu). Ezek növényi táplálkozásélettani vonatkozásait az 1. táblázat foglalja össze.

Mikro-tápelem	Előfordulás a talajban	Növényi felvétel és transzlokáció	Biológiai funkció	Hiánytünetek	Referencia
Bór (B)	kötött vagy szabad borát anion ($\text{B}(\text{OH})_4^-$), a felvehető forma kevés, a talaj kiszáradásakor és lúgosodásakor a felvehetősége csökken	(1) bórsav (H_3BO_3) passzív diffúziója (2) bórsav facilitált diffúziója csatornákon keresztül (3) energia-igényes, nagy affinitású bór transzporter (bór hiány esetén)	borát-diészter kötések a sejtfal alapállományát felépítő ramnoglakturonán II. molekulában → sejtfal szerkezet kialakítása	A bórhiány és -érzékenység eltérő. A kétszikűek érzékenyek, az egyszikűek kevésbé érzékenyek a bór hiányra. A fiatal levelek sötétzöldek, vastagok, deformáltak, a növény alacsony növésű. Répatest szívrothadása. Termékek deformálódnak (pl. eper, olajbogyó)	Pandey és Verma 2017
Cink (Zn)	rácscink és az agyagásványok felületén abszorbeált cink, pH, agyag- és szerves anyag tartalom befolyásolja az elérhető Zn mennyiségét, Zn-hiány gyakori	(1) passzív Zn^{2+} diffúzió nem szelektív csatornákon keresztül (2) aktív Zn^{2+} felvétel specifikus transzporterekkel transzlokáció xilémbe, szerves savhoz kötve	enzimek strukturális eleme (pl. szuperoxid-dizmutáz; SOD, aldoláz, szénsav-anhidráz), Zn-ujj motívumot tartalmazó transzkripciós faktorok szerkezeti eleme, triptofán/auxin szintézist segíti	Kevésbé érzékenyek: gabonafélék; közepesen érzékenyek: burgonya, paradicsom, cukorrépa; nagyon érzékenyek: kukorica, komló, len, pillangósok Tünetek: gyenge hajtásnövekedés, kicsi lándzsa alakú levelek, idősebb leveleken az erek között sárga foltok, auxin hiányra visszavezethetőek a tünetek	Tsonev és Lidon 2012
Klór (Cl)	klorid anionként (Cl^-), mobilis, kimosódhat vagy szárazság esetén felső talajrétegben felhalmozódhat	(1) H^+/Cl^- szimporterrel aktívan (2) anion csatornákon keresztül passzívan	mM koncentrációban fő ozmotikum a K^+ mellett, fotoszintetikus vízbontó komplexben az oxidált Mn-t stabilizálja	Klorofób növényfajok: szőlő, dohány, uborka, paradicsom Klór kedvelők: árpa, cukorrépa, retek, spenót A klór hiány ritka, többlet gyakrabban előfordul pl. sóstressz esetén. A toxicitás tünetei: a levélszélek klorózisa, nekrozisa.	Wege és mtsai 2017

1. táblázat A magasabbrendű növények számára esszenciális mikroelemek talajbéli előfordulása, növények általi felvétele és transzlokációja, biológiai funkciója és a hiányukban bekövetkező tünetek.

Az eddigiekben bemutatott makro- és mikroelemeken kívül vannak esszenciálisnak nem minősülő, azonban bizonyos növényfajokra nézve pozitív hatású elemek. Ilyenek a szelén (Se), a szilícium (Si), a nátrium (Na), a kobalt (Co).

Összefoglalás

1. a növények a gyökérzetükön keresztül a talajból veszik fel a nélkülözhetetlen tápelemeket ionok formájában a vízfelvétel folyamatához kapcsolva
2. a talajban a tápelemek a talajrészecskék kristályrácsában, a felületükhöz kötve, és a talajoldatban oldva találhatók meg. Az utóbbi két ionfrakció a növények számára hozzáférhető
3. a talaj jellemezhető a kation-kicserélő kapacitás mérőszámmal, ami agyagos talajokban nagyobb érték, mint homokos talajokban
4. a talaj kémhatása hatással van a tápelemek felvehetőségére
5. a gyökér is befolyásolja a talajt különböző anyagok leadásával (p. protonok, szerves savak, enzimek, cukrok stb.)
6. a mikorrhiza kapcsolat segít a növény ásványi anyag felvételét (ekto- és endomikorrhiza)
7. a tápanyagok optimális koncentrációja maximális növekedést és hozamot eredményez, de ennél alacsonyabb tápanyag mennyiség hiánytüneteket, a tápelemek többlete pedig toxicitást okoz
8. a növények számára 17 elem tekinthető esszenciálisnak. Ezek közül 3 organogén, 6 makroelem és 8 mikroelem
9. a nitrogén a legnagyobb mennyiségben szükséges makroelem, amihez a növények többsége a talajból jut hozzá nitrát vagy ammónia felvételével. A növények egy kisebb csoportja N-fixáló szimbiózis kialakítására képes baktériumokkal.
10. A nitrát a növényben redukálódik, a képződő ammónia pedig beépül glutaminba.
11. A kénhez a növények főként a talaj szulfáttartalma révén jutnak hozzá, majd redukálják és cisztein aminosavba építik azt. Nagy mennyiségű kén raktározódhat glutationként.
12. A Mg és a Ca nagy része a sejtfalak pektinjéhez kötődik, míg a K koncentrációja a citoplazmában magas. A P a N-nel és a S-nel ellentétben nem redukálódik a növényben, hanem oxidált formában vesz részt az anyagcserében.
13. A vas felvételére két stratégiát alkalmaznak a növények: a fitosziderofór leadást követő Fe(III) komplexfelvételt (II. stratégia, pázsitfűfélék) és a Fe(III) redukálását követő Fe(II) felvételt (I. stratégia, kétszikűek, egyszikűek, kivéve pázsitfűfélék).

Ellenőrző kérdések

1. Mit takar a „növényi ásványos táplálkozás” fogalma?
2. Mely talajfázis(ok) jelentős(ek) a növények ásványos táplálkozása szempontjából?
3. Milyen növényi táplálkozást segítő növény-mikroorganizmus asszociációkat ismer?
4. Mi a gyökér protonleadásának jelentősége a tápanyagfelvétel szempontjából?

5. Milyen összefüggés írható fel a növényi szövetek tápanyag koncentrációja és növekedésük mértéke között?
6. Igénylik-e a növények a szerves talajfázis meglétét a növekedésükhöz?
7. Mely tápelemet igénylik a növények a legnagyobb mennyiségben és miért?
8. Milyen lehetőségei vannak a magasabbrendű növényeknek, hogy hozzájussanak a nitrogénhez?
9. Mi a különbség a nitrogénformák és a kénformák felvétele között?
10. Mi a különbség a N, S és a P asszimilációja között?
11. Mely tápelemek esetén lényeges raktár a sejtfal?
12. Miben különbözik egymástól a növények két vaskészletének felvételi stratégiája?

Megvitatandó kérdések

1. Hogyan függ össze a növényi ásványos táplálkozás és a humán táplálkozás?
2. Milyen globális vonatkozásai vannak a növények ásványos táplálkozásának?

Javasolt irodalom

1. Láng Ferenc (szerk.). Növényélettan – Növényi anyagcsere I és II. ELTE Eötvös Kiadó, Budapest Magyarország, 2007.
2. Haraszty Árpád. Növény szerkezet és növényélettan. Tankönyvkiadó, Budapest, Magyarország, 1979.

Felhasznált irodalom

1. Barber SA (1966) The role of root interception, mass-flow and diffusion in regulating the uptake of ions by plants from soil. In: Joint FAO/IAEA Div. of Nuclear Techniques in Food and Agriculture, Vienna (Austria); Technical reports series; (no.65); p. 39-45; IAEA; Vienna (Austria); Panel on limiting steps in ion uptake by plants from soil; Vienna (Austria).
2. Buchner P, Takahashi H, Hawkesford MJ (2012) Plant sulphate transporters: co-ordination of uptake, intracellular and long-distance transport. Journal of Experimental Botany, 55: 1765–1773.
3. Campbell WH (1996) Nitrate reductase biochemistry comes of age. Plant Physiology (Rockville) 111: 355–361.
4. Campbell WH, Kinghorn JR (1990) Functional domains of assimilatory nitrate reductases and nitrite reductases. Trends in Biochemical Sciences 15: 315–319.
5. Eisenberg D, Gill HS, Pfluegl GMU, Rotstein SH (2000) Structure-function relationships of glutamine synthetases. Biochimica et Biophysica Acta 1477: 122–145.
6. Frank AB (1887) Ueber neue Mykorrhiza-Formen. Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft 5: 395–409.
7. Guo W, Nazim H, Liang Z, Yang D (2016) Magnesium deficiency in plants: An urgent problem. The Crop Journal 4: 83–91.

8. Hasanuzzaman M, Nahar K, Anee TI, Fujita M (2017) Glutathione in plants: biosynthesis and physiological role in environmental stress tolerance. *Physiology and Molecular Biology of Plants* 23(2):249–268.
9. Hawkesford M, Horst W, Kichey T, Lambers H, et al. (2012) Functions of Macronutrients. In *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants*. Ed. Marschner P. 3rd edition, pp. 135-150.
10. Kanno S, Arrighi J-F, Chiarenza S, Bayle V, Berthomé R, Péret B, Javot H, Delannoy E, Marin E, Nakanishi TM, Thibaud M-C, Nussaume L (2016) A novel role for the root cap in phosphate uptake and homeostasis. *eLife*. 2016; 5: e14577.
11. Kim SA, Guerinot ML (2007) Mining iron: Iron uptake and transport in plants. *FEBS Letters* 581: 2273–2280.
12. Korcak RF (1987) Satisfying and altering edaphic requirements for acidophilic plants. *Journal of Plant Nutrition* 10: 1071-1078.
13. Liebig J von (1855) *The relations of chemistry to agriculture and the agricultural experiments of Mr. J.B. Lawes*. 1st and 2nd ed. Friedrich Vieweg und Sohn Publ. Co., Braunschweig, Germany.
14. Lucas RE, Davis JF (1961) Relationships between pH values of organic soils and availabilities of 12 plant nutrients. *Soil Science* 92: 177-182.
15. Millaleo R, Reyes-Díaz M, Ivanov AG, Mora ML, Alberdi M (2010) Manganese as essential and toxic element for plants: transport, accumulation and resistance mechanisms. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 10(4): 470 – 481.
16. Pandey AN, Verma P (2017) Boron deficiency and toxicity and their tolerance in plants: a review. *Journal of Global Biosciences* 6(4): 4958-4965.
17. Peters JW, Fisher K, Dean DR (1995) Nitrogenase structure and function: a biochemical-genetic perspective. *Annual Reviews of Microbiology* 49: 335-66.
18. Raja W, Rathaur P, John SA, Ramteke PW (2012) Azolla-Anabaena Association and Its Significance In Supportable Agriculture. *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry* 40: 1–6.
19. Römheld V, Marschner H (1986) Evidence for a specific uptake system for iron phytosiderophores in roots of grasses. *Plant Physiology* 80: 175–180.
20. Sachan P, Lal N (2017) An Overview of Nickel (Ni²⁺) Essentiality, Toxicity and Tolerance Strategies in Plants. *Asian Journal of Biology* 2(4): 1-15.
21. Sardare MD, Admane SV (2013) A review on plant without soil – hydroponics. *International Journal of Research in Engineering and Technology* 2: 299-304.
22. Suzuki A, Knaff DB (2005) Glutamate synthase: structural, mechanistic and regulatory properties, and role in the amino acid metabolism. *Photosynthesis Research* 83: 191–217.
23. Takahashi H, Kopriva S, Giordano M, Saito K, Hell R (2011) Sulfur Assimilation in Photosynthetic Organisms: Molecular Functions and Regulations of Transporters and Assimilatory Enzymes. *Annual Reviews of Plant Biology* 62: 157–84.
24. Taylor MD, Locascio SJ (2004) Blossom-End Rot: A Calcium Deficiency. *Journal of Plant Nutrition* 27: 123-139.
25. Tegeder M, Masclaux-Daubresse C (2018) Source and sink mechanisms of nitrogen transport and use. *New Phytologist* 217: 35-53.
26. Tejada-Jiménez M, Chamizo-Ampudia A, Galván A, Fernández, Llamas Á (2013) Molybdenum metabolism in plants. *Metallomics* 5: 1191 DOI: 10.1039/c3mt00078h
27. Tsonev T, Lidon FJC (2012) Zinc in plants - An overview. *Emirates Journal of Food and Agriculture* 24 (4): 322-333
28. Versaw WK, Garcia R (2017) Intracellular transport and compartmentation of phosphate in plants. *Current Opinion in Plant Biology* 39: 25-30.

29. Wang Y, Wu W-H (2017) Regulation of potassium transport and signaling in plants. *Current Opinion in Plant Biology* 39: 123-128.
30. Weaver JE (1926) *Root Development of Field Crops*. McGraw-Hill, New York
31. Wege S, Gilliam M, Henderson SW (2017) Chloride: not simply a 'cheap osmoticum', but a beneficial plant macronutrient. *Journal of Experimental Botany* 68(12): 3057–3069.
32. White PJ (2012) Long-distance Transport in the Xylem and Phloem. In: *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants* Ed. Marschner P. 3rd edition, pp 49-70.
33. Wolk CP (1996) Heterocyst Formation. *Annual Review of Genetics* 30: 59–78.
34. Yruea I (2005) Copper in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 17(1): 145-156.
35. Zahran HH (2001) Rhizobia from wild legumes: diversity, taxonomy, ecology, nitrogen fixation and biotechnology. *Journal of Biotechnology* 91(2-3): 143-53.

1.3. Fejezet Fotoszintézis.

Írta: Ördögné Dr. Kolbert Zsuzsanna és Dr. Pécsváradi Attila

A fotoautotróf életmódú zöld növények képesek a fény energia hasznosítására (foto-) és egyszerű, szervetlen anyagból, összetett szerves vegyületek előállítására (-szintézis). Egy szóval fotoszintézist képesek végezni, ellentétben a szén-alapú heterotróf életformákkal, melyek a fenti folyamatok egyikére sem képesek. A szerves anyagok fényenergia hasznosítás általi termelése mellett a fotoszintézis másik jelentősége a légkör oxigén (O_2) tartalmának kialakítása, mellyel a zöld növények megteremtették a feltételt az aerob életformák kialakulásához és fennmaradásához. Hiszen az első oxigéntermelő fotoszintézist folytató cianobaktériumok 2,7 milliárd évvel ezelőtti megjelenése tette lehetővé az oxigéndús légkör kialakulását, melyről a legkorábbi bizonyítékaink 2,4 milliárd évvel ezelőtről származnak. A jelenlegi légkörben megtalálható 21 térfogat%-nyi O_2 teljes egészében fotoszintetikus eredetű. Amellett, hogy a fotoszintézis kulcsfontosságú az oxigéndús légkör kialakításában, annak fenntartását, így az aerob életformák túlélését tekintve is elengedhetetlen. A zöld növények fotoszintézise a légkör szén-dioxid (CO_2) szintjét is befolyásolja, hiszen a vegetáció előretörésével és visszaszorulásával párhuzamosan évszakos fluktuáció figyelhető meg a légkör CO_2 koncentrációjában. Könnyen belátható tehát, hogy a fotoszintézis a Földi életünk szempontjából kulcsfontosságú folyamat, melynek megértése mind elméleti, mind pedig gyakorlati szempontból fontos.

Tanulási célkitűzések:

Tudás

- ismerje a fotoszintézis fogalmát
- ismerje a magasabbrendű fotoszintetikus apparátus felépítését, beleértve a kloroplasztiszt, pigmenteket, fotokémiai rendszereket
- ismerje és értse az elektrontranszfer és az energiatranszfer mechanizmusát
- tudja ismertetni a fotoszintetikus elektrontranszportlánc felépítését és működését
- tudja hogyan és hol működik a Calvin-ciklus
- ismerje a Rubisco tulajdonságait, aktiválását
- értse meg a fotorespiráció folyamatát, okait
- tudja ismertetni a fotoszintézis jelentőségét a Földi élet szempontjából
- tudjon megnevezni fotoszintézisre képes organizmusokat
- tudja felírni a fotoszintézis általános egyenletét és az oxigéntermelő fotoszintézis speciális egyenletét
- tudja ismertetni a Hill-reakció lényegi megállapításait
- tudja magyarázni az ATP képződés kemiozmotikus mechanizmusát
- tudja értelmezni a C4 és CAM CO_2 fixálás alapelveit

Képesség

- képes felismerni és értékelni a fotoszintézis hatékonyságát befolyásoló környezeti tényezőket

Attitűd

- átlátja a fotoszintézis (és a növények) jelentőségét a jelenlegi földi bioszféra kialakulásában és fennmaradásában

Autonómia/felelősség

- önállóan véleményt nyilvánít a növényi fotoszintézis és a klímaváltozás közötti kapcsolatról

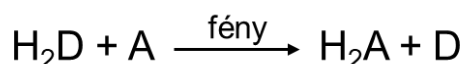
1.3.1. A fényenergia hasznosulása, fotoszintetizáló szervezetek, a fotoszintézis általános reakcióegyenlete

Írta: Ördögné Dr. Kolbert Zsuzsanna

A Napból az atmoszférát elérő energiamennyiség évente 56×10^{23} J, aminek kb. a fele elnyelődik az atmoszférában, így annak csupán a fele (28×10^{23} J/év) éri el a Föld felszínét. A fotoszintézisben hasznosulni képes hullámhosszak energiája ennek szintén csak a fele, kb. 15×10^{23} J évente. A fotoszintézissel előállított szerves anyag mennyisége 2×10^{11} tonna/év, melynek energiatartalma 3×10^{21} J/év. Ez azt jelenti, hogy a fotoszintetizáló szervezetek az arra alkalmas energiának csak 0,2%-át hasznosítják (1).

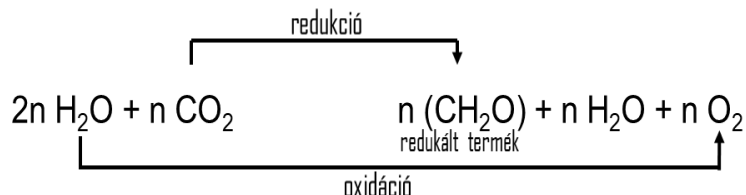
A fotoszintézisre való képesség először a prokarióták körében jelent meg kb. 3,4 milliárd évvel ezelőtt. Ezek a zöld- és bíborbaktériumok nem oxigéntermelő fotoszintézist folytattak. Ezen törzsek egyik képviselője a *Halobacterium halobium*, mely a gerincesek retinájában megtalálható rodopszinhoz nagyon hasonló ún. bakteriorodopszin pigment segítségével abszorbeálja a fotonokat (2). Az első, oxigént termelő, fotoszintetizáló prokarióták a cianobaktériumok voltak, melyek megjelenése 2,7 milliárd évvel ezelőttre tehető. Példaként az egysejtű *Prochloron*-fajok említhetők meg, melyek zsákállatok extracelluláris szimbiontái a trópusi tengerek korallzátonyaiban (3). Az algák vagy moszatok első képviselői a vörös- és barnamoszatok törzseibe tartoztak, és 1,2 milliárd évvel ezelőtt jelentek meg. Ezt követően, 750 millió éve jelentek meg a zöldmoszatok, melyekből kb. 470 millió évvel ezelőtt fejlődtek ki az első magasabbrendű szárazföldi és vízi növények.

Láttuk, hogy a fotoszintézis igen különböző szervezetekben is végbe tud menni, ezért a konkrét reakciók különbözhetnek, mégis egy általános egyenlettel bemutatható a fotoszintézis során lejátszódó eseménysor. Egy redox reakcióról van szó, aminek során elektron (e^-) átadás történik egy donorról (D) egy akceptorra (A), és az elektrontranszferhez az energiát a fény szolgáltatja (1. reakció).



1. reakció: A fotoszintézis általános egyenlete

A nem oxigéntermelő fotoszintézist folytató baktériumok elektron donorként hasznosíthatják a kénhidrogént, hidrogént vagy különböző szerves anyagokat. Az oxigéntermelő, fotoszintetizáló szervezetek döntő többsége a vizet használja fel elektron donorként, hogy redukálja az elektron akceptor szén-dioxidot. A víz elektront ad le, miközben önmaga oxidálódik, és O_2 szabadul fel. Az egyenletből látható, hogy az elnyelt CO_2 -dal azonos mennyiségben képződik az O_2 (2. reakció).



2. reakció: Az oxigéntermelő fotoszintézis reakcióegyenlete

Oxigéntermelés abban az esetben is kimutatható, ha izolált kloroplasztiszokat megvilágítás mellett, mesterséges elektron akceptorok jelenlétében vizsgálunk (Hill-reakció, 4). Ez a kísérlet bizonyította, hogy a fotoszintetikus O_2 termelés a CO_2 jelenlététől (redukciójától) független, vagyis a fotoszintézisnek két szakasza különíthető el. A NADPH-t elektrondonorként már ismerték, ezért kézenfekvő volt, hogy a CO_2 redukció nélkül lejátszódó „fényszakaszban” az elektrontranszportlánc

végző akceptora a NADP⁺, így az egyik végtermék a NADPH. A „sötétszakaszban” pedig a CO₂ redukciója történik meg.

1.3.2. Fény szakasz

Írta: Ördögné Dr. Kolbert Zsuzsanna

1.3.2.1. A fotoszintetikus apparátus szerkezete: kloroplasztisz, pigmentek, fényabszorpció és gerjesztődés

A magasabbrendű növények fotoszintéziséért felelős sejtszervecskéje a **kloroplasztisz**. A levél mezofillum sejtjei 20-60 db lencse alakú, kettős membránnal határolt, prokarióta eredetű kloroplasztiszt tartalmaznak. Sztrómának nevezett alapállománya CO₂ redukciós enzimeket, cirkuláris DNS-t, 70S riboszómákat és keményítőszemcséket tartalmaz. A kloroplasztiszok belsejében, a sztrómába ágyazottan található meg a tilakoid membránrendszer, melyek összetapadó részei a gránumok. A gránumok belsejében összefüggő üregrendszer, lumen alakul ki. A tilakoid membránban fehérjékhez kapcsolódva találjuk a foton abszorpcióért felelős pigmenteket ún. pigment-protein komplexek formájában.

A fotokémia I. törvénye szerint csak az a fény válhat ki fotokémiai reakciót, ami az adott rendszerben elnyelődik, ezért szükség van a fény megkötését végző pigment rendszerre. Minden fotoszintetizáló szervezetben megtalálható pigmentek a klorofillok és a karotinoidok. A vörösmoszatok és cianobaktériumok jellemző pigmentjei a fikobilinek, a nem oxigénfejlesztő, fotoszintetizáló baktériumok pedig bakterioklorofillokat tartalmaznak.

A magasabbrendű növények kloroplasztisaiból acetonnal könnyedén kivonhatóak a **klorofillok**. Jelenleg 10-féle, különböző kémiai szerkezetű és elnyelési spektrumú klorofill formát ismerünk (5). Porfirin vázuk 4 db pirrol gyűrűből, valamint egy ciklopentaton gyűrűből áll, a váz közepén magnézium (Mg²⁺) ion található, a gyűrűrendszer konjugált kettős kötésekkel rendelkezik, amin a gerjeszthetőségük alapul. A klorofill *a* (kl *a*) molekulában a B gyűrűhöz egy metil (-CH₃) csoport, klorofill *b* (kl *b*) esetén pedig formil csoport (-CHO) kapcsolódik, ez a két leggyakrabban előforduló klorofill forma. A klorofillok porfirin vázát egy 20 szénatomos alkohol (fitol) rögzíti a tilakoid hidrofób közegében. Ami a klorofillok abszorpciós tulajdonságait illeti, a látható fény kék és a vörös hullámhossz tartományában mutatnak elnyelést, a zöld hullámhosszú fotonok nagyrésztét azonban visszaverik. A kl *a*-nak van két kitüntetett szerepű formája, a 680 nm-en elnyelési maximumot mutató P₆₈₀ és a 700 nm-en maximális elnyelést mutató P₇₀₀, melyek fotokémiai reakciót katalizálnak. A többi kl *a* és kl *b* forma, valamint a karotinoidok a fényelnyelésben és a gerjesztési energia átadásában szerepelnek.

A klorofillok kísérőpigmentjei a **karotinoidok**, melyek szerepe kettős: gerjesztési energiát adnak le a klorofillok felé, valamint fénykárosodás ellen védő szerepűek. Poliizoprén molekulák, 40 szénatommal, konjugált kettős kötésekkel és a molekula végein α és β-ionon gyűrűkkel. Sárga színűek, és a kék tartományban abszorbeálnak fotonokat. Két csoportjuk a karotinok (pl. β-karotin) és az oxigént is tartalmazó xantofillok (pl. zeaxantin) (6).

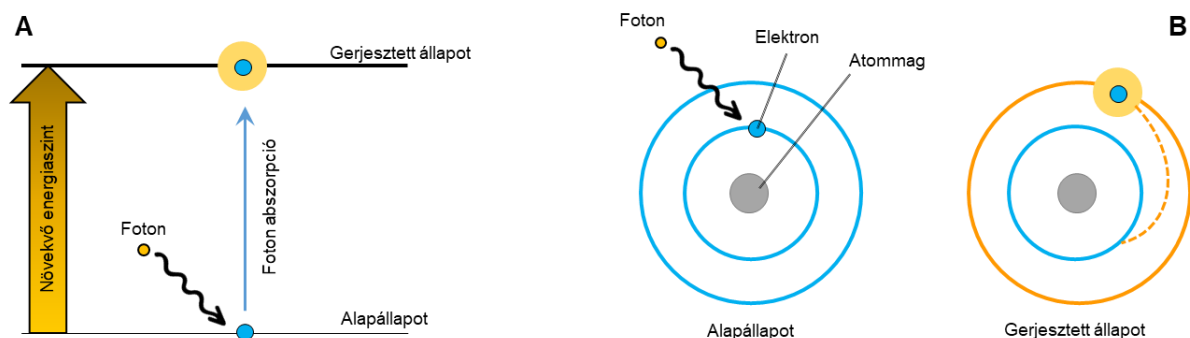
A tilakoid membránok detergenssekkel való kezelését követően gélelektroforézissel kétféle pigment-protein komplex választható szét. A kl *a* tartalmú fehérje komplexek a reakciócentrumokat és az ezeket körülvevő belső antennarendszereket alakítják ki. Ezek a fehérjék a kloroplasztiszban kódoltak, és core complex I-re és II-re (CCI és CCII) választhatók szét. A kl *a*-t és *b*-t is tartalmazó fehérje komplexek fénybegyűjtő funkciót látnak el, és ezesetben a fehérjerész sejtmagi kódolású, citoplazmában szintetizálódó. Ezek light harvesting complex I és II-re (LHC I és LHCII) választhatók szét. Ezek a klorofill-protein komplexek az 1-es fotokémiai rendszerbe (photosystem I, PSI) és a 2-es fotokémiai rendszerbe (photosystem II, PSII) rendeződnek.

A **PSII** négy funkcionális része különíthető el: reakciócentrum, reguláló sapka, proximális antenna, disztális antenna. A reakciócentrumot a D1 és D2 heterodimer fehérje alkotja, mely 5-5

transzmembrán szegmenttel rendelkezik, és 353 aminosavból áll. A reakciócentrumban egy P_{680} kl a dimér, további kl a -k és két feofitin- a (primer akceptor) található. A D1 fehérje tartalmaz egy tirozin aminosav oldalláncot (Y_z), ami a primer elektron donor a P_{680}^+ felé. A D1 és D2 fehérjék további komponensei a plasztokion A és B (PQ_A és PQ_B). A reakciócentrum tartalmaz egy fotoprotektív szerepű citokróm b559-et és a vízbontásban szerepet játszó Mn atomokat is. A reguláló sapka a lumen felőli oldalon kapcsolódik a PSII reakciócentrumához. Két-két 33, 23, 17 kDa-os fehérjéből áll és feltehetően a vízbontáshoz szükséges Ca^{2+} és Cl^- ionokat biztosítja. A proximális antenna két klorofill-protein komplexből áll (CP43 és CP47), és szerepe a fényenergia P_{680} kl a felé továbbítása. A disztális antennarendszer távolabb van a reakciócentrumtól, az LHCII-ből és járulékos klorofill-proteinből áll. Az LHC II-ben a kl a :kl b arány 1:1, ezeken kívül xantofilleket tartalmaz, míg a járulékos klorofill-protein komplexben a kl a :kl b arány 2:1 (7).

A **PSI** reakciócentruma egy PsaA-nak nevezett 83 kDa-os és egy PsaB-nek nevezett 82 kDa fehérjerészből áll, mely tartalmazza a P_{700} kl a -t, 40-50 kl a molekulát és 1-2 β -karotint. Ezeken kívül az A0 kl a monomer és az A1 (K-vitamin vagy fillokinon) valamint ferredoxinok (FeSx, FeSA, FeSB) is található a PSI reakciócentrumában. A PSI tartalmaz egy ferredoxin (Fd)-kötő és egy plasztocianin (PC)-kötő régiót, melyek elektrosztatikus kölcsönhatásba lépnek a molekulákkal (8).

A fénysugárzást diszkrét energiatartalommal bíró fényrészecskék, fotonok esőjeként foghatjuk fel. Fény abszorpciókor a pigment molekula a foton teljes energiáját felveszi, és ennek a megnövekedett energiatartalomnak köszönhetően alapállapotból gerjesztett állapotba kerül. Ez elektron átmenetet okoz a molekulában, hiszen a pigment molekula egy delokalizált π elektronja kötőpályáról lazítópályára kerül (1.3.1. ábra).



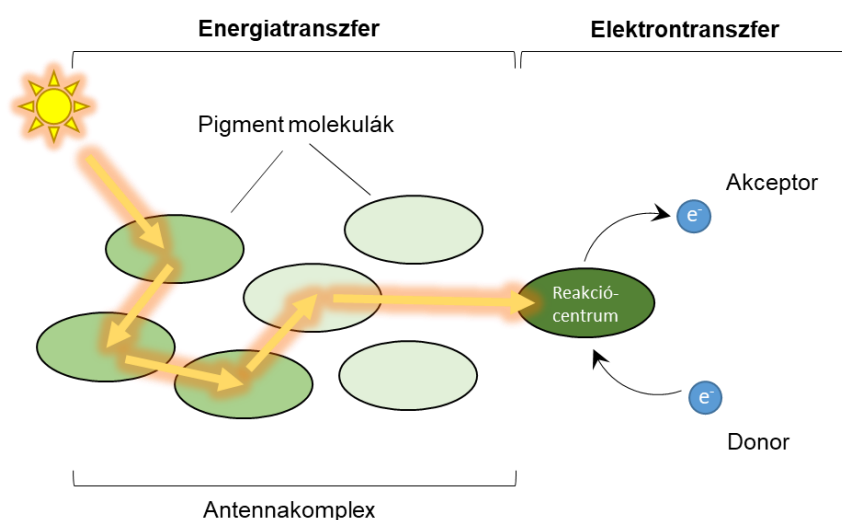
1.3.1. ábra (A) Amikor a molekula elnyel egy fotont (foton abszorpció), felveszi annak energiáját és alapállapotból magasabb energiaszintre, azaz gerjesztett állapotba kerül. (B) Gerjesztett állapotban a molekula egy delokalizált elektronja kötőpályáról átlép az atommagtól távolabbi lazítópályára. (Ördögné Dr. Kolbert Zsuzsanna ábrája)

A P_{680} és P_{700} kl a esetén a lazítópályára juttatott elektron egy közeli akzeptornak adódik át, ami redukálódik, miközben a kl a oxidálódik. Egy közeli donortól elektront felvéve tud újra redukálódni a kl a . Tehát egy fényenergia közvetítette elektron átadás zajlik le a P_{680} és a P_{700} kl a -k közvetítésével, amit **fotoszenzibilizált elektrontranszfernek** nevezünk. Csak két kl a forma, a P_{680} és a P_{700} tud ilyen töltésszeparációval járó folyamatban részt venni, ezek vannak ugyanis olyan molekuláris környezetben, a reakciócentrumokban, ami lehetővé teszi a közvetlen kapcsolatot az elektron donorral és akceptorral.

Mi a feladata a többi kl a pigmentnek, a kl b -nek és a karotinoidoknak a fényelnyelésben? Ezek a pigmentek a foton energiájának elnyelését követően a gerjesztett energiaszintről alapállapotba úgy térnek vissza, hogy a többlet energiát egy szomszédos klorofillnak adják le (**energiatranszfer**), ami

ezáltal gerjesztett állapotba kerül. Ha kémiai azonos molekulák (kl *b*-ről kl *b*-re) között történik az energia átadás energiámigrációnak nevezzük. A transzfer energetikai feltétele az, hogy a donor és az akceptor abszorpció spektrumai átfedőek legyenek. Minél nagyobb az átfedés a spektrumok között, annál hatékonyabb az energiáttranszfer. Továbbá az energia átadás akkor működik hatékonyan, ha a pigmentek egymáshoz közel lokalizálódnak. Egy rendszerben lévő kl *a* és kl *b* pigment molekulák között energiáttranszfer történik, ha az egyik pigmentre jellemző excitációs hullámhosszal történő gerjesztés esetén a másik pigmentre jellemző emisszió is megjelenik. Az energiáttranszfer a rövidebb hullámhossznál abszorbeáló pigment irányából a hosszabb hullámhosszon abszorbeáló pigment irányába történik. A kl *a* és a kl *b* esetén az abszorpció-emissziós spektrumok átfednek és ezek a pigmentek nagy koncentrációban lokalizálódnak a fotokémiai rendszerek reakciócentrumaiban, vagyis esetükben az energiáttranszfer energetikai és térbeli feltétele is teljesül.

A fénybegyűjtő antennarendszerekben a gerjesztési energia átadásának sorrendje a következő: karotinoidok, kl *b*-k és kl *a*-k, majd a reakciócentrum kl *a* (P_{680} vagy P_{700}), melynek abszorpció maximuma hosszabb hullámhossznál van, mint a környezetében lévő pigmenteké, ezért azoktól átveszi az energiát, vagyis energia csapdaként működik. Maga a P_{680} és a P_{700} is abszorbeál fotont, de mivel belőlük kevés van (a teljes kl *a* tartalom csupán 1-2%), az általuk elnyelt foton mennyiség a teljes apparátus által abszorbeált fotonoknak csak 1-2%-a. A rendszert az antennákban működő energiáttranszfer teszi hatékonná azáltal, hogy a P_{680} -t és a P_{700} -t ismételt gerjeszti így megnöveli a fotokémiai reakciók gyakoriságát (1.3.2. ábra, 9).



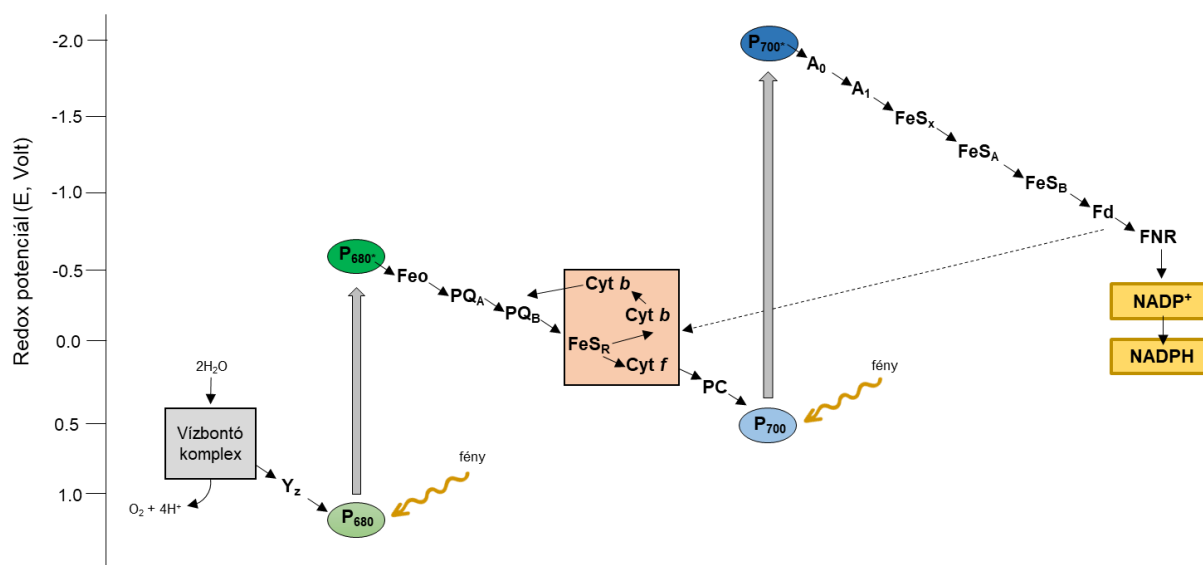
1.3.2. ábra Az energiáttranszfer koncepciója. A pigmentek összessége antennaként begyűjti a fény energiáját és továbbítja azt a reakciócentrum felé, ahol a fotokémiai reakció során egy elektron átadódik az akceptoraknak. Ezt követően egy elektron donor visszaredukálja a reakciócentrum klorofillt. A fényenergia továbbítása az antennarendszerben tisztán fizikai jelenség, kémiai átalakulások nem vesznek részt benne. (Ördögné Dr. Kolbert Zsuzsanna ábrája)

1.3.2.2. A fotoszintetikus elektrontranszportlánc működése

A két fotokémiai rendszernek és a kloroplasztiszban kimutatható citokróm, kinon és ferredoxin típusú vegyületeknek a figyelembevételével Hill és Bendall (10) alkotta meg a fotoszintetikus elektrontranszportlánc Z-sémáját. A séma az elektronok áramlását a víztől a $NADP^+$ felé és az egyes komponensek redox potenciál változásait mutatja be. A redox potenciál egy molekula elektronfelvételi azaz redukálódási képességét adja meg. Jele E , mértékegysége volt (V). A hidrogén redox potenciálja

meg egyezés szerint 0. Ennél nagyobb elektron felvételi képesség esetén az E pozitív előjelű, kisebb képesség esetén pedig negatív előjelű, ekkor a molekula „szívesebben ad le elektront”.

Az alapállapotú P_{680} kl α redox potenciálja +1.2 V, ekkor elektron felvevő képessége nagy. Foton abszorpciót követő gerjesztés hatására a redox potenciálja lecsökken (-0,6 V), ekkor elektron leadási képessége megnő a primer akceptora irányába. Az elektrontranszportlánc további tagjainak redox potenciáljai sorra nagyobb értékek, vagyis hajlamosak elektront felvenni az előző komponenstől. A P_{700} kl α nyugalmi redox potenciálja +0,45 V, ez lehetővé teszi, hogy a PSII felől áramló elektronokat felvegye. Gerjesztés hatására az E értéke -1,4 V-ra csökken, így elektron leadás történik a primer akceptor felé. Az elektrontranszportlánc további tagjainak redox potenciáljai egyre növekvő értékeket vesznek fel, így az elektronok átadása molekuláról molekulára, majd a végső akceptorra ($NADP^+$) megtörténhet. A fotoszintetikus elektrontranszportlánc Z-sémáját a 1.3.3. ábra mutatja be.



1.3.3. ábra Az oxigénfejlesztő fotoszintetikus elektrontranszportlánc Z-sémája. Magyarázat a szövegben. Rövidítések: Feo feofitin; PQ_A plasztokinon A, PQ_B plasztokinon B, FeS_R Rieske-féle vas-kén proteín, Cyt f citokróm f, Cyt b citokróm b, PC plasztocianin, Fd ferredoxin, FNR ferredoxin- $NADP^+$ -oxidoreduktáz (Ördögné Dr. Kolbert Zsuzsanna ábrája)

A PSII reakciócentrumában az elsődleges e^- akceptor a feofitin, ami az e^- felvétel következtében redukálódik, a P_{680} pedig oxidálódik. A feofitintről a PQ_A -ra, majd a PQ_B -re kerül az e^- . Ez utóbbi molekula két elektront, majd a tilakoid sztróma felőli oldaláról két protont (H^+) vesz fel, így QBH_2 -vé redukálódik, ezt követően pedig leszakad a PSII reakciócentrumáról és mobilis formává (PQH_2 -vé) alakul. A kinonok konjugált gyűrűs dionok (két keton csoportot tartalmaznak). Kisméretük és apoláros jellegük lehetővé teszi szabad diffúziójukat a tilakoid lipidfázisában. A gerjesztés hatására oxidálódott P_{680} kl α visszaredukálása a víz bontásából felszabaduló elektronokkal valósul meg. A PSII lumen felőli oldalán lokalizálódik egy Mn tartalmú vízbontó komplex (oxygen evolving complex, OEC vagy M-enzim). A Mn ion oxidációs állapotainak megfelelően az enzimnek négyféle állapota lehet (S_0 , S_1 , S_2 , S_3 , S_4 , ami azonnal S_0 -vá alakul), ami a pozitív töltések összegyűjtését szolgálja a vízbontás számára. Egy ciklusban 4 e^- távozik két vízmolekuláról a Y_2 -re, majd a gerjesztett P_{680} -ra, ehhez pedig 4 foton elnyelése szükséges a PSII reakciócentrumában. Mindeközben egy O_2 molekula szabadul fel, valamint 4 H^+ kerül a tilakoid lumenébe (11).

A mobilis PQH_2 a citokróm b_6/f komplex lumen felőli részén kötődik meg, majd két protonját a lumenbe juttatja. A komplexre juttatott két e^- egyike a vas-kén fehérjén ($Fe-S_R$) keresztül a citokróm f-

re, majd pedig a mobilis PC-ra kerül; innen a gerjesztett állapotú, e^- hiányos P_{700} (+0,45 V) átveszi az elektront.

A másik e^- az ún. Q ciklusba lép, vagyis a citokróm b_6 alacsony, majd magas redox potenciálú hemjére, innen pedig a PQ-ra kerül. Egy e^- felvételével szemikinton ($Q\bullet^-$) alakul ki, majd egy második PQH_2 citokróm b_6/f komplexen való megkötését követően egy újabb e^- és két H^+ felvételével PQH_2 alakul ki. A Q ciklus lényege tehát az, hogy megnövelje a sztrómából a lumenbe irányuló H^+ transzlokációt, aminek az ATP szintézisben van jelentősége (lásd később).

A PSI gerjesztett állapotú P_{700} kl α -ja elektront ad le a reakciócentrumban lokalizált elsődleges akceptorának, az A_0 -nak, ami az A_1 -nek továbbítja azt. Innen kötött ferredoxinok (Fd, vas-kén prosztetikus csoportot tartalmazó fehérjék) veszik át az elektront (sorrendben FeS_x , FeS_A majd FeS_B), és juttatják a mobilis ferredoxinra, ami lineáris transzportlánc esetén a ferredoxin-NADP $^+$ -oxidoreduktáz (FNR) enzim felé továbbítja az elektront. Az FNR egy 33 KDa-os, sejtmagi kódolású enzim, ami a tilakoid membrán sztróma felőli oldalán lokalizálódik. A FAD-ot prosztetikus csoportként köti, ezen kívül egy NADP-t és egy Fd-t kötő hely is van az enzimen. Az enzim két elektront juttat a NADP $^+$ -re, ehhez két egymást követő lépésben egy-egy Fd-t eloxidál. Az első molekula oxidált Fd és az enzim komplexe a szemikinton-FNR, majd az oxidált Fd leválik, helyére redukált lép be. A két e^- felvételét, két H^+ felvétele követi, így kialakul a redukált NADPH, ami a **lineáris elektrontranszport** egyik stabil végterméke. Ha a mobilis Fd-ról a PQ-ra jut vissza az elektron, a transzportlánc ciklikus lesz. Ebben az esetben a sztrómából a lumenbe irányuló H^+ transzlokáció fokozott, ami az ATP képződésnek kedvez. Míg a lineáris elektrontranszport esetén a víz oxidálódik és mindkét fotokémiai rendszer aktív, addig a **ciklikus elektrontranszport** esetén csak a PSI gerjesztődik és ez „meghajtja maga körül az elektronokat”. Ekkor O_2 és NADPH nem termelődik, ATP viszont igen. Az elektrontranszportlánc két típusával a rendszer be tudja állítani a NADP és az ATP termelés arányát.

Az oxigén és a redukált koenzim mellett a fotoszintézis fényszakaszának harmadik terméke az ATP. Az ATP szintézis előfeltétele egy H^+ koncentráció különbség (grádiens) kialakulása a tilakoid membrán két oldala között. A tilakoid lumenben megemelkedik a H^+ koncentráció, hiszen a vízbontásból származó H^+ -ok és a PQ oxidációból származó H^+ -ok a membrán lumen felőli oldalán halmozódnak fel. A H^+ koncentráció különbség a membránban lokalizálódó ATP szintáz enzim működése révén egyenlítődik ki, ami a lumenből a sztrómába irányuló H^+ mozgást irányít (12). A CF_0 - CF_1 típusú ATP szintáz funkciója a tilakoid membrán két oldala között kialakuló protongradiens elektrokémiai energiájának kémiai szabadenergiává alakítása.

1.3.3. Sötét szakasz

Írta: Dr. Pécsváradi Attila

1.3.3.1. Áttekintés

A fotoszintézis első szakaszában, az úgynevezett fényszakaszban NADPH és ATP képződik. Ezek a molekulák használatra fel a CO_2 megkötésekor, a második, ún. sötét-reakcióban. Paradox módon ez is csak fényben megy végbe. A fény ebben a folyamatban nem gerjeszt molekulákat, azonban a reakciók néhány kulcsenzime egy szabályozó mechanizmusnak köszönhetően csak megvilágítva aktív.

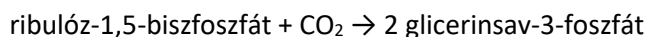
A CO_2 megkötése minden növényben azonos módon zajlik, egy körfolyamatban, amit felfedezője után Calvin-ciklusnak nevezünk. A CO_2 ribulóz-1,5-biszfoszfáthoz kötődik, ez két 3 szénatomos egységre hasad, majd ezek redukálódnak; a folyamat további része regenerálja, újra létrehozza a kiindulási 5 szénatomos molekulát. Ez így a C3-as növényekben játszódik le. Más növényekben a folyamat hatékonyabb, ha ehhez az alapciklushoz egy CO_2 koncentráló mechanizmus társul, a folyamat két külön

sejtre válik szét a C4-es növényekben; vagy időben, éjszakára és nappalra a CAM (Crassulacean Acid Metabolism) pozsgás fajokban.

A fotoszintézis terméke tehát a trióz-foszfát, ami exportálódhat a kloroplasztiszból a citoplazmába, vagy nagyobb részben a kloroplasztiszban marad, és regenerálja a ciklus 5 szénatomos kiindulási molekuláját.

1.3.3.2. A ribulóz biszfoszfát karboxiláz/oxigenáz (Rubisco)

A ribulóz biszfoszfát karboxiláz/oxigenáz (Rubisco) egy energiaigényes ($\Delta G = -35 \text{ kJ mol}^{-1}$) reakciót katalizál, ami emiatt irreverzibilis:



Az enzim oxigenázként is működhet alacsony CO_2 koncentráció esetén:

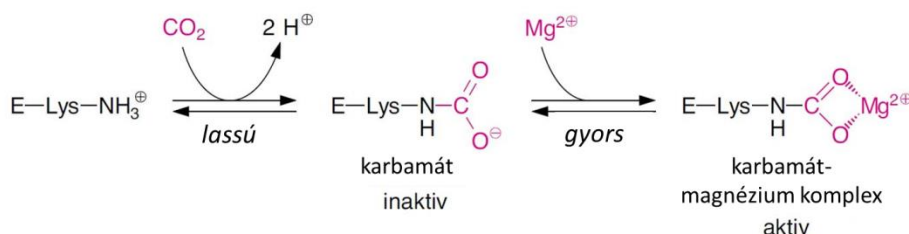


A ribulóz biszfoszfát karboxiláz/oxigenáz (Rubisco) az egyetlen enzim, ami képes a légköri CO_2 -t megkötni és szénvázat létrehozni. A növényekben és a cianobaktériumokban 8 kis (12-18 kDa) és 8 nagy (51-58 kDa) alegységből épül fel. A Rubisco 16 alegységével a legnagyobb enzim a Földön. Növényekben a nagy alegység genetikai információja a plasztisz genomban, a kis alegysége a sejtmagban kódolt. Minden nagy alegységen egy-egy katalitikus hely van. A kis alegységek nem rendelkeznek katalitikus aktivitással, valószínűleg stabilizálják a komplexet, javítják a CO_2 specifitást.

Az enzim rendkívül lassú, a karboxiláz reakció átviteli száma $3,3 \text{ s}^{-1}$, az oxigenáz aktivitása $2,4 \text{ s}^{-1}$. Ezt a lassúságot kompenzálja az enzim hatalmas mennyisége a levelekben, elérheti a fehérjetartalom 50%-át (egyúttal N raktárként is működik). A nagy alegység koncentrációja a sztrómában $4 \cdot 10 \times 10^{-3} \text{ M}$. A légköri 0,035% CO_2 tartalom 25°C -on $11 \times 10^{-6} \text{ M}$ koncentrációjú vizes oldatot hoz létre. A Rubisco mintegy 1000-szer nagyobb koncentrációban van jelen, mint a szubsztrátja.

A Rubisco, bár alacsony K_M értékkel rendelkezik CO_2 -ra ($9 \mu\text{M}$), és K_M értéke az O_2 -re ennek csaknem hatvanszorosa ($535 \mu\text{M}$), mégis minden harmadik, ötödik ribulóz-1,5-biszfoszfát az oxigenáz mellékreakciónak lesz áldozata. A hőmérséklet emelkedésével a CO_2/O_2 specifitás romlik, ez azonban részben ellensúlyozható a CO_2 koncentráció megnövelésével a Rubisco közelében. A C4 és CAM növényekben ez történik (ld. később).

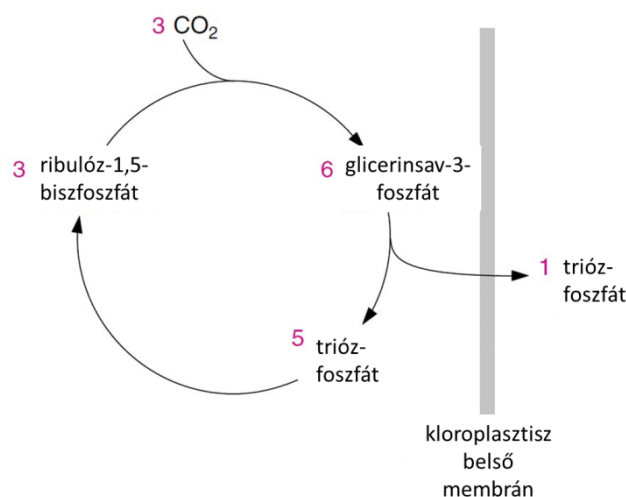
A Rubisco katalitikus alegységeit működésükhöz aktiválni kell. A nagy alegységek 201. pozícióban található lizinje karbamáttá alakul, ami magnézium kötődésével stabilizálódik (1.3.4. ábra).



1.3.4. ábra. A Rubisco aktiválódása. (Forrás: Hans-Walter Heldt, Birgit Piechulla: Pflanzenbiochemie. 5. Auflage. Springer Spektrum, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2015. 164: 6.7, a kiadó engedélyével)

Rubisco aktiválása ATP igényes. Az inaktív Rubisco szorosan köt egy ribulóz-1,5-biszfoszfátot, ami gátolja a működését. A Rubisco-aktiváz enzim ATP felhasználásával leválasztja ezt, és lehetővé teszi a szabad enzim karbamilálódását. A Rubiscot a redukált tioredoxin és az ATP/ADP is aktiválja.

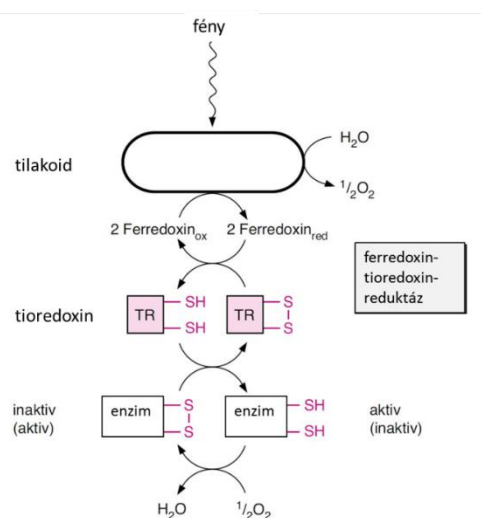
A Calvin-ciklusban 3 CO₂ megkötésének eredménye 6 molekula foszfolglicerinsav szintézise, ami 6 molekula trióz-foszfáttá alakul. Ebből mindössze 1 molekula használható fel a sejt bioszintetikus folyamataiban. A fennmaradó 5 trióz-foszfát a 3 molekula ribulóz-1,5-biszfoszfát regenerálásához szükséges, hogy a Calvin-ciklus tovább folytatódhasson (1.3.5. ábra).



1.3.5. ábra. A Calvin-ciklusban képződő 6 trióz-foszfátból 5 a ribulóz-1,5-biszfoszfátot regenerálja, 1 pedig a sejt bioszintetikus folyamatiban használható fel. (Forrás: Hans-Walter Heldt, Birgit Piechulla: Pflanzenbiochemie. 5. Auflage. Springer Spektrum, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2015. 167: 6.11, a kiadó engedélyével)

1.3.3.3. A Calvin-ciklus szabályozása

A Calvin-ciklust nevezhetjük redukzív pentóz foszfát útnak. A redukzív és oxidatív pentóz foszfát ciklusok enzimei egyaránt megtalálhatók a kloroplasztisz sztrómában. Egyszerre sohasem működnek, mert a redukzív pentóz foszfát útvonal kulcs enzimeit csak megvilágítva működnek, sötétben kikapcsolnak, míg az oxidatív pentóz foszfát útvonal kulcsenzimeit sötétben válnak aktívvá. A redukált tioredoxin molekulák jelentik a "megvilágítást", ugyanis a megvilágított kloroplasztiszban képződnek (1.3.6. ábra).



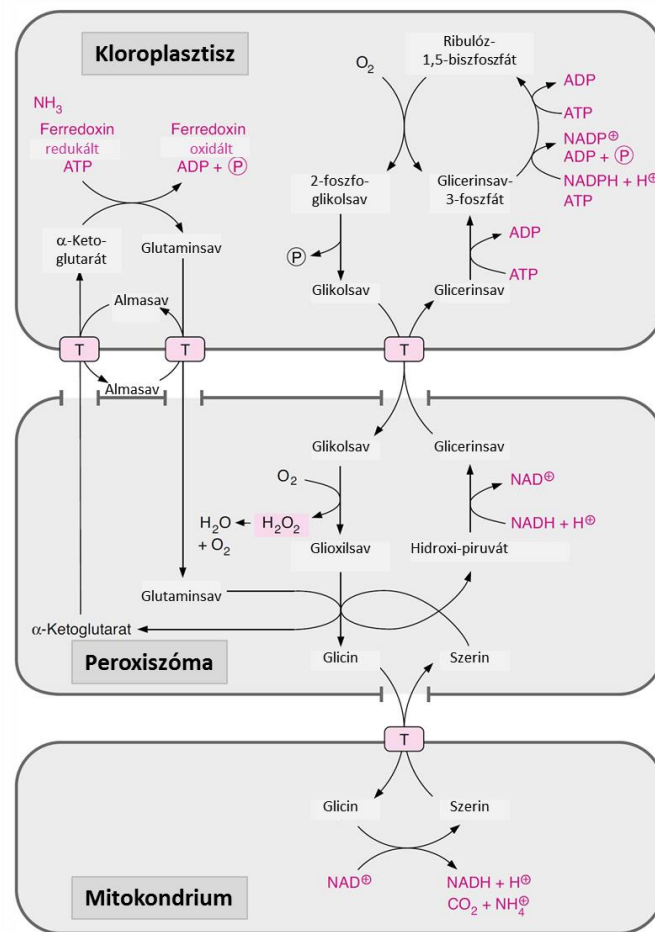
1.3.6. ábra. Az enzimek fény szabályozása redukált tioredoxinnal a kloroplasztiszban. (Forrás: Hans-Walter Heldt, Birgit Piechulla: Pflanzenbiochemie. 5. Auflage. Springer Spektrum, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2015. 178: 6.25, a kiadó engedélyével)

A tioredoxinok kisméretű fehérjék, mintegy 100 aminosavból állnak. Egy reaktív aminosav csoportot, Cys-Gly-Pro-Cys tartalmaznak, ami a fehérje felszínén helyezkedik el. Kétféle redox állapota lehet: két -SH csoport a redukált tioredoxinban, diszulfid kötés (-S-S-) az oxidált tioredoxinban. Kloroplasztisz enzimek, a ribulóz-foszfát-kináz, szedoheptulóz-1,7-biszfoszfátáz, fruktóz-1,6-biszfoszfátáz, a CF-ATPáz, a Rubisco-aktiváz aktiválódnak a redukált tioredoxinnal, de inaktíválja a glükóz-6-foszfát dehidrogenázt, az oxidatív pentóz foszfát ciklus első enzimét (1.3.7. ábra).

1.3.7. ábra. A redukzív és oxidatív pentóz-foszfát ciklusok szabályozása. A kiemelt enzimek aktivitása nő (+) vagy csökken (-) a jelzett faktorok hatására. TR= redukált tioredoxin, ΔpH =a sztróma fénytől függő lúgosodása, Mg^{2+} = emelkedése a sztrómában. A Rubisco aktiválása az aktiváz enzimen keresztül történik. (Forrás: Hans-Walter Heldt, Birgit Piechulla: Pflanzenbiochemie. 5. Auflage. Springer Spektrum, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2015. 182: 6.27, a kiadó engedélyével)

1.3.3.4. Fotorespiráció: a Rubisco oxigenáz aktivitása

A sok lépéses reakciósor három organelumban történik (1.3.8. ábra). A peroxiszómában a glikolsav glioxilsavon át glicinné alakul. A folyamatban H_2O_2 , veszélyes reaktív oxigénfaj, képződésével jár. Ez a kloroplasztiszbán, vagy a mitokondriumban jelentős károkat okozna, ha ott zajlana ez a folyamat.



1.3.8. ábra. A fotorespiráció folyamata. A három oranellumban zajló reakciósor terméke CO_2 és NH_3 a mitokondriumban képződik, de a kloroplasztiszban mindkettő reasszimilálódik. A képződő glicerinsav a Calvin-ciklusba lép be. (Forrás: Hans-Walter Heldt, Birgit Piechulla: Pflanzenbiochemie. 5. Auflage. Springer Spektrum, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2015. 186:7.1., a kiadó engedélyével)

Mindemellett a fotorespirációt nem tekintjük egyértelműen káros folyamatnak a növény számára. A NADPH fogyasztásával megelőzi a sejt "túlredukáltságát", az ATP fogyás is hasznos a sejt aktuális élettani helyzetében.

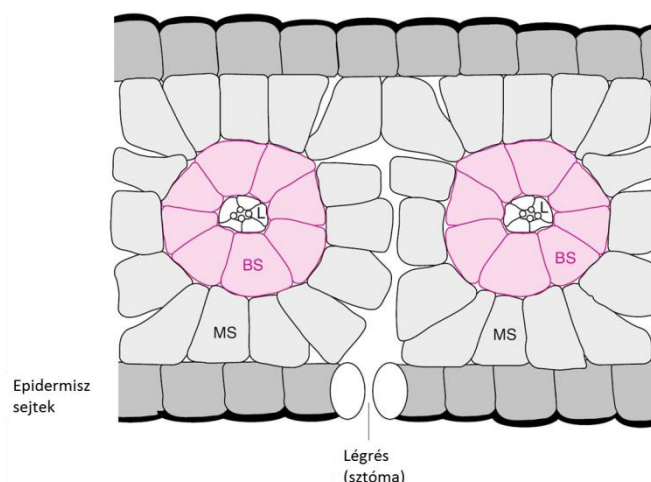
1.3.3.5. A kompenzációs pont

Ha egy fotoszintetizáló növényt a levegőjével együtt egy zárt üvegdobozba helyezünk és megvilágítjuk, akkor meghatározhatjuk a kompenzációs pontot. A kompenzációs pont az a CO_2 koncentráció, amikor a Rubisco karboxiláz aktivitásából származó CO_2 fogyás és a Rubisco oxigenáz aktivitásával összefüggő fotorespiráció CO_2 termelése egyensúlyban áll, azaz nincs netto CO_2 fixálás. A kamra CO_2 koncentrációja egy állandó értéket vesz fel, amit megmérhetünk. Ez a C3-as növényeknél 35-70 ppm gázfázisban, C4-es növényeknél 5 ppm gázfázisban. Ez azt mutatja, hogy a C4 fotoszintézisű növények CO_2 fixáló folyamata hatékonyan működik akacsony szén-dioxid szint mellett is. Ha a növény fotoszintézise alacsonyabb CO_2 szinten is működőképes, ez hatékonyan csökkenti a vízfelhasználást, ami a C4-es növényeknél 400-600 mol H_2O /1 mol CO_2 , a C3-as növényeknél ez az érték 700-1300.

1.3.3.6. A C4-es növények fotoszintetikus CO₂ asszimilációja

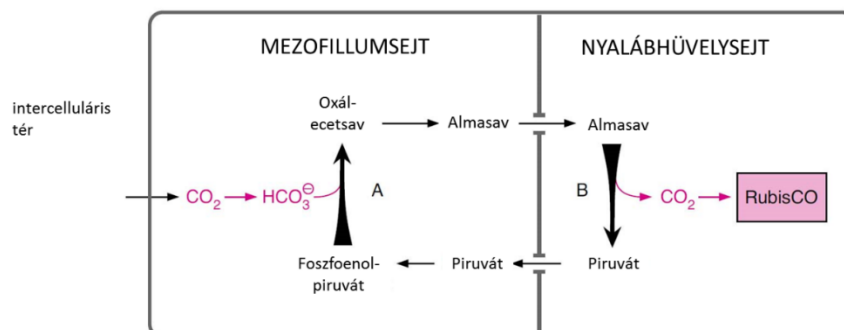
A C4-es növények hatékony CO₂ koncentráló mechanizmussal rendelkeznek, amely biztosítja az állandó, és megfelelően magas CO₂ koncentrációt a Rubisco közelében. Ezzel képes kiküszöbölni az CO₂ szint csökkenésével indukálódó oxigenáz aktivitását, azaz a fotorespiráció folyamatát.

A C4-es növények melegebb éghajlatról származnak, ahol a magasabb hőmérséklet miatt amúgy is rossz a Rubisco CO₂/O₂ szelektivitása. Ilyen pl. a kukorica. Sajátos levélanatómiával rendelkeznek ezek a növények (1.3.9. ábra). A Calvin-ciklus csak az edénynyalábok körül koszorúszerűen elhelyezkedő nyalábhüvely sejtekben működik. Ezt az szerkezetet hívjuk Kranz-anatómiának (Kranz = koszorú németül).



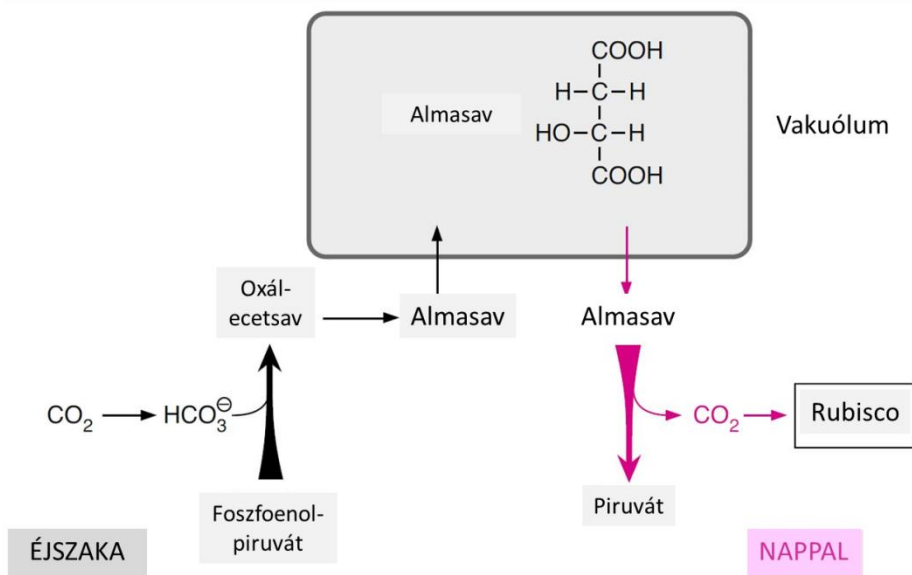
1.3.9. ábra. A C4-es növények levelének keresztmetszete. Az edénynyalábokat koszorúszerűen veszik körbe a nyalábhüvely sejtek. (Forrás: Hans-Walter Heldt, Birgit Piechulla: Pflanzenbiochemie. 5. Auflage. Springer Spektrum, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2015. 214: 8.8, a kiadó engedélyével)

A C4-es növények a CO₂ megkötést két sejtre bontva végzik. A mezofillumsejtben nem működik a Calvin-ciklus. A CO₂-t foszfoenol-piruváthoz kapcsolják, és oxálecetsav (a 4 C-atomos intermediér, amiről ez a folyamat a nevét kapta), almasavvá alakul. Az almasavat a nyalábhüvely sejtbe transzportálja, ahol szén-dioxidra és piruvátra bomlik. A CO₂ megfelelő koncentrációban áll rendelkezésre az ebben a sejtben működő Rubisco, Calvin-ciklus számára. A piruvát visszashállítódik a mezofillum sejt körfolyamatába (1.3.10. ábra).



1.3.10. ábra. A C4-es növények CO₂ megkötése két sejtre oszlik. A mezofillum sejt almasavként fixálja, majd ezt a Calvin-ciklust működtető nyalábhüvely sejtbe transzlokálja. (Forrás: Hans-Walter Heldt, Birgit Piechulla: Pflanzenbiochemie. 5. Auflage. Springer Spektrum, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2015. 214: 8.9, a kiadó engedélyével)

A CAM (=Crassulacean Acid Metabolism) a pozsgásokban működik. Ezek a növények sivatagi, száraz, forró helyeken élnek, sztomáikat éjszaka nyitják, amikor hűvösebb, párásabb a levegő. Ezzel elkerülik a vízvesztést, de a nappal során a fotoszintézis nem jutna elég szén-dioxidhoz. A CO₂ felvétele és fotoszintetikus fixálása időben válik szét (1.3.11. ábra).

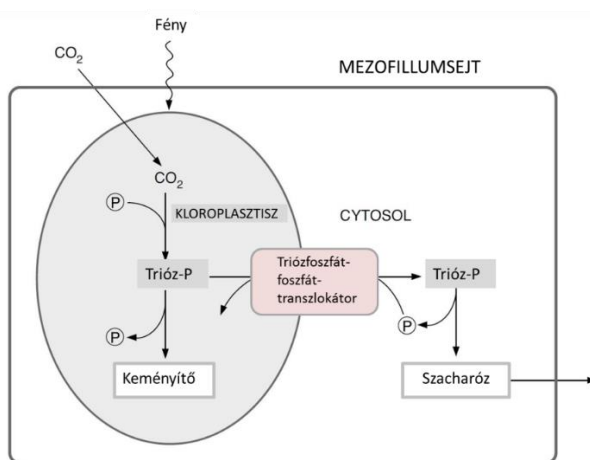


1.3.11. ábra. CAM növényekben a CO₂ megszerzése és felhasználása időben szétválik. (Forrás: Hans-Walter Heldt, Birgit Piechulla: Pflanzenbiochemie. 5. Auflage. Springer Spektrum, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2015. 225: 8.16, a kiadó engedélyével)

Az éjszaka nyíló gázcserenyílásokon át felvett szén-dioxidot a növény oxálecetsavon át almasavvá alakítja, amit a vakuólumban raktároz. Innen nappal, amikor a fotoszintézis már működik effluálja, és a plasztiszban bontja, a felszabaduló CO₂ a Calvin-ciklusban a Rubisco által szénvázzá asszimilálódik.

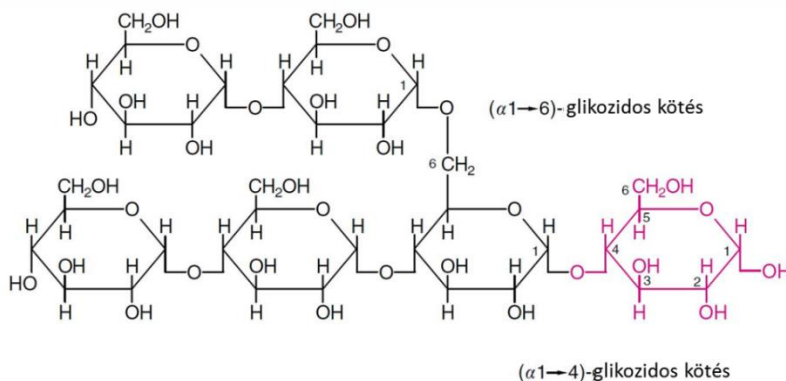
1.3.3.7. A Calvin-ciklusban megkötött szénváz sorsa: a szénhidrátok szintézise

A Calvin-ciklusban szintetizált minden 6 trióz-foszfátból 1 molekula a sejt szénhidrát szintézisére fordítható, vagy más vegyületek szénvázaként használható fel (1.3.12. ábra).



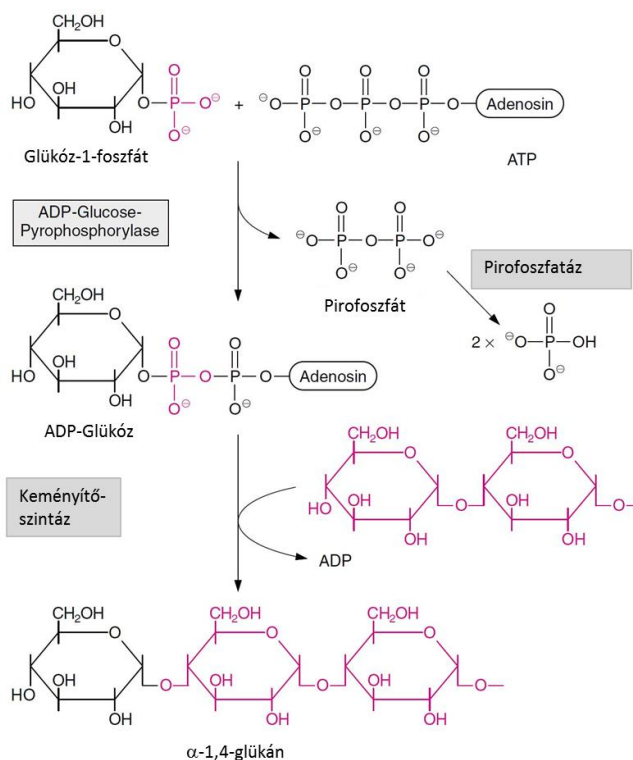
1.3.12. ábra. A Calvin-ciklusból származó trióz-foszfát felhasználása a sejben. (Forrás: Hans-Walter Heldt, Birgit Piechulla: Pflanzenbiochemie. 5. Auflage. Springer Spektrum, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2015. 232: 9.1, a kiadó engedélyével)

A keményítő mindig a funkcionális plasztiszokban, kloroplasztiszban, amiloplasztiszban képződik. Az amilóz mintegy 1000 glükóz α -1,4 kötések tartalmazó polimerje. Az amilopektin elágazó, 10^4 - 10^5 db molekula glükózból áll, az α -1,4 kötésekön kívül 20-25 glükózonként elágazik, α -1,6 kötésekkel (1.3.13. ábra).



1.3.13. ábra. A keményítő szerkezete. A jobbra a jelzett glükóz egység az ún. redukáló vég. (Forrás: Hans-Walter Heldt, Birgit Piechulla: Pflanzenbiochemie. 5. Auflage. Springer Spektrum, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2015. 233: 9.2, a kiadó engedélyével)

A keményítő szintézise (1.3.14. ábra) ADP-glükózból történik. Regulációs szempontból fontos az ADP-glükóz-pirofoszforiláz enzim, ami a nitrogén-ellátottságtól függően működik. A bőséges N ellátás gátolja a működését. Csökken a növény keményítőkészlete, raktározása, inkább a hajtásnövekedés kerül előtérbe.

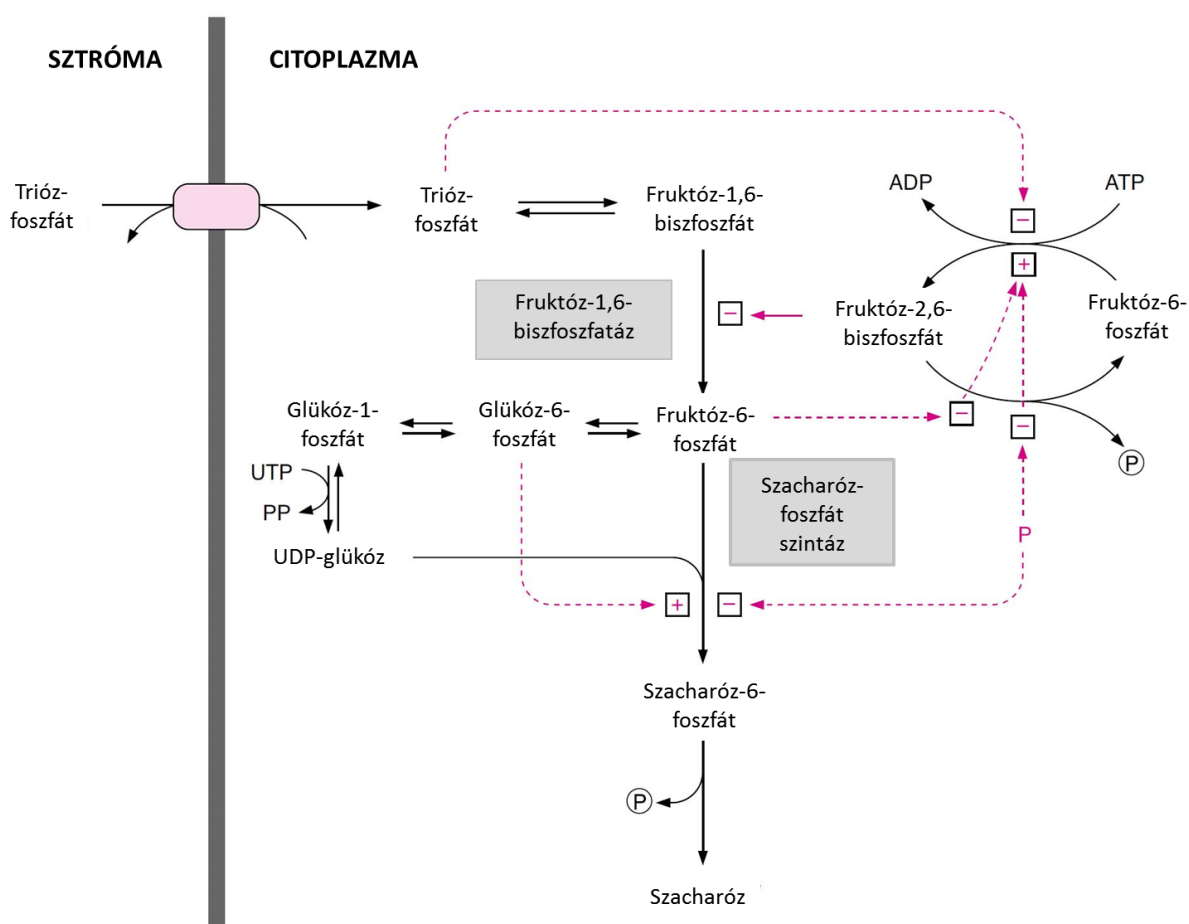


1.3.14. ábra. A keményítő szintézise a plasztiszban. (Forrás: Hans-Walter Heldt, Birgit Piechulla: Pflanzenbiochemie. 5. Auflage. Springer Spektrum, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2015. 236: 9.7, a kiadó engedélyével)

A szacharóz szintézise a citoplazmában történik (1.3.15. ábra). A trióz-foszfát, a kloroplasztisz belső burkoló membránjában található trióz-foszfát/foszfát transzlokátoron át (antiporter) kerül a citoplazmába. Ha a citoplazma anyagcseréje aktív, akkor a képződő foszfátért cserébe léphet ki a plasztiszból a citoplazmába a trióz-foszfát. A plasztisz membrántranszportja főként a belső burokmembránban lokalizált, a külső membrán porin komplexein az átjutás egyszerű és gyors.

Az ábrán a szaggatott nyilak a szabályozási utakat jelzik. A fruktóz-2,6-biszfoszfát nem a reakciósor köztiterméke, hanem egy regulátor. A szacharóz-foszfát-szintáz nem csak a glükóz-6-foszfát serkenti, hanem poszttranszlációsan is szabályozott. Egy protein-kináz/foszfatáz szabályozó fehérjepár kitüntetett helyzetű szerin aminosavakat foszforilál, amire 14-3-3 fehérje kapcsolódik. A komplex inaktív.

Más glükóz polimerek, a β -1,4 kötésű cellulóz, és a β -1,3 kötéseket tartalmazó kallóz extracellulárisan polimerizálódik. A fruktóz polimerei, a fruktánok a vakuólumban raktározódnak.



1.3.15. ábra. A szacharóz szintézise. (Forrás: Hans-Walter Heldt, Birgit Piechulla: Pflanzenbiochemie. 5. Auflage. Springer Spektrum, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2015. 254: 9.14, a kiadó engedélyével)

Összefoglalás

1. A fotoszintézis során a növények a fény energiájának hasznosítása révén egyszerű szervetlen anyagból (CO_2), összetett szerves molekulákat (glükóz) szintetizálnak, miközben oxigént termelnek és a légkör CO_2 szintjét is befolyásolják.
2. A fotoszintetizáló szervezetek között találunk baktériumokat, algákat és magasabbrendű növényeket is. A baktériumok között vannak nem oxigénfejlesztő fotoszintézist folytatók, és oxigéntermelők cianobaktériumok is. A magasabbrendű növények fotoszintézise során oxigén szabadul fel.
3. Az oxigéntermelő fotoszintézis során a víz (elektron donor) oxidálódik, a CO_2 pedig elektron akceptorként redukálódik, így szénhidrátok keletkeznek.
4. A Hill-reakció bizonyította, hogy a fotoszintetikus O_2 termelés és a CO_2 redukció egymástól független folyamatok, vagyis a fotoszintézis egy „fényszakaszra” és egy „sötétszakaszra” különül.
5. Magasabbrendű növények esetén a fotoszintézis a kloroplasztiszok tilakoid membránrendszerében (fényszakasz) és sztrómájában (sötétszakasz) zajlik. A foton abszorpcióért a klorofill és a karotinoid pigmentek a felelősek.
6. A pigmentek pigment-protein komplexek formájában találhatók meg a tilakoidban, amik az 1-es és a 2-es fotorendszert (PSI és PSII) alkotják.
7. A fotorendszerek reakciócentrumában található a P_{680} és a P_{700} kl α , melyek töltésszeparációval járó elektrontranszportot valósítanak meg (fotokémiai reakciót katalizálnak). A többi klorofill és karotinoid forma a gerjesztési energia P_{680} illetve P_{700} felé továbbításáért, az ún. energiáttranszfer lebonyolításáért felelős a fotokémiai rendszerek antennakomplexeiben.
8. A fotoszintetikus elektrontranszportlánc Z-sémája a komponensek redox potenciál változásait ábrázolja. Gerjesztés hatására a P_{680} és a P_{700} nagy redox potenciálja lecsökken, ez elektron leadására teszi képessé őket.
9. A fotoszintetikus elektrontranszportlánc komponensei és az elektronátadás iránya: $\text{víz} \rightarrow \text{Y}_Z \rightarrow \text{P}_{680} \rightarrow \text{feofitin} \rightarrow \text{PQ}_A \rightarrow \text{PQ}_B \rightarrow \text{citokrómb6/f} \rightarrow \text{plasztocianin} \rightarrow \text{P}_{700} \rightarrow \text{A}_0 \rightarrow \text{A}_1 \rightarrow \text{FeS}_x \rightarrow \text{FeS}_a \rightarrow \text{FeS}_B \rightarrow \text{mobilis ferredoxin} \rightarrow \text{FNR} \rightarrow \text{NADP}^+$
10. A P_{680} kl α gerjesztése következtében fellépő elektronhiányos állapotot a vízbontásból származó elektronok állítják helyre. A vízbontó M-enzim 4 állapotot vehet fel, miközben 2 vízmolekuláról 4 elektront és 4 protont távolít el, és O_2 szabadul fel.
11. Az ATP képződés alapja az elektrontranszportlánc működése közben, a tilakoid két oldal között kialakuló H^+ koncentráció különbség, amit az ATP szintáz enzim egyenlít ki, miközben ATP-t képez.
12. A lineáris elektrontranszportlánc termékei: O_2 , ATP, NADPH, a ciklikus elektrontranszportlánc termékei: ATP.
13. A Calvin-ciklusban a CO_2 a ribulóz-1,5-biszfoszfáthoz kapcsolódik a Rubisco enzim katalízisével.
14. A ciklus regenerálja a felhasznált ribulóz-1,5-biszfoszfátot, 6 molekula trióz-foszfátból 1 molekula használható fel szénhidrát szintézisre.
15. A Rubisco szabályozott, karboxiláz aktivitása mellett az oxigenáz aktivitása a fotorespiráció kiváltója.
16. A kompenzációs pontban a Rubisco karboxiláz és oxigenáz aktivitása nem okoz nettó CO_2 termelést vagy fogyást.
17. A C4-es és CAM fotoszintézisű fajok élettanilag, morfológiailag alkalmazkodtak a környezetükhöz, hatékony CO_2 koncentráló mechanizmussal rendelkeznek.
18. A keményítő szintézise a kloroplasztiszban vagy amiloplasztiszban történik.
19. A szacharóz a citoplazmában szintetizálódik.

Ellenőrző kérdések

1. Hogyan befolyásolja a zöld növények fotoszintézise a légkör összetételét?
2. A pigmentek mely szerkezeti tulajdonságai teszik lehetővé a foton abszorpciót és gerjesztődést?
3. Mi a különbség az elektrontranszfer és az energiatranszfer között? Milyen molekulák között játszódnak le, a fotoszintetikus apparátus mely részében?
4. Mi a lényege a citokróm b6/f komplexben működő Q-ciklusnak?
5. Mi az oka annak, hogy a fotoszintetikus elektrontranszportláncnak van lineáris és ciklikus formája is?
6. Milyen irányú változást okoz a foton abszorpciót követő gerjesztődés a P₆₈₀ és a P₇₀₀ kl a redox potenciáljában?
7. Mi a Calvin-ciklus feladata?
8. Milyen aktivitásokkal rendelkezik a Rubisco?
9. Mi az oka a fotorespirációnak?
10. A C4 és CAM növények hogyan kerülik el a fotorespirációt?
11. Hogyan jut ki a citoplazmába a trióz-foszfát?

Megvitatandó kérdések

1. Milyen gyakorlati jelentőségei és felhasználási területei vannak a növények fotoszintézisére vonatkozó ismereteknek?
2. Miért hasznos a növényi sejtek magas Rubisco tartalma?

Javasolt irodalom

1. Taiz L, Zeiger E (szerk.). Plant Physiology – 5th edition. Sinauer Associates Inc., USA, 2010.
2. Buchanan BB, Gruissem W, Jones RL (Eds) Biochemistry and molecular biology of plants. Second Edition. American Society of Plant Biologists, 2015.

Felhasznált irodalom

1. Láng F (szerk) Fotoszintézis. Növényélettan. A növényi anyagcsere I. ELTE Eötvös Kiadó 2007, pp. 177-264.
2. Henderson R (1977) The purple membrane from *Halobacterium halobium*. Ann. Rev. Biophys. Bioeng. 6:87-109.
3. Schreiber U, Gademann R, Ralph PJ, Larkum AWD (1997) Assessment of photosynthetic performance of *Prochloron* in *Lissoclinum patella* in hospite by chlorophyll fluorescence measurements. Plant Cell Physiol. 38:945-951.
4. Hill R (1937) Oxygen evolution by isolated chloroplasts. Nature (London) 139: 881–882.
5. Belous O, Klemeshova K, Malyarovskaya V (2018) Photosynthetic pigments of subtropical plants. Photosynthesis - From Its Evolution to Future Improvements in Photosynthetic Efficiency Using Nanomaterials. pp. 31-52.
6. Lichtenthaler HK (1987) Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. Methods Enzymol. 148: 350-382.

7. Rhee K-H, Morris EP, Barber J, Kühlbrandt W (1998) Three-dimensional structure of the plant photosystem II reaction centre at 8Å resolution. *Nature* 396:283-286.
8. Ben-Shem A, Frolov F, Nathan Nelson N (2003) Crystal structure of plant photosystem I. *Nature* 426:630-635.
9. Taiz L, Zeiger E (szerk.). *Plant Physiology* – 5th edition. Sinauer Associates Inc., USA, 2010. pp. 169-170.
10. Hill R, Bendall F (1960) Function of the two cytochrome components in chloroplasts: a working hypothesis. *Nature (London)* 186: 136–137.
11. Kok, B., B. Forbush, and M. McGloin. 1970. Cooperation of charges in photosynthetic O₂ evolution. I. A linear four step mechanism. *Photochem. Photobiol.* 11:467–475.
12. Mitchell P, Moyle J (1967) Chemiosmotic hypothesis of oxidative phosphorylation. *Nature* 213:137–139.
13. Heldt H W, Piechulla B (2015) *Pflanzenbiochemie*. 5. überarbeitete Auflage, Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

2. Rész A növények növekedésének és fejlődésének szabályozási szintjei

A növények növekedését és fejlődését az egyedfejlődés genetikai programja hajtja, amit azonban nagymértékben befolyásolnak a külső környezeti tényezők, úgymint a fény, a víz, a CO₂ és az ásványi tápanyagok rendelkezésre állása, a hőmérsékleti viszonyok, kórokozók vagy kártevők megjelenése. A növényi sejtek nem képesek helyváltoztatásra, így méretük, alakjuk változása, illetve osztódásaik száma és iránya, valamint szabályozott elhalásuk a növényi növekedés és morfogenezis alapjai. A növényeknek nincsenek specializált érzékszerveik. A külső környezeti tényezőket, mint pl. a fényt is, az egyedi sejtek érzékelik és kommunikálják a többi sejt felé komplex módon befolyásolva a növény növekedését, fejlődését. Ebben a részben azokat a molekuláris és sejt-szintű szabályozási folyamatokat tekintjük át, melyek a később tárgyalandó hormonális, fiziológiai és egyedfejlődési folyamatokban fontos szerepet játszanak.

2.1. Fejezet. A növényi genom és működésének szabályozása

Írta: Dr. Csizsár Jolán

A fejezet a növények felépítését, növekedését és működését meghatározó genetikai információ általános és specifikus sajátosságait ismerteti. A genetikai alapfogalmak összefoglalásán túl bemutatásra kerülnek a genom és gének szerkezeti elemeit és a gének kifejeződését meghatározó fontosabb faktorok, régebben és újabban megismert regulációs mechanizmusok. A fejezet ismeretanyaga megalapozza a későbbiekben tárgyalásra kerülő fiziológiai és jelátviteli folyamatok megértését.

Tanulási célkitűzések:

Tudás

- ismeri a genom és gén fogalmát és főbb jellemzőit
- ismeri a növényi genom jellegzetességeit, főbb elemeit
- tisztában van a génátíródás folyamatával és regulációjának különböző szintjeivel
- képes ismertetni a heterokromatin és eukromatin közötti funkcionális különbséget, az átmenetet kiváltó főbb mechanizmusokat
- tudja ismertetni a génexpresszió szabályozásának főbb szereplőit, hatásmechanizmusukat

Képesség

- képes különbséget tenni a transzkripció, poszttranszkripció és poszttranszlációs szabályozások között
- képes teljes molekuláris szabályozási folyamatokat értelmezni

Attitűd

- nyitott a növényi életfolyamatok tanulmányozásának molekuláris biológiai megközelítése felé

Autonómia/felelősség

- önállóan alkalmazza a megszerzett molekuláris ismereteket a növények egyedfejlődésének, működésének megértése és magyarázata során

Az élő szervezetek növekedését, felépítését és működését - néhány vírus kivételével – alapvetően a DNS-ben tárolt információ határozza meg építőelemeinek, a nukleotidoknak (A, T, G, C) a bázissorrendjén keresztül. A növények genetikai információtartalmának legnagyobb része a

sejtmagban, kisebb része (1-10%-a) pedig sejtoranellumokban, a kloroplasztiszokban és a mitokondriumokban található (1).

Gregor Johann Mendel az 1850-es években borsó növények keresztezése során figyelte meg a fejlődésben szerepet játszó tényezők öröklődését klasszikussá vált kísérleteiben. A Mendel által felfedezett öröklődő tényezőket - amelyek meghatározzák pl. a szár hosszát, a virág színét, helyzetét, a termés alakját, a mag színét, formáját - géneknek nevezték el (2). A gének DNS-szekvenciák, amelyek enzimek, strukturális és szabályozó fehérjék szintézisében résztvevő és egyéb szabályozó illetve strukturális szerepű RNS molekulákat kódolnak. A gén részét képezik azok az át nem íródó DNS-szakaszok is, melyek az RNS szintéziséhez szükségesek, illetve a folyamat szabályozásában vesznek részt - még ha gyakran a kódoló szekvenciától több száz vagy néhány ezer bázispár távolságra helyezkednek is el (2).

2.1.1. A növényi genom és szerveződése

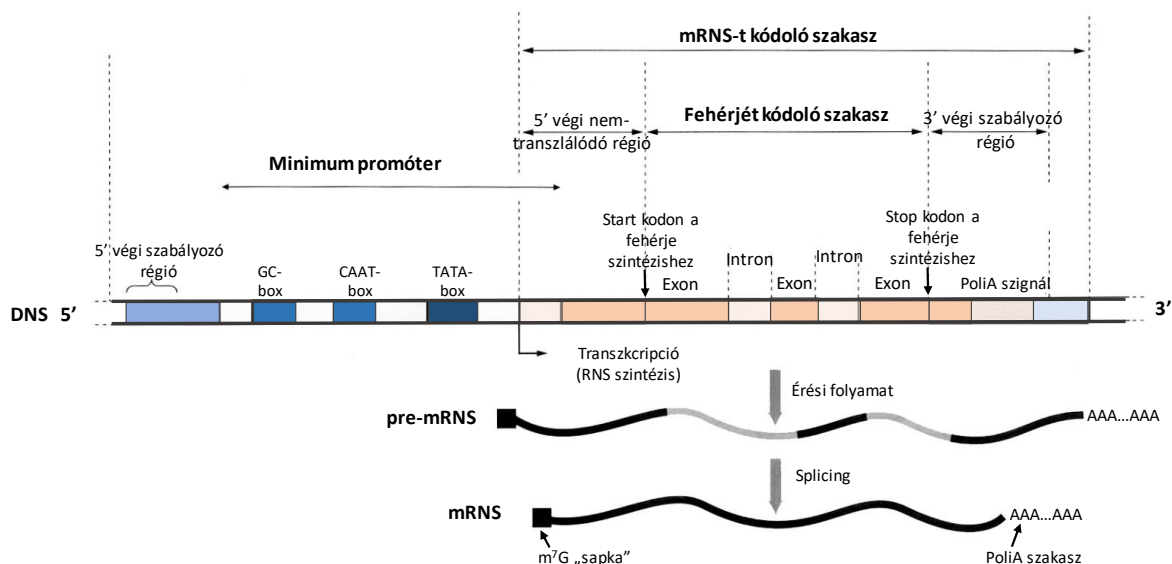
A sejtek össz-DNS mennyiségét genomnak nevezzük. A genom fogalmat a haploid kromoszómaszerelvény ($1n$) teljes genetikai információkészletére vonatkoztatjuk, így a diploid szervezetek sejtjei két genommal rendelkeznek. A magasabbrendű növények genomjának mérete kb. 100 milliótól 150 milliárd bázispárig terjed (3). A legkisebb ismert genommal egy Brazíliában őshonos élősködő növény, a *Genlisea margaretae* (7×10^7 bp) (4), míg a legnagyobb eukarióta genommal a *Paris japonica* ($1,5 \times 10^{11}$) rendelkezik. (A japán farkasszőlő genomja kb. 50-szerese az emberének, amely 3×10^9 bp (3)). A növényi genomok kb. 30 000 - 50 000 gént tartalmaznak. A gének lineárisan rendezettek a kromoszómákon, amelyekből általában 10 - 48 található minden növényi merisztéma sejtben ($2n$). A növények evolúciója során gyakran történt genom megkettőződés. Ugyanazon faj kromoszómáinak megsokszorozódásával jönnek létre az autoploidok, míg a közel rokon fajok együttes kromoszómakészletét hordozó növényeket allopoliploidnak nevezzük (pl. allohexaploid búza, allotetraploid Brassicaceae fajok). A poliploidok az evolúció során gyakran diploidokká alakultak (az ivarsejtek DNS tartalma megduplázódik, $2n \rightarrow 1n$). A megduplázódott gének hosszú távon csak akkor maradnak fenn, ha az evolúciós előnnyel jár. Sorsuk különböző lehet, pl. eltérő kifejeződési mintázat vagy divergens funkciók, új funkció, funkcióvesztés (3). Azonban a növényi sejtek genommérete egy organizmuson belül is eltérhet, mivel testi sejtjeikben gyakran történik endoreduplikáció, kromoszóma többszöröződés, így 4-, 8-, 16n-szeres ploid szint, illetve többszörösük is található a nagyobb méretű, idősebb vagy speciális funkciójú sejtekben (5).

A genom mérete nem korrelál az organizmusok bonyolultságával, szervezettségével, és akár egy nemzetségen belül is nagy variabilitás figyelhető meg. A különbség fő oka a nem-kódoló illetve a repetitív (ismétlődő) szekvenciák, amelyek aránya eltérő, de alkotják a genom nagyobb részét is (1, 6). Repetitív szekvenciák közé tartoznak a centromert és telomert alkotó ismétlődő szekvencia régiók és egyéb, ún. szatellit DNS-ek, amelyeket az ismétlődések mérete (szatellit, mini- és mikroszatellit) illetve elrendeződésük alapján (tandem, szétszórt) csoportosíthatunk. Ide tartoznak még a mobil genetikai elemek közé sorolható transzpozázibilis elemek, a transzpozonok és retrotranszpozonok, valamint a nagy fehérje-kódoló géncsaládok (pl. hiszton gének) is (3). A gének közötti egykópiás DNS szakaszokat helykitöltő vagy „spacer” DNS-nek nevezzük. Szerepük szekvencia-független, strukturális. Az evolúció során gyorsabban változtak, mint a kódoló szekvenciák.

A zárvatermők közül elsőként, 2000-ben megszekvenált *Arabidopsis thaliana* (lúdfű) $1,19 \times 10^8$ bp nukleáris, összesen $1,35 \times 10^8$ bp nagyságú genommal, 5 pár kromoszómával rendelkezik. A fehérje-kódoló gének száma 27655, kb. 4800 nem-funkcionális gén (pl. pszeudogén), több mint 5000 nem-fehérje-kódoló (rRNS, tRNS, szabályozó RNS-ek, pl. mikroRNS) gént azonosítottak (7, 8). Az *Arabidopsis* genomban a repetitív szekvenciák aránya viszonylag kicsi, ami nagyban hozzájárult általánosan használt modellnövényként történő elterjedéséhez (9).

2.1.2. A növényi gének felépítése

A növényi gének 80 - 85 %-ában az aminosavsorrendet meghatározó (kódoló) DNS-régió tartalmaz nem-kódoló szakaszokat, intronokat. Az intronok száma általában kevés, de egy génen belül elérheti a 40-et is, továbbá össz hosszúságuk meghaladhatja a kódoló szakaszok (exonok) összesített hosszúságát (2). A kódoló DNS-szekvenciát mindkét oldalról reguláló régiók veszik közre, amelyek egyrészt tartalmazzák a gén átírásához és a fehérje szintéziséhez (transzlációhoz) szükséges strukturális elemeket, másrészt biztosítják a gén szabályozott működését. A transzkripció kezdetének helyétől 5'-vég felőli DNS szakaszon (upstream) található a promóter, amely a transzkripciót szabályozó szekvenciaelemek nagyobb részét magába foglalja (2.1.1. ábra). A promóter fontos elemei azok a konzervált szekvenciák, amelyek a transzkripcióban résztvevő fehérjék, általános transzkripciós faktorok kapcsolódását segítik elő. A promótert két további részre oszthatjuk: a génexpresszióhoz elengedhetetlenül szükséges szekvenciák alkotják az ún. minimum promótert (core- vagy minimum promóter), amely mintegy 100 bp hosszúságú DNS-szakasz a transzkripció kezdetétől 5' irányban. A promóter fennmaradó része tartalmazza az ún. regulátor szekvenciákat (regulatory sequences), amelyek a minimum promóter aktivitását szabályozzák. A legfontosabb promóter-szekvencia az ún. TATA-box, amely a növényi gének 85 %-ában megtalálható a transzkripció kezdési helyétől (CAP site) kb. 30 bázispárnyi távolságra (2, 3). Itt történik az RNS polimeráz II (RNA PII) megfelelő pozicionálása és aktiválása: ide kapcsolódnak az iniciációs komplexet alkotó általános transzkripciós faktorok és az RNS szintézist végző RNS polimeráz II adott sorrendben. A legtöbb gén minimum promóterében előfordul még két jellemző szekvenciaelem: a CAAT-box és a GC-box. Ezek a DNS-szakaszok egyéb transzkripciós faktorok kötődési helyei (2). (A transzkripciós faktorok olyan fehérjék, amelyek az iniciációs komplex kialakulásának elősegítésével fokozzák a transzkripciót, az mRNS szintézis mértékét.)



2.1.1. ábra. Az eukarióta gén és az mRNS szerkezeti és működési elemei. Az mRNS-t kódoló szakasztól 5'-vég irányában található a legfontosabb szabályozó szekvenciákat magában foglaló promóter régió és az 5'-végi szabályozó régió. Az RNS szintézis során keletkező elsődleges transzkriptum a pre-mRNS, amely az érési folyamat során különböző módosításokon megy keresztül. Az érett mRNS főbb részei: a fehérjét kódoló szakasz, 5'-végi - és 3'-végi nem transzlálódó régiók, 7-metilguanint tartalmazó „sapka”-szerkezet az 5'-végen, poliA szakasz a 3' végen (2 alapján, a kiadó és a szerző engedélyével).

2.1.3. A génátíródás szabályozása

2.1.3.1 Általános vonatkozások

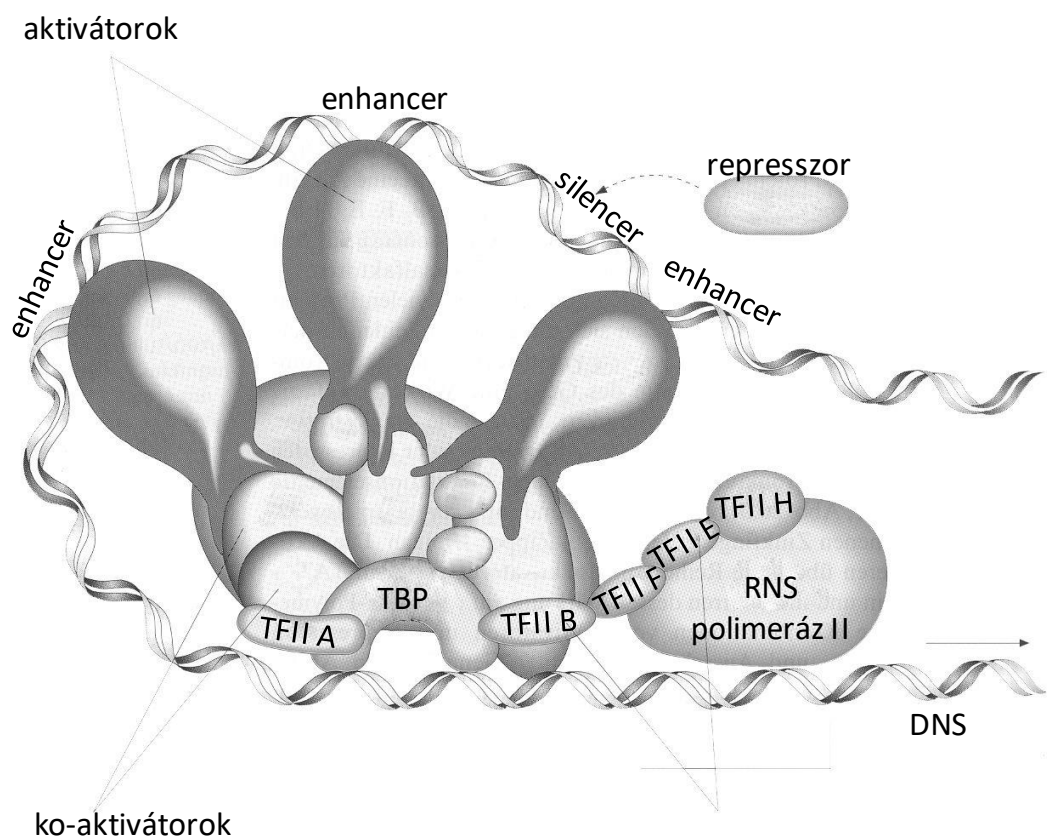
Bizonyos fehérjetermékekre csak az egyedfejlődés egy adott szakaszában vagy meghatározott szövet- vagy sejttípusban van szükség. A génexpresszió specifikusa sejtspecifikus transzkripciós faktorok működésének következménye. Vannak promóterek, amelyek meghatározzák, hogy egy gén például csak levélben és csak speciálisan a mezofill sejtekben, vagy csak a zárósejtekben, vagy csak a burgonyagumóban és ott a raktározószövet sejtjeiben expresszáldjon (2). A fehérjét kódoló szakasz transzkripcióját, mRNS szintézisét a fehérje szintézise követi. A folyamat azonban igen összetett módon szabályozott és a DNS összerendezettségétől a keletkezett fehérje módosításáig számos tényező befolyásolja.

A növényekben a gének transzkripciójának szabályozása az eukarióta génekre általánosan jellemző mechanizmusok szerint megy végbe (2.1.2. ábra). Központi szerepet játszik a TATA-boxot felismerő „TATA-box-kötő fehérje” (TATA-binding protein, TBP). A TBP és az RNS polimeráz II közötti kapcsolatot általános transzkripciós faktorok (TF-ok) biztosítják. Az iniciációs komplexhez nagyon sok fehérjekomponens kapcsolódhat, amelyek a DNS különböző reguláló szekvenciáihoz kötődnek. A DNS promótere, regulátor szekvenciái nagymértékben meghatározzák a transzkripció mértékét (2). A DNS-láncon található reguláló szekvenciákat *cis*-ható elemeknek (röviden *cis*-elemeknek) nevezzük. A promóter-régióban található *cis*-elemek a már említett TATA-box, CAAT-box és GC-box is (1. ábra), amelyek nevüket a jellemző szekvencia-elemükről kapták. A *cis*-ható elemek a géneken belül segítenek koordinálni a génexpressziót. Az alapvető sejtfunkciókat ellátó fehérjéket (pl. aktin, tubulin) kódoló génekben magas génkifejeződést biztosító szabályozó elemeket találhatunk (2).

Sok gén promóterében azonosítottak specifikus szekvenciákat, amelyek az adott gén expressziójának mértékéért és programozottságáért felelősek. Azokat a *cis*-elemeket, amelyek a gének hormonok- illetve a jelátvitelben szereplő más molekulák általi regulációjában játszanak szerepet, „válasz-elemeknek” (response elements) nevezzük. Szabályzó elemek találhatóak a transzkripció helyétől sokkal távolabb is, 5'-vég irányában (disztális- vagy upstream szabályozó régió, a transzkripció helyétől akár 1000 bp távolságban) (2). A promóterben lévő reguláló szekvenciákon kívül a transzkripció helyétől akár több 10000 bp-ra lévő szabályozó elemek is befolyásolhatják egy gén működését. Ismertek a gének kifejeződését fokozó, ún. enhancer elemek, amelyek akár szövetspecifikusan, akár specifikus nélkül növelik a promóterek aktivitását, míg a silencer-ek csökkentik a gének expresszióját. A *cis*-elemek többszörösen ismétlődve is előfordulhatnak (erősebb hatást váltva ki), de hatásukat egymástól függetlenül is kifejtethetik. Az enhancer-ek a promótertől akár 5'-, akár 3'-vég irányában lehetnek a DNS-en (2). Hozzájuk szabályozó fehérjék, ko-regulátorok kapcsolódhatnak, amelyek a transzkripciós faktorokkal együtt a transzkripciós iniciációs komplex összeszerelődésére, működésére, stabilitására hatnak komplexet képezve a TATA-boksz-kötő fehérje körül (2.1.2. ábra).

2.1.3.2. A transzkripciós faktorok

A gén promóterében és a proximális szabályozó régióban található DNS-elemek a hozzájuk kapcsolódó transzkripciós faktorokon keresztül fejtik ki hatásukat a transzkripcióra. Azokat a transzkripciós faktorokat *transz*-ható elemek; az őket kódoló gének a reguláció helyétől távolabb találhatóak, a szabályozott géntől általában függetlenül keletkeznek. A *transz*-ható elemek olyan DNS-kötő fehérjék, amelyek kölcsönhatnak az RNS polimeráz II-t tartalmazó transzkripciós komplex-szel, és serkenthetik (aktivátor) illetve gátolhatják (represszor) az mRNS szintézisét. Az aktivátorok és represszorok maguk is különböző típusú szabályozás tárgyai, kombinációjuk minden gén esetében különböző. Összegzett hatásuk határozza meg egy gén be- illetve kikapcsolását. Az aktivátorok és represszorok hatását a transzkripciós apparátusban lévő egyéb fehérjekomponensek, a ko-aktivátorok vagy ko-represszorok közvetítik (2).



2.1.2. ábra. Egy eukarióta transzkripció apparátus felépítése. A transzkripcióhoz az RNS polimeráz II-n kívül nélkülözhetetlenek az általános transzkripció faktorok (TBP, TATA-box-kötő fehérje, TFII A-H, transzkripció fehérjefaktorok). A transzkripció komplex fehérjekomponensei között találhatók koaktivátorok, amelyek közvetítik az aktiváló hatású transzkripció faktorok (aktivátorok) hatását. Az aktivátorok elősegítik a komplex összekapcsolódását, az RNS polimeráz aktiválódását. Az aktivátorok és az mRNS szintézist gátló represszorok a DNS speciális szekvenciáihoz, az enhancer- illetve silencer elemekhez kapcsolódnak (2 alapján, a kiadó és a szerző engedélyével).

A növényi TF adatbázis jelenleg 64 TF családot 22 egyéb transzkripció regulátor fehérjét tartalmaz (<http://planttfdb.gao-lab.org>, 2019.08.29) (10). Általánosan használt a DNS-kötő motívumok szerinti csoportosításuk (pl. hélix-fordulat-hélix, cink-ujj, hélix-hurok-hélix, leucin-cipzár és bázikus leucin-zipzár típusok). Számos TF család csak a növényekre jellemző.

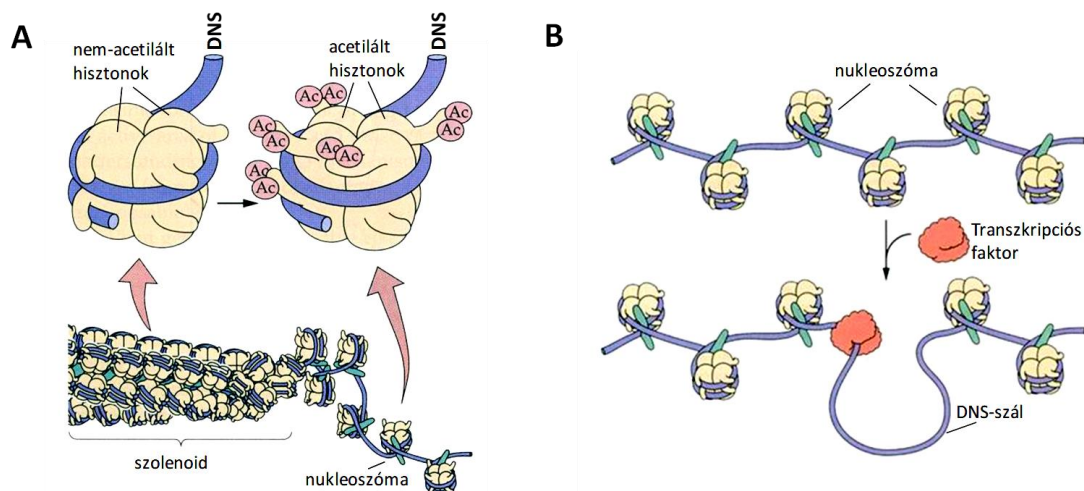
2.1.3.3. A kromatin szerkezet

A rendkívül hosszú DNS kettős spirált hisztonok „tekerik fel”, rögzítik megfelelő szerkezetben és védik pl. a nukleázok hasításától. A DNS szerkezeti alapegysége a nukleoszóma, amelyben 165 bp hosszú DNS szakasz kétszer csavarodik fel a 8 hiszton fehérjéből álló magra. A nukleoszómat kb. 60 bázispárnnyi DNS szakasz köti össze. A gyöngysorszerű nukleoszóma fonál további kondenzációjával (6 db/fordulat) alakul ki a szolenoid szerkezet (2.1.3. ábra). A sejten többszörösen feltekeredett DNS struktúra erős mikroszkópos festődése miatt a kromatin elnevezést kapta (2).

A kromatinszerkezet rendezettsége meghatározó a gén hozzáférhetősége szempontjából és szerepet játszik a génkifejeződés szabályozásában. Az erősen kondenzált DNS-t tartalmazó heterokromatin transzkripcionálisan inaktív, a kevésbé kondenzált eukromatin lehet aktív vagy inaktív. A kevésbé

kondenzált DNS-ben a gének promótereikhez transzkripció faktorok tudnak kapcsolódni és a gén transzkripcionálisan aktívvá válhat (2.1.3. B ábra). A TF-ok és a kromatin szerkezet szintjén zajló szabályozás kapcsolt: a kromatin szerkezet segíti a TF-ok bekötődését és a TF-ok közvetve kromatin módosítókat vonzhatnak az adott lókuszhhoz.

A kromatinban lévő hisztonok modifikációja hat a DNS kondenzációjára. A hiszton proteinek N-terminális részein található bázikus aminosavak szelektív acetilációja következtében a nukleoszóma nagyobb térigényű lesz. Az acetilációt végző hiszton acetil-transzferáz enzimek kevésbé kondenzált, míg az acetil-csoportot eltávolító hiszton deacetilázok kompaktabb szerkezetet eredményeznek (2.1.3. A ábra), (2).



2.1.3. ábra A hisztonok módosítása acetil transzferázok által csökkenti a kromatin rendezettségét (A). A kevésbé kondenzált kromatinban transzkripció faktorok kapcsolódhatnak a szabályozó DNS-szekvenciákhoz (B) (2 alapján, a kiadó és a szerző engedélyével).

A hiszton demetiláz és DNS glikoziláz enzimek is a lazább szerkezet kialakulását, az aktív génátíródást segítik. Ezzel ellentétben a hiszton metil-transzferázok és DNS metil-transzferázok specifikus hiszton metiláció és DNS- (citozin) metiláció katalizálása révén tömörebb kromatin szerkezetet idéznek elő, ahol a génátíródás gátolt (1). A heterokromatin képzésben és a transzkripció géncsökkentésben igen jelentős szerepet játszó heterokromatikus kis interferáló RNS-ek (small interfering RNAs, siRNAs) metil-transzferázokkal együttműködve módosítják a kromatin szerkezetet (11).

2.1.3.4. A heterokromatikus kis interferáló RNS-ek

A heterokromatikus siRNS-ek (het-siRNS-ek) génexpressziót szabályozó szerepe az utóbbi évtizedben került előtérbe (12). Az RNS-közvetített transzkripció szabályozás (RNA-mediated transcriptional gene silencing, TGS) konzervált mechanizmus a gombákban, növényekben és állatokban (13). A 22 - 24 nt hosszú het-siRNS-ek száma növényekben több tízezer. Kulcsfontosságúak a gének működését gyakran befolyásoló repetitív szekvenciák és transzpozázibilis elemek elcsökkentésében. Általában a repetitív és transzpozázibilis elemekről két növény-specifikus RNS polimeráz (pol IV és pol V) által átvitt transzkriptumokból származnak. Hatásmechanizmusuk többlépcsős összetett folyamat, amely során a homológ szekvenciák DNS metilációját vagy a H3 hiszton 9-es Lys-jének (H3K9) dimetilációját idézik elő. A het-siRNS-ek hatásmechanizmusa az RNS-közvetítette DNS-metiláció (RNA-directed DNA methylation, RdDM), amely heterokromatin képződést eredményezhet (13).

2.1.4. A génműködés szabályozásának további szintjei

2.1.4.1. Poszttranszkripció szabályozás I: az mRNS érési folyamata

A transzkripció során keletkező ún. elsődleges transzkriptum a pre-mRNS, amely különböző módosításokon, átalakulásokon megy keresztül, amit érési folyamatnak hívunk. A módosítások biztosítják, hogy csak az érési folyamaton keresztülment, ép mRNS-ek érjék el a riboszómát és „értelmes” fehérje szintézise történjen. Az egyéb transzkripció termékek a sejtmagban maradnak és degradálódnak (2).

Az RNS szintézis kezdete után majdnem azonnal kialakul a „sapka”-(cap) szerkezet: az RNS molekula 5'-OH csoportjához 7-metil-GTP kapcsolódik 5'-véggel, és metilálódik a nukleotid egyik ribóz molekulája is. A „sapka”-szerkezet védi a növekvő RNS molekulát az RNS-bontó enzimek, RNázok általi degradációtól. A pre-mRNS 3'-végére általában 100-200 nukleotidból álló poliA szakasz, „farok” szintetizálódik a poliA-polimeráz enzim által. A poliadeniláció és „sapka”-szerkezet befolyásolja illetve meghatározza az mRNS életidejét és transzlálhatóságát. Mind a „sapka”-szerkezet mind a poliA szakasz több funkcióval rendelkezik: amellett, hogy védenek az RNázok ellen, segítik az mRNS kijutását a sejtmagból a maghártya pórusain keresztül a citoplazmába, és szabályozzák a riboszómákon folyó transláció hatékonyságát (1, 2). Egy tipikus citoszolikus mRNS molekula szerkezetét a 1. ábrán láthatjuk.

Az intronok az érési folyamat (RNS processzálas) során eliminálódnak. A pre-mRNS intron-szakaszainak specifikus kihalászása és az exonok összekapcsolása többlépéses szerkesztési folyamat, amit angol elnevezése után „splicing”-nak hívunk. Az újonnan szintetizálódott pre-mRNS a sejtmagban fehérjékkel kapcsolódik. A pre-mRNS-ek érésében az uridinben gazdag sejtmagi kis RNS-ek (small nuclear RNA, snRNA), illetve az őket tartalmazó ribonukleoproteinek (small nuclear ribonucleoproteins, U-snRNPs) is részt vesznek. Minden exon-intron határon kialakul egy nagy ribonukleoprotein vágási komplex, a „spliceosome”. A vágási komplexet alkotó komponensek kapcsolódása nagymértékben szabályozott, dinamikus folyamat, amely sok szerkezeti átrendeződést és energiát (ATP hidrolízist) igényel. A reakcióban fontos szerepet játszanak az intronokban valamint az intronok és exonok végein lévő specifikus szekvenciák, amelyek meghatározzák a ribonukleoproteinek kötődését. A specifikus szekvenciákat különböző sejtmagi kis RNS-ek ismerik fel. Először az intron 5'-végénél kapcsolódnak az snRNS-ek, amelyek szerepet játszanak az RNS-szál hasításában, átmeneti szerkezetek kialakításában, a két exon egymás mellé fordításában és kapcsolásukban. Néhány esetben előfordul, hogy az elsődleges transzkriptum hasítása többféleképpen is végbemehet (alternatív RNS „splicing”). Így a keletkező mRNS illetve a fehérje szerkezete módosul (1, 2).

2.1.4.2. Poszttranszkripció szabályozás II: a mikroRNS-ek

További poszttranszkripció szabályozási mechanizmusok is ismertek, közülük talán a két legfontosabb a mikroRNS-ek (miRNS-ek) és a másodlagos kis interferáló RNS-ek általi szabályozás (14).

A mikroRNS gének (*MIRNA*) a fehérje-kódoló génekhez hasonlóan íródnak át a pol II által (15). Kb. 1 kb nagyságú speciális struktúrájú elsődleges transzkriptumból, a pri-miRNS-ből pre-miRNS, majd miRNS duplex képződik. A keletkezett miRNS metilálódik (a stabilitásukhoz szükséges érési folyamat), majd a citoplazmába transzportálódik és beépül a RISC-komplexbe (RNA-induced silencing complex; Argonaute, AGO fehérjét is tartalmazó több alegységes endonukleáz-komplex). A növényi miRNS-ek általános hatásmechanizmusa, hogy a velük komplementer mRNS-t a duplex közepén egy AGO endonukleáz enzim elhasítja. Az új 5', 3' végekre exonukleázok könnyen kapcsolódhatnak, így az mRNS degradálódik, mennyisége csökken. Ez a folyamat növényekben sokkal általánosabb, mint állatokban (nagyobb szekvencia-homológia van a miRNS és target mRNS között) (15). A miRNS-ek célgénjei gyakran transzkripció faktorok, így fő funkciójuk a fejlődés szabályozása (pl. merisztémák

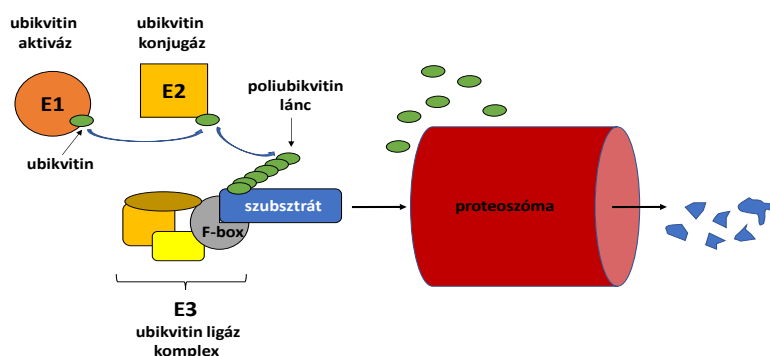
aktivitásának szabályozása, szöveti differenciálódás, a levelek ab- vagy adaxiális oldalának meghatározása, vegetatív-generatív fázis közötti átmenet, a virágzás, virágmerisztéma, ivar determinációja) (14). Az mRNS-sel csak részben komplementer miRNS-ek is szerepet játszhatnak mRNS-ek csendesítésében vagy működésképtelen fehérje szintézisében: a deadenilázok működésének elősegítése miatt az mRNS elveszítheti a poliadenin-farok részét, ezáltal 5' exonukleázok által emészthetővé válik. A miRNS-ek a transzlációt is gátolhatják többféleképpen, pl. a fehérjeszintézis iniciációjának gátlásával és az elongáció gátlásán keresztül, bár ez utóbbi hatásmechanizmusok jelentősége a növényekben jelenlegi ismereteink szerint kisebb, mint a többi organizmusban (15).

A másodlagos kis interferáló RNS-ek (phased secondary siRNAs, phasiRNAs) növény-specifikus kis RNS család (14). Biogenezisük kis RNS-ek (általában miRNS-ek) által közvetített hasításon alapul. A miRNS-ek két fő mechanizmus szerint, egymást követő hasításokkal eredményeznek egy hosszabb RNS molekulából (gyakran mRNS) több, 21-, 22- vagy 24 nt hosszúságú siRNAs-t. A phasiRNS-ek a miRNS-ekhez hasonlóan regulálják a célgén(ek) expresszióját. Hatásuk alapján további csoportosításuk szerint lehetnek *transz*- vagy *cisz*-hatóak. A *transz*-ható kis interferáló RNS-ek (tasiRNS-ek) eddig ismert egyetlen célpontjai az auxin válasz faktor (auxin response factor, ARF) gének transzkriptumai, így fontos szerepet játszanak az auxin jelátvitelben a növények élete során (14).

2.1.4.3. Poszttranszlációs szabályozás

A géntermék mennyisége poszttranszlációs is szabályozódhat. A megsztetizálódott fehérje érési folyamaton mehet át, funkcióképességét és életidejét számos módosulás befolyásolhatja. Ide sorolható a membránba épülés, a harmadlagos- és negyedleges szerkezet kialakulása, az ún. „folding”, ko-faktor kötés, foszforilációs, karboxilációs, acetilációs módosítások, glikoziláció, szulfonálás, inter- és intramolekuláris diszulfid kötések kialakulása, ubiquitináció.

A fehérjék ubiquitinálása eredményezhet megváltozott funkciót, lokalizációt vagy fehérje degradációt a 26S proteasómális rendszeren keresztül. A fehérjék ubiquitinálásához három enzim illetve enzim komplex szükséges: az E1, amely az ubiquitint aktiválja és átadja az E2 enzimnek; az E2 az aktivált ubiquitint a szubsztráthoz kapcsolja, az E3 ismeri fel a lebontandó szubsztrátot. Az E3 fehérje komplex szubsztrát felismerő tagja ún. F-boksz motívumot tartalmaz (F-boksz protein) (2.1.4. ábra). Az F-boksz fehérjék száma növényekben igen nagy. A proteasómális fehérje degradáció a növényekben számos jelátviteli folyamatban kulcsfontosságú (3).



2.1.4. ábra. A fehérje ubiquitináció és proteasómális fehérje lebontás vázlata. Az E3 ubikvitin ligáz komplex F-boksz fehérjéje révén specifikusan ismeri fel a megfelelő ún. destruktív motívumot tartalmazó fehérjét, amelyet az ubikvitin aktiváz E1, illetve ubikvitin konjugáz E2 enzimek segítségével poliubikvitin láncsal jelöl meg. A proteasóma a poliubikvitinált fehérjét lebontja. (Fehér Attila ábrája).

1. Azt, hogy adott körülmények között milyen fenotípusa fejlődik egy növénynek, a faj DNS-ében tárolt információ határozza meg. A haploid kromoszómaszerelvény ($1n$) össz DNS mennyiségét genomnak nevezzük. Evolúciós genom-többszöröződés eredménye a poliploidia (ugyanazon fajon belül) és allopoliploidia (két rokon faj genomjának összeadódása). A poliploidia endoreduplikáció miatt gyakori a diploid növények nagyobb, idősebb vagy speciális funkciójú testi sejtjeiben is.
2. A magasabbrendű növények genom méretében megfigyelhető nagy variabilitás elsősorban a nem-fehérje-kódoló régiók változatossága miatt van.
 - a. A genomban találhatók fehérje- és RNS- kódoló gének, nem funkcionális (pszeudo-) gének, mobil genetikai elemek, repetitív- és ismeretlen funkciójú DNS szakaszok. A fontosabb fehérjéket több gén, gyakran multigén géncsaládok kódolhatják.
3. A növényi gének átíródásának szabályozása az eukarióta gének általános mechanizmusai szerint történik. Főbb elemek:
 - a. a minimum promóter és az 5' végi szabályozó régió szekvencia elemei (*cisz*-elemek). Az enhancer-ekhez aktivátorok, a silencer-ekhez represszorok kapcsolódhatnak. A hormonok és más jelátviteli molekulák általi regulációt közvetítő *cisz*-elemeket válasz-elemeknek nevezzük.
 - b. transzkripció faktorok (általános transzkripció faktorok, *transz*-ható elemek, aktivátorok, represszorok). Sok növény-specifikus TF család ismert.
 - c. a kromatin szerkezete
 - i. A kevésbé kondenzált DNS-t tartalmazó eukromatinban a gének promótereikhez TF-ok tudnak kapcsolódni és a gén transzkripcionálisan aktívvá válhat. Ezt segíti a hiszton acetiláció és -demetiláció.
 - ii. Kompaktabb szerkezet kialakulásához vezet a hiszton deacetiláció, specifikus hiszton metiláció, DNS metiláció. A repetitív szekvenciák elcsendesítésében fontos heterokromatikus siRNS-ek is metil transzferáz aktivitással rendelkeznek.
 - d. az mRNS érése
 - e. a mikroRNS-ek. Az RNS-indukált géncsendesítési komplex (RISC) részeként a velük komplementer mRNS hasítását, degradációját eredményezik. Az mRNS-sel csak részben komplementer miRNS-ek elsősorban a transzlációt gátolják. Célpontjaik gyakran transzkripció faktor mRNS-ek, így nagymértékben befolyásolják a fejlődést.
 - f. poszttranszlációs szabályozás (pl. membránba épülés, protein „folding”, ko-faktor kötés, foszforiláció, karboxiláció, acetilációs módosítások, glikoziláció, szulfonálás, diszulfid kötések kialakulása, ubiquitináció).

a. Ellenőrző kérdések

1. Miért lehet nagy a változatosság a genom méretben egy nemzetségbe tartozó növények között is?
2. Milyen szekvencia-típusokat különíthetünk el a növényi genomban?
3. Milyen különbség van a magasabbrendű növények genomjának méretében illetve a gének számában?
4. Mi a hasonlóság és a főbb különbség a *cisz*- és *transz*-ható elemek között?
5. Milyen mechanizmusok szabályozzák a génexpressziót a kromatin szerkezet módosításán keresztül?
6. Hogyan fejtik ki hatásukat a mikroRNS-ek?

Megvitatandó kérdések

1. Mi lehet az előnye a megsokszorozódott genomnak a növények testi sejtjeiben? Miért ritkább ez a jelenség az ivarsejtjeiben?
2. A *Paris japonica* lassú növekedésű, a természetben ritkán előforduló növény. Kapcsolatban lehet-e ez a genom méretével?
3. Ha nem korrelál a genom méret az organizmusok fejlettségével, bonyolultságával, akkor a genom azért nem is lehet felelős? Miben találhatunk összefüggést?
4. Mi indokolja, hogy a növényekben a heterokromatikus siRNS-ek ilyen nagy számban fordulnak elő?
5. A miRNS-ek célgének száma növényekben nagygrendekkel kisebb, mint pl. állatokban. Miért igen nagy mégis a jelentőségük?

Javasolt irodalom

1. Erdei László (szerk.). Növényélettan – Növekedés - és fejlődésélettan. JATEPress Szeged, Magyarország, 2011.
2. Jones R, Ougham H, Thomas H, Waaland S (Eds) The molecular life of plants. Wiley-Blackwell, American Society of Plant Biologists, 2013.
3. Buchanan BB, Gruissem W, Jones RL (Eds) Biochemistry and molecular biology of plants. Second Edition. American Society of Plant Biologists, 2015.

Felhasznált irodalom

1. R. Jones, H. Ougham, H. Thomas és S. Waaland (szerk), The molecular life of plants. Wiley-Blackwell, American Society of Plant Biologists, 2013, o. 74-111.
2. Erdei László (szerk.). Növényélettan – Növekedés - és fejlődésélettan. JATEPress Szeged, Magyarország, 2011, o. 13-22.
3. B.B. Buchanan, W. Gruissem és R.L. Jones (Szer.), Biochemistry and molecular biology of plants. 2. kiadás. American Society of Plant Biologists, 2015. o. 401-437.

4. F. Rivadavia, P.M. Gonella és A. Fleischmann, A new and tuberous species of *Genlisea* (Lentibulariaceae) from the Campos Rupestres of Brazil. *Syst Bot*, köt. 38, sz. 2, o. 464-470, 2013.
5. J. Joubès és C. Chevalier, Endoreduplication in higher plants. *Plant Mol Biol*, köt. 43, sz. 5-6, o. 735-745, 2000.
6. M.A. Biscotti, E. Olmo és J.S. Heslop-Harrison, Repetitive DNA in eukaryotic genomes. *Chromosome Res*, köt. 23, sz. 3, o. 415-420, 2015.
7. Arabidopsis Genome Initiative, Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature*. köt. 408, sz. 6814, o. 796-815, 2000.
8. C.Y. Cheng, V. Krishnakumar, A.P. Chan, F. Thibaud-Nissen, S. Schobel és C.D. Town, Araport11: a complete reannotation of the *Arabidopsis thaliana* reference genome. *Plant J*, köt. 89, sz. 4, o. 789-804, 2017.
9. M. Koornneef és D. Meinke, The development of *Arabidopsis* as a model plant. *Plant J*, köt. 61, sz. 6, o. 909-921, 2010
10. J.P. Jin, F. Tian, D.C. Yang, Y.Q. Meng, L. Kong, J.C. Luo és G. Gao, PlantTFDB 4.0: toward a central hub for transcription factors and regulatory interactions in plants. *Nucleic Acids Res*, köt. 45, sz. D1, o. D1040-D1045, 2017.
11. F. Borges és R.A. Martienssen, The expanding world of small RNAs in plants. *Nat Rev Mol Cell Biol*, köt. 16, o. 727-741, 2015.
12. S. Li, C. Castillo-Gonzalez, B. Yu és X. Zhang, The functions of plant small RNAs in development and in stress responses. *Plant J*, köt. 90, o. 654-670, 2017.
13. H. Zhang, X. He és J.K. Zhu, RNA-directed DNA methylation in plants. Where to start? *RNA Biol*, köt. 10, sz. 10, o. 1593-1596, 2013.
14. C. Chen, Z. Zeng, Z. Liu és R. Xia, Small RNAs, emerging regulators critical for the development of horticultural traits. *Hortic Res*, köt. 5, sz. 63, o. 14, 2018.
15. J. Wang, J. Mei és G. Ren, Plant microRNAs: Biogenesis, homeostasis, and degradation. *Front Plant Sci*, köt. 10, sz. 360, o. 12, 2019.

2.2. Fejezet A növények növekedésének és egyedfejlődésének sejtszintű folyamatai (sejtmegnyúlás, osztódás, és differenciáció)

Írta: Ördögné Kolbert Zsuzsanna

Az állatok és növények között az egyik legalapvetőbb különbség az, hogy az állatok heterotróf életmódjuk miatt mozgást lehetővé tevő struktúrákat fejlesztenek, míg a helyhez kötött, autotróf növények a fény begyűjtésére specializálódott szilárd anatómiát mutatnak. A növényeknek helyváltoztató mozgásra való képtelenségük miatt folyamatosan alkalmazkodniuk kell a változó környezeti feltételekhez, mint például a tápanyagok és a fény változó mennyisége. Továbbá a sejtfal jelenléte miatt a növényi sejtek az állatiakkal ellentétben nem képesek vándorlásra az egyedfejlődés során. Mindezek tudatában belátható, hogy a növényi növekedésnek-fejlődésnek van számos, állatokra nem jellemző specifikuma. Ebben a fejezetben ennek a sok tekintetben egyedülálló növekedési és fejlődési programnak a jellegzetességeit és a sejtszintű folyamatait, a sejtosztódást, sejtmegnyúlást és sejt differenciációt tárgyaljuk.

Tanulási célkitűzések:

Tudás

- ismeri a növényi növekedés és a fejlődés fogalmát
- ismeri a sejtmegnyúlást lehetővé tevő, sejtfalhoz kapcsolódó folyamatokat
- ismeri a növényi sejtek differenciációját lehetővé tevő differenciált génaktivitás fogalmát
- fel tudja sorolni a növekedés-fejlődést meghatározó sejtszintű folyamatokat
- tudja ismertetni a növényi sejt ciklust és az azt szabályozó mechanizmusokat

Képesség

- képes a növényi sejtek működésére visszavezetni egyedfejlődési folyamatokat
- képes értelmezni a sejtszintű és egyedszintű folyamatok tér és időbeli viszonyait

Attitűd

- nem általánosítja az állatok sejtszintű folyamatait minden többsejtű élőlényre

Autonómia/felelősség

- szakmai és nem-szakmai körökben önállóan nyilvánít véleményt a növények sejtszintű folyamatainak sajátosságai, a növények helyhez kötött életmódja és egyedfejlődési stratégiája közötti összefüggésekről

2.2.1. A növényi növekedés és fejlődés definíciója

A növényi egyedfejlődés a növekedés kezdetétől a teljes növény vagy valamely növényi rész haláláig bekövetkező folyamatok sorozatát jelenti (1). Ez magában foglal két egymással szorosan összefüggő, ám mégis eltérő folyamatot: a növekedést és a fejlődést. A növekedés a sejtek, szövetek, szervek vagy az egész növényegyed irreverzibilis méretváltozása (mennyiségi változás), melyre példa a lomblevelek kiterjedése. A levélkezdemény alakjában és élettani szerepében nem tér el a kifejlett levéltől, csupán méretében növekszik. A gyakorlatban a túl általános „növekedés” kifejezés helyett valamilyen növekedést eredményező méretváltozást mérünk. Számszerűsíthetjük a szár, hajtás vagy a gyökér megnyúlását, a hajtás vagy gyökér frisstömegének vagy a levélterületnek a változásait. A fejlődés szemben a növekedéssel, irreverzibilis minőségi változások sorozata, melyek a növény egyedfejlődése

során meghatározott sorrendben, egymást követően és egymástól függően mennek végbe. Ilyen fejlődési folyamat például a virágmerisztémából a virág kifejlődése. A kifejlett virág alakjában, színében, élettani szerepében eltér, vagyis minőségében megváltozik, fejlődik.

A látható növekedés általában a sejtek megnyúlásából ered, de a sejtek osztódásai szintén hozzájárulnak a méretbeli növekedéshez. Néhány esetben azonban sejtosztódások történhetnek növekedés nélkül is vagy fordítva. Például az embrió fejlődés korai szakaszában sejtosztódások történnek, így a sejtszám növekszik, a sejtek kis mérete miatt azonban ezek nem okozzák az embrió méretének a növekedését. Az is elmondható, hogy az osztódás általában a növekedés első szakaszának tekinthető, amit a megnyúlás követ, vagyis ezek a folyamatok időben elkülönülten folyhatnak. Továbbá az osztódás és a megnyúlás térben is elkülönülhet. E két sejtleletani folyamatot a differenciáció egészíti ki, és jelenti a növényi szervek kialakulásának harmadik fázisát. Ezeket a sejtleletani folyamatokat elkülönítve is lehet tanulmányozni pl. törpe növényekkel, melyekben a differenciáció teljesen végbemegy, a megnyúlás azonban gátolt.

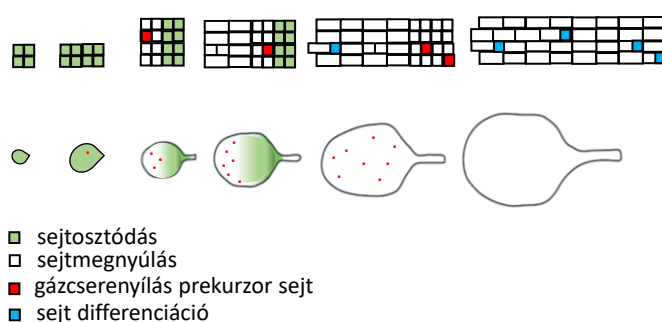
2.2.2. A növekedés térben és időben

A növények és az állatok növekedése közötti különbségek a növényi cellulóz sejtfa jelenlétére vezethetők vissza. Ez ugyanis kialakulását követően megakadályozza a sejt további osztódását és megnyúlását, valamint a szomszédos sejtfa pektintartalmának „ragasztó hatása” lehetetlenné teszi a sejtvánorlást is. Ezek miatt a növények növekedése nem az egész testükben történik, hanem csupán elkülönült kis sejtcsoportokra, a merisztémákra korlátozódik. Az elsősorban a hajtás- és gyökércsúcsban lokalizálódó merisztémák sejtjeinek szerkezete a funkcióhoz igazodik: kis méretük, vékony faluk, nagy sejtmagjuk elősegíti a folytonos osztódódásukat, így ezek a növényi részek elvileg korlátlan hossznövekedésre képesek (indeterminált növekedésűek). Embriónális sejtcsoportokat a növényi testben több pozícióban találunk. Elsődlegesek a csúcsi, vagy apikális merisztémák, melyek a hossznövekedést biztosítják, de találunk merisztémákat a kifejlett gyökérben és hajtásban is, mint a szállítóyalábok fa- és hancsrésze között lokalizálódó kambium, a gyökér periciklusa, vagy a hajtás oldalrügyei. Ezek a vastagodásért (kambium) vagy az oldalszervek megjelenéséért (periciklus, oldalrügy) felelősek. A merisztémák egy harmadik típusát jelenti az ún. interkaláris merisztéma, ami jellemzően a fűfélék szártagjaiban található és a legelő állatok által elfogyasztott növényi részt képezi újra. Az indeterminált növekedésű merisztéma szövetekben a sejtek osztódása és megnyúlása időben nem, térben viszont elkülönül. Elképzelhető, hogy a merisztémán belül az egyik sejt már befejezte az osztódását és megnyúlásba kezd, mialatt egy másik sejt éppen osztódik. Ugyanakkor az osztódó régiókban a sejtek nem nyúlnak meg észrevehetően, a megnyúlási régiókban pedig ritkán osztódnak. Ezzel ellentétben azokban a növényi szervekben, melyek növekedése egy genetikailag meghatározott méret és alak eléréséig tart (determinált növekedésű pl. virág, termés, gumó) a sejtosztódás és a megnyúlás időben jól elkülönül, vagyis előbb minden sejt befejezi az osztódását, majd megnyúlásba kezd (2).

A szövetekben a sejtek növekedése csúcsnövekedéssel vagy diffúz növekedéssel történhet. A tér egy irányába történő, csúcsi növekedés minden esetben hosszú, hengeres sejtalakot eredményez, mint pl. a pollentömlő kialakulása vagy a gyökérszőrök kifejlődése a gyökér epidermisz trichoblaszt sejtjeiből. A pollentömlő esetében ennek a sejtstruktúrának élettani jelentősége van a megtermékenyítés során, a gyökérszőrök esetén pedig a felületnövelésben. A diffúz növekedés a tér több irányában történik és ez a soksejtű szerv sejtjeinek tipikus növekedési formája. Amellett, hogy a merisztémák gyarapítják a sejtek számát, képesek a növekedés-fejlődést időben is szabályozni, amit az alábbiakkal támaszthatunk alá: mérsékelt övi fák esetén ősszel, mikor a környezeti tényezők kedvezőtlenül alakulnak, a merisztémák nyugalmi állapotba kerülnek, majd ismét aktívvá válnak kedvező feltételek mellett (pl. tavaszi rügyfakadás). A merisztémáknak szerepük van a növekedés-fejlődés térbeli irányultságának a

meghatározásában is, hiszen például a csúcsmerisztéma szabályozza a növény elágazási rendszerét (apikális dominancia, lásd 4.3.4).

A növekedést-fejlődést meghatározó sejtszintű folyamatok (sejtosztódás, -megnyúlás és -differentenciáció) összefüggését egy szerv fejlődésének példáján szemléletesen be lehet mutatni (2.2.1. ábra). A levelek fejlődése során kezdetben nagy intenzitású sejtosztódások zajlanak a teljes levéllemezben, valamint ezzel párhuzamosan megkezdődik a gázcserenyílás prekursor sejtjeinek (merisztemoidok) a megjelenése és osztódása. A továbbiakban az osztódások a levél alapra korlátozódnak, a levélcsúcsi sejtek intenzív megnyúlásba kezdenek, a merisztemoid sejtek pedig folytatják az osztódásukat. Később az osztódások befejeződnek, a teljes levéllemezben a sejtek már csak megnyúlnak, és megkezdődik a merisztemoid sejtek gázcserenyílásokká történő differentenciációja. A levélfejlődés utolsó szakaszában már csak megnyúlások és gázcserenyílás differentenciáció zajlik. Ez a példa jól mutatja, hogy az első folyamat a sejtosztódás, mellyel párhuzamosan, de később kezdődően megnyúlások történnek, majd ezután bizonyos sejtek specifikus funkciókra specializálódnak. Mivel a sejtszintű folyamatokban egy egymásutániség fedezhető fel, célszerű ezek részleteit ilyen sorrendben tárgyalni.

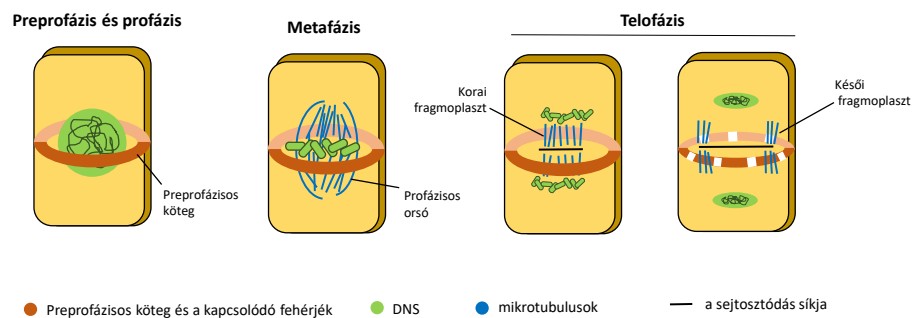


2.2.1. ábra A növekedést-fejlődést meghatározó sejtszintű folyamatok (sejtosztódás, -megnyúlás és -differentenciáció) egymásutániséga a levéllemez kiterjedésének példáján. (Ördögné Dr. Kolbert Zsuzsanna ábrája)

2.2.3. A növényi sejtosztódás és szabályozása

Az osztódásra képes sejtek egymást követő, ismételt sejtciklusokon mennek keresztül. A sejtciklus a sejt életciklusa, egy olyan körfolyamat, ami az osztódásból és az osztódások közötti időből (interfázis) áll. Az interfázisban (G1, S, G2) a sejt tömeg növekszik, és a sejt felkészül a DNS replikációra, illetve a mitózisra. A mitózis pro-, meta-, ana- és telofázisa minden eukariótában nagyjából egyformán zajlik. Lényeges különbség azonban, hogy a növényi sejtek nem vándorolnak, ezért a három-dimenziós struktúra kialakítása a mitózis időbeli és térbeli szabályozásával lehetséges. További különbség az állati és növényi sejtek osztódása között az, hogy a mitózis során a növényi leánysejtek között falkakell kialakulnia. Ebben a folyamatban a citoszkeleton kulcsfontosságú. A növényi citoszkeleton aktin mikrofilamentumokból és mikrotubulus csövekből áll. A G2 szakasz végén a mikrotubulusok és a mikrofilamentumok a sejt mag körül egy gyűrűszerű struktúrát hoznak létre, ez a **preprofázisos köteg**, ami kijelöli az osztódás síkját és a jövőbeli sejt fal helyzetét. Ez az átmeneti képződmény 2-3 μm széles és 10-100 mikrotubulusból áll, melyeket aktin filamentumok kapcsolnak össze. Újabb eredmények szerint a preprofázisos köteg jelentősége nem elsősorban az osztódási sík kijelölésében van, hanem sokkal inkább a mitotikus orsó pozíciójának meghatározásában (3). A mitózis profázisában a

preprofázisos köteg lebomlik, és a sejtmag két szemben lévő pólusán orsó szerűen rendeződnek a mikrotubulusok húzófonal apparátust, **profázisos orsót** hozva létre, melynek mindkét végén mikrotubulus organizáló központ alakul ki. Az anafázis végén, illetve a telofázis elején a depolimerizált húzófonalakkból, filamentális aktinból és endoplazmatikus retikulum membránokból **fragmoplaszt** jön létre. A citokinézis során a két leánysejt különválik és közöttük pektinben gazdag középlemez alakul ki. A Golgi apparátusban szintetizálódó pektin vezikulákban érkezik a fragmoplaszt közelébe. A vezikulák aggregációját követően egy tubuláris-vezikuláris hálózat alakul ki, melybe később cellulóz épül be, így a két leánysejt immár fallal körülvéve, fizikailag elkülönül egymástól.



2.2.2. ábra A növényi mitózis jellegzetes szakaszai és képződményei: preprofázisos köteg, profázisos orsó és a fragmoplaszt. (Ördögné Dr. Kolbert Zsuzsanna ábrája)

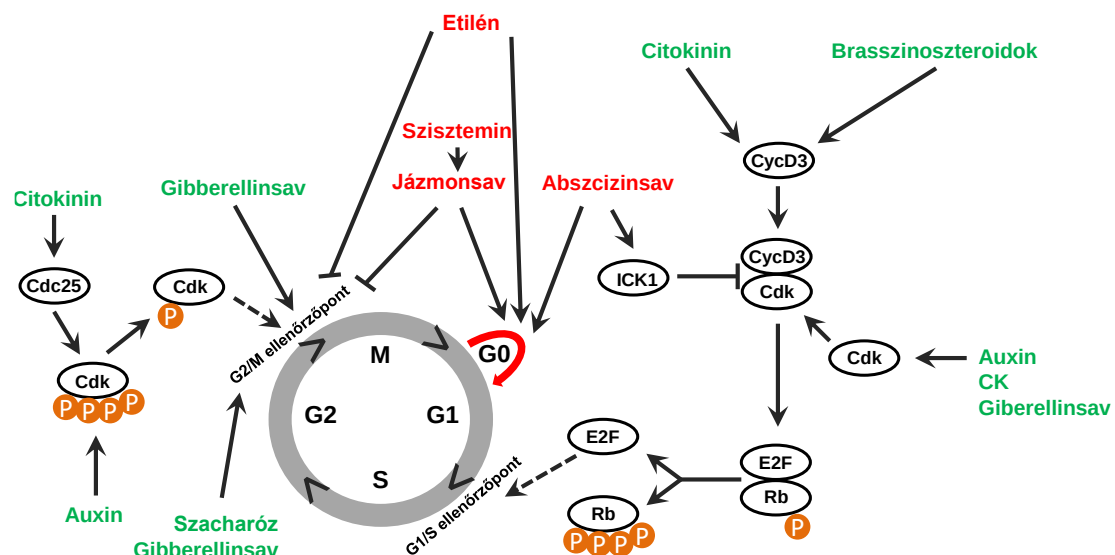
Az állati és a növényi rendszerek megegyeznek abban, hogy evolúciósan konzervált, szigorúan szabályozott sejtciklust tartanak fenn. Az ellenőrző pontokon a sejt kiléphet a ciklusból, ezzel biztosítva, hogy a hibás sejtek száma ne gyarapodhasson. Állati sejtekben a G1 fázisban van az egyetlen ellenőrzési pont, így, ha azon túljutott a sejt, akkor már biztosan ketté osztódik. A növényi sejtekben a G1 és a G2 fázisban is van olyan ellenőrzési mechanizmus, ahol a sejt elhagyhatja a ciklust, vagyis egy DNS állományát megkettőzött sejt osztódás nélkül is kiléphet a sejtciklusból, aminek következtében tetraploid sejt jöhet létre. Ez a magyarázata a növényvilágban elterjedt poliploidia jelenségének.

A sejtciklus fő fázisátmeneteit a ciklin-függő protein kinázok (cyclin-dependent protein kinase), CDK) szabályozzák, melyek ATP felhasználásával szubsztrátokat foszforilálnak. Eddig 152 CDK-t azonosítottak 41 növényfajban. Az állati CDK-kat számmal különböztetik meg, a növények CDK enzimeit betűkkel jelölve hét csoportba soroljuk (A-tól G-ig). A CDK-k ciklineket kötnek és bontanak, és csak ezek jelenlétében tudnak katalitikus aktivitást kifejteni. Eddig több mint száz ciklint mutattak ki növényekben, melyeket az állati ciklinekkel való homológiájuk alapján csoportosítanak. A CDK enzimek aktivitása foszforiláció és defoszforiláció révén is szabályozódik. Az enzim két foszforilációs módosításra alkalmas tirozin aminosavat tartalmaz, melyek közül az egyik aktiváló a másik gátló hely.

Egy normál lefolyású sejtciklus során a G1 fázisban a CDKA G1-specifikus ciklint (ciklin D) köt és foszforilálódik az aktiváló helyén. Az aktív ciklin D-CDKA komplex az S-fázisba való átmenetet segíti elő azáltal, hogy hiperfoszforilálja a retinoblasztóma (RB) fehérjét, melyről leválik az E2F transzkripció faktor. Az ilyen módon szabaddá vált E2F S-fázis-specifikus gének (pl. sejtmagi DNS replikációhoz szükséges enzimek génjei) promóteréhez kötődve azok átírását teszi lehetővé. Az E2F transzkripció faktorból hármat (E2F a,b,c), míg a negatív regulátor RB fehérjéből egy növényi homológot azonosítottak. Az S-fázis végén a G1-ciklin lebomlik a CDK pedig defoszforiláció következtében inaktívulódik. A sejt G2 fázisba lép, ekkor a CDK M-ciklint köt és foszforilálódik az aktiváló és a gátló helyén is, aminek következtében inaktívvá válik. Akkor lesz aktív, ha a gátló helyről egy foszfatáz

lehasítja a foszfátot. Az aktivált CDK elősegíti a G2-M átmenetet. A mitózis végén a M-ciklin lebomlik, a foszfát lehasítódik az aktivációs helyről, így inaktív lesz a CDK, és a sejt újra G1 fázisba lép. Az állati sejtekhez hasonlóan a növényi sejtek ciklusa is megállhat a G1 fázisban. Ezekben a G0-nak (vagy őssejteknek) nevezett sejtekben nem történik sejtosztódás és kismértékű DNS, RNS és fehérjeszintézist tartanak fenn. A növények esetében G0 sejteket találunk a gyökércsúcsi merisztéma ún. nyugalmi centrumában. Bab gyökerében a G0 sejtek száma 300, míg *Arabidopsis*-ban csupán négy (4).

Növényi sejtekben mindkét ellenőrzési pont hormonális ellenőrzés alatt áll. A G1/S átmenet során az auxin, citokinin (CK) és brasszinoszteroid (BR) fokozza a ciklinD3 (D-típusú) kifejeződését, ami a CDK-hoz kötődve aktiválja azt. A CK nem csak a ciklin parter kifejeződését fokozza, hanem magának a CDK-nak az aktiválódását is okozza, csakúgy, mint az bebizonyosodott az auxinról, és a gibberellinsavról (GS). A CDK aktivációja az előzőekben részletezett mechanizmussal átlépteti a sejtet az S fázisba. Az abszcizinsav (ABS) negatív regulátorként egy ciklin-függő kináz inhibitor (ICK1) aktivál. A G2/M átmenet során auxin hatására a Cdc2 nevű CDK gén expresszálódik. A Cdc2 mindaddig inaktív marad, míg egy CK-aktivált foszfatázzal nem defoszforilálódik. Az aktív CDK pedig a G2/M átmenetet, így a sejtosztódást elindítja. A citokininnek és auxinok mellett felismerték a szacharóz és a GS serkentő, valamint az etilén és a jázmonsav gátló hatását a G2-ből M fázisba történő átmenet során. További szabályozónak bizonyult a szisztemin peptid hormon, ami a jázmonsav bioszintézisének indukcióján keresztül negatívan befolyásolja a sejtciklust (5). A negatívan szabályozó hormonok (ET, ABS, jázmonsav, szisztemin) a sejtciklus G1 fázisban történő megrekedését okozzák, így felelősek a G0 sejtek kialakulásáért. A növényi sejtciklus molekuláris és hormonális szabályozását a 3. ábrán foglaljuk össze. A fent említett hormonokról részletesen a 3.2. és 3.3. fejezetekben lesz szó.



2.2.3. ábra A növényi sejtciklus hormonális és molekuláris szabályozása. A pozitívan szabályozó hormonokat zöld színnel, a negatív hatású hormonokat pirossal jelöljük. A sejtciklus megállhat a G1 fázisban; ezeket a sejteket G0 sejteknek nevezzük (az ábrán pirossal jelölve). (Ördögné Dr. Kolbert Zsuzsanna ábrája)

2.2.4. A sejtmegegyülés és szabályozása

Az egyik legjelentősebb és leggyorsabb növényi hormonválasz a sejtmegegyülés auxin általi indukciója izolált hajtás és koleoptil (rügyhüvely) szegmensekben. Az auxin hozzáadása után 10 perccel a megegyülés mértéke 5-10-szeresére növekszik, és ez a hatás órákig vagy akár napokig is eltarthat. A

sejtmegnyúlás két összefüggő folyamatból áll: vízpotenciál grádiens által meghajtott sejtbe irányuló vízfelvétel és a meglévő sejtfa növekedése, melyet a turgor nyomás feszítő hatása eredményez. Az auxin-indukált sejtmegnyúlásnak egyik jellemzője a hatás megjelenésének **időbeli lefutása**. A növekedés fokozódását egy legalább 8 perces lag fázis előzi meg, aminek a hossza nem rövidíthető le a hőmérséklet változtatásával, többlet auxin adagolással vagy más metabolitok/hormonok hozzáadásával. Továbbá a lag fázis független a fehérjeszintézis mértékétől. Mind ezek arra utalnak, hogy lag periódusban nem történik meg a gyors sejt megnyúláshoz szükséges új fehérjék szintézise. A legtöbb szövetben az első 2-4 órában mért növekedés arányos a külső auxin **koncentráció** logaritmusával, bár a hatásos koncentrációk szövetenként változók lehetnek. Az auxin által kiváltott sejtmegnyúlás energiaigényes folyamat, amit bizonyít, hogy az ATP szintézis vagy az ATPáz enzim gátlószerei percekben belül megállítják az auxin-indukált növekedést. Egy további feltétele az auxin hatás megjelenésének, hogy a turgor nyomás mértékének meg kell haladnia az ún. falhozam küszöbértéket (Y). Ez az a turgor nyomás érték, aminél nagyobb érték szükséges a sejtfa megnyúlásához. Összegezve elmondható, hogy az auxin indukált megnyúlásnak az alábbi feltételei vannak: az auxin folyamatos jelenléte, folyamatos ATP ellátás és ATPáz aktivitás, fehérjeszintézis és a falhozam küszöbértéket meghaladó turgor nyomás.

A sejtmegnyúlás indukálásához az auxinnak kötődnie kell egy receptorhoz, ami a sejtmembránban vagy a sejt belsejében lokalizált. A megnyúlás azonban a sejtfa lazulását igényli, ami pedig a sejt külső felszínén történik. Ez azt jelenti, hogy abban az esetben, ha a sejtet auxinnal stimuláljuk, a sejt és a sejtfa között kommunikációs összeköttetésnek kell működnie. Ez feltehetőleg egy vagy több sejtfa lazító faktornak (wall-loosening factor, WLF) nevezhető anyag működése révén valósulhat meg. Ezidáig egyetlen WLF hatású szabályozót azonosítottak, ami a proton. A „sav-as növekedés” teória szerint az auxin jelenlétében protonok halmozódnak fel az apoplastikus térben, ahol a csökkenő pH sejtfa lazító enzimeket aktivál. Az alábbi kísérletes bizonyítékok alátámasztják a sav-as növekedés teóriáját:

- *Avena* (zab) koleoptilok protont választanak ki auxin kezelésre válaszul, és ennek lag fázisa összevethető a megnyúlás indukció lag fázisával.
- az auxin-indukált megnyúlás mértéke arányos a proton kiválasztás mértékével.
- auxin hatása helyettesíthető savas puffer adagolásával (intakt kutikula esetén pH 3, kutikula hiányában pH 5 puffer).
- minden olyan ágens, ami proton kiválasztást okoz (pl. fuzicoccin gombatoxin) gyors sejtmegnyúlást is okoz.

Újabban a hidroxil gyökök (OH^-) sejtfa lazításban betöltött szerepét valószínűsítették. Ezek a gyökök sejtfa peroxidázok aktivitása révén keletkeznek, és képesek a sejtfa kötéseinek hasítására, bár csak 1 mM Fe^{2+} vagy Cu^{2+} jelenlétében, mely körülmény kialakulása a sejtfaiban csekély valószínűségű. A sav-indukált fallazulás a gyors növekedés serkentő hatást magyarázza, azonban nem tűnik megfelelő magyarázatnak az auxin hosszú távú hatásait tekintve. Ezért valószínűsíthető, hogy egyéb, eddig nem ismert természetű WLF-ek is szerepelnek a folyamatban.

Az auxin legalább négy lehetséges módon okozhat proton kiválasztást: 1, fokozza az ATPáz enzimek *de novo* szintézisét; 2, már meglévő ATPáz enzimek aktivitását fokozza; 3, az ATPáz enzimeket aktiválja a citoplazmikus pH csökkentésén keresztül; 4, közvetett módon, jelátviteli kaszkádot (pl. inozitol-trifoszfát, G-fehérjék, protein kinázok és foszfolipázok) aktivál.

A protonok sejtfaiban történő felhalmozódásának a következménye a sejtfa poliszacharidok keresztkötéseinek a hasítása. A növényi sejtfa egy élő makromolekula komplex, melyben legalább három különböző hálózat található: cellulóz hemicellulózokkal keresztkötve, pektin láncok kalciummal keresztkötve és szerkezeti fehérjék. A kalcium eltávolítása a falból csupán kismértékű sejtfa lazulást

eredményez, ami arra utal, hogy az auxin-indukált fallazulás során a pektin láncokat keresztkötő kalcium hidak felbomlásának nincs jelentős szerepe. Hasonlóan, ha izolált sejtfalakat proteáz kezelésnek tesszük ki, nem tapasztalunk sejtfallazulást. Az auxin-indukált sejtfal lazulás tekintetében a hemicellulóz-cellulóz kötések enzimatis hasításának van jelentősége. A kétszikűek sejtfalában a xiloglukán a fő hemicellulóz komponens, míg az egyszikű fal esetén az arabinoxilán a domináns összetevő. Érdekes módon, *in vitro* tesztekben a xiloglukán endotranszzglükóziláz nem, a celluláz, endo-1,4-glukanáz, a xiloglukán hidroláz és az expanszin fehérjék viszont fallazulást okoztak savas pH-n (6).

2.2.5. Sejtdifferenciáció és szabályozása

A sejt differenciáció olyan minőségi változások sorozata, amely során az egyszerű felépítésű és genetikailag azonos sejtek különbözőkké válnak, bizonyos funkciókra specializálódnak és kialakítják a növény különböző szöveteit és szerveit. Kialakul a sejtek végleges formája és funkciója, megszűnik az osztódóképességük és megindul a sejtfalanyag lerakódás. Differenciációs folyamat például a csúcsmerisztéma sejtekből különböző szársejtek vagy levélsejtek megjelenése, a periciklus sejtekből az oldalgöyökér sejtek kialakulása vagy a kambium sejtekből rostacsövek, tracheida sejtek képződése. A növényeknek körülbelül egy tucatnyi alapvető sejt típusa van, melyek a testük mindennapi működéshez és a túléléshez szükségesek. A magasabbrendű növények majdnem minden diploid sejtje a zigótából alakul ki mitózissal, vagyis azonos genetikai állományú (a zigóta totipotens). Felmerül a kérdés tehát, hogy hogyan alakulhatnak ki különböző sejt típusok azonos génállományú sejtekből? A válasz a génkifejeződés mennyiségi és minőségi változásaiban keresendő, vagyis, hogy szövettípustól vagy fejlődési állapottól függően különböző gének fejeződnek ki, és a kifejeződés mértéke is eltérhet. Ezt a jelenséget **differenciált génaktivitás**nak nevezzük (7). A génaktivitás változásokat külső és belső (pl. hormonok) tényezők irányítják. A differenciálódás folyamán négy fő eseményt különíthetünk el:

- az induktív jel (pl. hormon) megjelenése és annak érzékelése (szignál percepció)
- a sejt azonosságát meghatározó gének kifejeződése
- a differenciált sejt speciális aktivitásához és szerkezetéhez szükséges gének kifejeződése
- a géntermék aktivitása, ami a sejt speciális szerkezetének kialakításához és/vagy funkcióinak betöltéséhez szükséges

A hormonok által szabályozott differenciáció egy szemléletes példája az **auxin hatására bekövetkező xilém differenciáció sebzett szövetben**. Az alátámasztó kísérlet során uborka növény hajtáscsúcsát és fiatal leveleit, mint endogén auxin forrásokat eltávolították, majd a növény szárát bemetszették a sebzési hely felett pedig lanolin pasztában auxint juttattak a szárra. Egy bizonyos idő elteltével a mikroszkópba tekintve azt tapasztalták, hogy xilém sejtek differenciálódtak a szár eredetileg nem xilém sejtjeiből a sérült szállítóelemek regenerálása céljából. A xilém sejt differenciáció két alapvető folyamata a másodlagos fal szintézise és a sejthalál. Ezeket a speciális szerkezetet, sejt funkciót biztosító gének (pl. proteázok, ribonukleázok) differenciált kifejeződése teszi lehetővé az előzőekben bemutatott események mentén (8).

A differenciált állapot flexibilis, hiszen egyes sejtekben a totipotencia látens módon megmaradhat és bizonyos körülmények között előtérbe kerülhet, vagyis ezek a sejtek elveszíthetik differenciáltságukat és visszanyerhetik totipotens jellegüket. Egy speciális, kevésbé differenciált sejthalmaz a kallusz, mely elnevezés eredetileg a sebzési felületen kialakuló hegyszövetet jelentette, de szélesebb értelemben ide tartozik minden kevésbé differenciált osztódó szövet. *In vitro* körülmények közé helyezett növényi szövetekből auxin és citokinin hatására is ilyen kallusz szövet képződik. A redifferenciáció folyamatában a kallusz sejtek szöveteket és szerveket vagy akár egész növényt hoznak létre, ami a mikroszaporítás alapja. A növényi sejtek diverzitása az állatokéhoz képest kismértékű, az egyes sejt típusok mégis nagymértékben eltérőek. Például a parenchima sejtek egész életük során képesek

válaszolni környezeti és/vagy hormonális jelekre, és megfelelő körülmények között más sejttípussá tudnak differenciálódni (transzdifferenciáció). Más sejtek, mint pl. a vízszállító xilém elemek sejtei a differenciációs programjuk részeként sejthalált szenvednek el, így nem képesek transzdifferenciációra.

A differenciálódással szorosan összefüggő folyamat a polaritás kialakulása. A polaritás egy tengely mentén olyan módon kialakuló különbözőségeket jelenti, hogy a tengely egyik vége a másiktól valamiben különbözik. Polaritás kialakulhat sejten belül, szerven belül vagy a növény egész testére vonatkozóan. A tengelyvégek (pólusok) között megjelenő különbség sokféle lehet: lehet szerkezeti eltérés, bizonyos anyagok koncentrációjának különbözősége vagy egyéb fiziológiai, biokémiai eltérések. Egy sejt esetében a sejt komponensek aszimmetrikus eloszlása egy sejten belüli tengely mentén alakítja ki a polaritást. A növényi sejt heteropoláros, vagyis a pólusok jellege eltérő, a tengelyek pedig nem szükségszerűen hosszirányúak. A magasabbrendű növények embriófejlődése során két polaritás tengely határozódik meg, mely vonatkoztatható a sejtekre is: apikális-bazális és centrális perifériás tengely (9). Az egy sejtben kialakuló polaritásnak extrém példái a trópusi vizekben előforduló, egysejtű zöldalga fajok, az *Acetabularia ssp.* A sejt mérete 0,5-től akár 10 cm-ig is terjedhet és nagyfokú komplexitás jellemzi. Ez az egyetlen sejt három anatómiai egységre tagolódik: gyökérszerű, rizoid pólusra, mely tartalmazza a sejtmagot, szárszerű képletre és gombakalapra emlékeztető apikális pólusra. Az *Acetabularia* alga a növényi sejtbiológia modellje, és a vele végzett kísérletek igazolták, hogy a sejtmag jelenlétében az eltávolított kalap regenerálódni képes (10).

A szervi és szöveti polaritás kialakulása általában valamilyen mintázatot kialakító helyzeti jelnek az aszimmetrikus eloszlását igényli. Az auxin növényi hormon kulcs szereplő a polaritás kialakulási folyamatokban, hiszen a szövetekben képes egyenlőtlenül eloszlani kialakítva ezzel magasabb és alacsonyabb auxin koncentrációjú régiókat, melyek pozíciós információt jelentenek a fejlődés során. Az egyenlőtlen auxin eloszláshoz a lokális auxin bioszintézis hozzájárulhat, de legfőképp a sejtről sejtre történő irányított auxin szállítás (poláris transzport) a felelős (lásd részletesen az 3.2.4.).

Az olyan sejtekben, melyek kezdetben nem polarizáltak (zigóta, spóra, pollen) környezeti faktorok, mint a hőmérséklet, fényerősség, pH, ionok kiválthatják a polaritás megjelenését. A *Fucus* és a *Pelvetia* barna moszatok a magasabbrendű növényekkel, sőt a legtöbb más moszattal ellentétben ivarsejtjeiket a tengerbe juttatják, ahol megtörténik a megtermékenyítés. A kialakuló zigóta sejtfal nélküli és teljesen apoláros. A megtermékenyítést követő néhány órán belül azonban meghatározódik egy polaritás tengely a zigótában az egyoldalú megvilágítás hatására. Kezdetben ez a tengely nem stabil, hanem változtatható a megvilágítás irányának változtatásával. Ekkor a sejt árnyékos membránjában kalcium csatornák jelennek meg, így az árnyékos oldalról a megvilágított sejtoldal felé kalcium ionáram indul meg. A kalcium gazdag árnyékos oldalon aktin filamentumok polarizálódnak, melyek sejtfal anyagokat szállítanak az árnyékos pólushoz, így itt megkezdődik a sejtfal szintézise. A polaritás stabilizálódik, és egyenlőtlen sejtosztódás révén létrejön egy apikális és egy bazális (rizoid) sejt (11).

Összefoglalás

1. a növekedés irreverzibilis méretváltozást jelent, pl. a lombszelek kiterjedése
2. a fejlődés irreverzibilis minőségi változásokat jelent, pl. virág merisztémából a virág kifejlődése
3. a növekedés-fejlődés sejt szintű folyamatai: sejtosztódás, -megnyúlás és –differenciáció
4. a növényi sejtosztódás jellegzetességei: a preprofázisos köteg, a profázisos orsó és a fragmoplaszt, majd a két leánysejtet elválasztó sejtfal kialakulása.

5. a növényi sejtciklusban két ellenőrzési pont van (G1/S és G2/M átmenetekenél), állati sejtciklusban csak egy (G1/S).
6. a növényi sejtciklus ellenőrzési pontok hormonális szabályozás alatt állnak, főszereplők a citokininek és az auxinok
7. a sejtmegnyúlás előfeltétele a sejtfal lazulása, amit az auxin vált ki a sejtfal pH-jának csökkentése (proton kiáramlás) révén.
8. sejt differenciáció az osztódásukat és megnyúlásukat befejezett sejtekben megy végbe.
9. a sejtek a végleges szerkezetüket és funkciójukat differenciált génaktivitás révén érik el.
10. a differenciáció során kialakul a polaritás a sejtekben, szövetekben, illetve az egész növényi testben, ami egy tengely mentén különbözőségeket kialakulását jelenti. Ennek egyik fő szabályozója az irányított, poláris auxin transzport.

Ellenőrző kérdések

1. Növekedési vagy fejlődési folyamatként azonosítható a főgyökér megnyúlása?
2. Növekedési vagy fejlődési folyamatként azonosítható az oldalgyökök megjelenése?
3. Mely a sejtosztódásban szerepet játszó sejtalkotó?
4. Mi az oka annak, hogy a növények esetén gyakori a poliploidia jelensége?
5. Mik azok a sejtfallazító faktorok? Mondjon példát!
6. Miben nyilvánul meg a differenciált génaktivitás az auxin által indukált xilém differenciáció során?
7. Milyen tengelyei vannak egy növényi sejtnak?
8. Milyen példát tud mondani az egy sejtben kialakuló extrém polaritásra?
9. Az indukált petesejt polaritás esetén mely ionnak van és milyen szerepe?

Megvitatandó kérdések

1. Mi lehet a jelentősége annak, hogy a növényi sejtciklusban két ellenőrzési pont van, ahol a sejt elhagyhatja a ciklust?

Javasolt irodalom

1. Erdei László (szerk.). Növényélettan – Növekedés - és fejlődésélettan. JATEPress Szeged, Magyarország, 2011.
2. Laskay Gábor, Mihalik Erzsébet. Növényi sejtbiológia. JATEPress Szeged, Magyarország, 2000.
3. Jones R, Ougham H, Thomas H, Waaland S (Eds) The molecular life of plants. Wiley-Blackwell, American Society of Plant Biologists, 2013.
4. Taiz L, Zeiger E, Møller IM, Murphy A (Eds) Plant physiology and development, 6th edition, Sinauer Associates, Inc., 2015
5. Buchanan BB, Gruissem W, Jones RL (Eds) Biochemistry and molecular biology of plants. Second Edition. American Society of Plant Biologists, 2015.

1. Watada AE, Herner RC, Kader AA, Romani RJ, Staby GL. Terminology for the Description of Developmental Stages of Horticultural Crops. *HoRtSciENCE*, 1984 19(1):20-21.
2. Pavlović M, Radotić K. Stem Cells in Plants. Meristems. In: *Animal and Plant Stem Cells*. Springer, Cham, 2017 pp. 171-174.
3. Schaefer E, Belcram K, Uyttewaal M, Duroc Y, Gousset M, Legland D, Laruelle E, de Tauzia-Moreau M-L, Pastuglia M, Bouchez D. The preprophase band of microtubules controls the robustness of division orientation in plants. *Science*, 2017 356:186–189.
4. Francis D. What's New in the Plant Cell Cycle? In: Lüttge et al. (eds) *Progres in Botany* 70, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2009, pp. 33-49.
5. Wong WS, Tan SN, Ge L, Chen X, Jong JWH. The Importance of Phytohormones and Microbes in Biofertilizers. In: D.K. Maheshwari (ed.), *Bacterial Metabolites in Sustainable Agroecosystem, Sustainable Development and Biodiversity* 12, Springer International Publishing Switzerland 2015, pp. 105-158.
6. Cleland RE (2010) Auxin and Cell Elongation. In: Davies P.J. (eds) *Plant Hormones*. Springer, Dordrecht, pp 204-220.
7. Moore R, Clark WD, Vodopich DS. 2003. *Botany*. 2nd ed. Boston, Massachusetts, McGraw-Hill. 919 pp.
8. Aloni R. 2001. Foliar and Axial Aspects of Vascular Differentiation: Hypotheses
a. and Evidence. *J Plant Growth Regul* (2001) 20:22–34.
9. Dettmer J, Friml J. Cell polarity in plants: when two do the same, it is not the same... *Curr Opin Plant Biol*. 2011, 23:686–696.
10. Dumais J, Serikawa K, Mandoli DF. *Acetabularia*: A Unicellular Model for Understanding Subcellular Localization and Morphogenesis during Development. *J Plant Growth Regul*. 2000, 19:253–264.
11. Kropf DL. 1992. Establishment and expression of cellular polarity in fucoid zygotes. *Microbiol. Rev.* 1992 Jun; 56(2): 316–339.

2.3. Fejezet A növényi egyedfejlődés fényszabályozása.

Írta: Dr. Pécsváradi Attila

Tanulási célkitűzések:

Tudás

- ismeri, hogy milyen hullámhosszú fény hat a növényekre életfolyamataira
- ismeri milyen fotoreceptorok vannak a növényekben
- ismeri a fitokrómok szerkezetét és működését
- ismeri a fitokrómok jelátviteli modelljét
- ismeri a kékfény receptorok főbb típusait
- tudja magyarázni a VLFR, LFR HIR válaszok lényegét

Képesség

- képes adott hullámhosszú fényforrásnak, a fény irányának, erősségének a növények növekedésére és fejlődésére gyakorolt hatását meghatározni, értékelni, megjósolni

Attitűd

- nyitott annak az elfogadására, hogy a növények a környezetüket az állatokhoz hasonlóan komplex módon képesek érzékelni

Autonómia/felelősség:

- tudatában van annak, hogy a környezet mesterséges fényviszonyai („fényszennyezés”) akaratlanul is hatással lehetnek a növények fejlődésére
- önállóan nyilvánít véleményt a fény szerepéről a növények életfolyamataiban

2.3.1. A növények és a fény

A növények életét alapjaiban meghatározza két körülmény: i) helyhez kötött (szesszilis) élőlények; ii) a napfény energiáját hasznosítják életfolyamataik fenntartására (fotoautotrófok). Túlélésük záloga a változó környezethez való mind tökéletesebb alkalmazkodás. Evolúciójuk során a környezeti hatásokat érzékelő receptorokról kiinduló jelátviteli láncok összekapcsolt hálózata alakult ki, mely biztosítja a növényi homeosztázist szélsőséges környezeti viszonyok között is.

A növények számára a fény nem csak energiatartalma miatt fontos. Kiemelt szerepét erősíti, hogy a változó környezetről információt is hordoz. Ennek az információnak a kiaknázhatóságát a fényérzékelésért felelős fotoreceptorok teszik lehetővé. Segítségükkel érzékelik a fény meglétét, vagy hiányát, irányát, periodikus változását, a spektrum bizonyos régióinak reprezentáltságát és azok intenzitásának egymáshoz való viszonyát. A fotoreceptorokról kiinduló jelátvitel bekapcsolja előbb a génkifejeződés, majd az életfolyamatok és a növényi fejlődés szintjein bekövetkező változásokat, melyek biztosítják a növény alkalmazkodását. A fotoreceptorok által befolyásolt fiziológiai változások az alábbi élettani folyamatokra hatnak:

- csírázás;
- csíranövények fényfüggő fejlődése;
- árnyékelkerülés;
- fototropizmus;
- szintestek mozgása, gázcserenyílás nyitásának szabályozása;
- a nappalok hosszának érzékelése és a
- virágzás.

A növényi fejlődés fényfüggő jelenségeivel a fotobiológia foglalkozik. Fejlődési programjuk két alapvető szakaszra különül:

- a csírázástól a föld felszínének eléréséig tartó szkotomorfogenezis, amikor a csíranövény sötétben fejlődik,
- az ezt követő közvetlen napfényben történő fotomorfogenezis.

Ennek az összetett folyamatnak a során a mag először vizet vesz fel, - megduzzad - majd beindul a csírázás. Ezzel kezdetét veszi az etiolált csíranövény fejlődése: a szkotomorfogenezis. Ennek folyamán a hipokotil megnyúlása a felszín irányába emeli a szikleveleket, amik kicsik, zártak és visszahajlanak, hogy megóvják az általuk közrezárt merisztémát a föld okozta sérülésektől. A csíranövény sejtjeiben érett klorofillt nem tartalmazó színtestek, etioplasztok találhatók. A felszín és a napfény elérése beindítja a fotomorfogenezisnek nevezett programot, aminek folyamán a hipokotil megnyúlása lelassul, a sziklevelek kinyílnak és növekedni kezdenek. Az etioplasztok érett kloroplasztizókká fejlődnek — a növény zöldül — és valódi levelek fejlődése indul be. Végül a növény életének végén beindul a reprodukív program, a növény virágozik, majd magot hoz.

Jelenlegi ismereteink szerint a növényi fotoreceptorok a földfelszínre elérő napsugárzás három hullámhossz-tartományát képesek érzékelni:

1. Vörös és távoli vörös - fitokrómok
2. UV-A és kék – UV-A receptor, kriptokrómok, fototropinok
3. UV-B – UV-B receptor

2.3.2. A vörös és távoli vörös fény érzékelése

2.3.2.1. A fitokrómok

A növények életében a vörös fény kiemelten fontos szerepe annak köszönhető, hogy a fotoszintetikus apparátus a kék mellett a vörös fényt tudja legnagyobb hatékonysággal hasznosítani. A növények a vörös (660 nm) fény mennyiségének mérésével információt nyernek a számukra elérhető energiamennyiségről és ennek függvényében optimalizálják életfolyamataikat és fejlődési programjukat. Amikor a napfény áthalad egy levélen, a kék és vörös részét a fotoszintetikus apparátus elnyeli. A zöld fény hasznosul legkevésbé, ez nagy részben visszaverődik, míg a távoli vörös (730 nm) fény nagy része áthatol a levél szövetein. A spektrum vörös és távoli vörös részének és egymáshoz viszonyított arányának mérésével a növény fontos információt nyer a környezetében élő versenytársairól. E folyamatok mögött a fitokróm fotoreceptorok állnak. Jelentőségüket mutatja, hogy minden fényben fejlődő növényben megtalálhatóak, a moháktól egészen a kétszikűekig (15).

Mai ismereteink szerint a fitokrómok a szkotomorfogenezis és a fotomorfogenezis programjait megvalósító két, transzkripció faktorokból felépülő kaszkádrendszer között helyezkednek el. Fényaktivációjuk révén a szkotomorfogenezis rendszerét „le-”, míg a fotomorfogenezis rendszerét „bekapcsolják”.

Saláta magvak csírázását a vörös fény (600-700 nm) serkentette, míg távoli vörös fény (700-750 nm) gátolta (4). Ha egymás után felváltva több vörös és távoli vörös impulzusnak tették ki a magokat, mindig az utolsó kezelés hatása érvényesült. Vagyis a fitokrómok fényfüggő módon ki-be „kapcsolhatók” és a hatásuk megfordítható. Az akcióspektrum meghatározásával derült fény két fontos hullámhossza:

- a 660 nm leghatékonyabban serkentette, míg
- a 730 nm hullámhosszú fény leghatékonyabban gátolta a csírázást (4).

ez két hullámhossz a fitokrómok két konformerének abszorpciós maximumai. A fitokrómok kb. 120 kDa móltömegű molekulák. Apoproteinjük a citoplazmában szintetizálódik. A lineáris tetrapirrol kromofór, — a fikocianobilin, vagy röviden PΦB — autokatalitikus kötődésével létrejön az érett fitokróm holoprotein.

Az I-es típusú fitokrómok sötétben nőtt növényekben magas szinten akkumulálódnak, majd fehér fényben gyors degradáción mennek keresztül, míg a II-es típusú fitokrómok fényben stabilak. A gének későbbi izolálásával vált ismertté, hogy *Arabidopsis thaliana*-ban a fitokrómok egy kis, öttagú géncsaládot alkotnak, melynek tagjait PHYTOCHROME A, B, C, D, E-nek hívjuk (röviden PHYA - PHYE) (21). Sötétben nőtt növényben a PHYA fehérje szintje a legmagasabb, mely fény hatására gyorsan elbomlik (I-es típusú) és a fényben stabil PHYB - PHYE fehérjék válnak a domináns vörös receptorokká (II-es típusúak).

2.3.2.2. A fitokrómok molekuláris szerkezete

A fitokrómok móltömege viszonylag nagy, ~120 kDa. A két holoprotein egység dimerje, ~240 kDa. A fitokrómok egy N-terminális (kb. 70 kDa) és egy C-terminális (kb. 55 kDa) doménre tagolhatóak, melyeket a proteolitikusan sérülékeny csukló régió köt össze (2.3.1. ábra). Az N-terminális domén további al-doménekre osztható. Az első régió egy szerinben gazdag úgynevezett N-terminális extenzió (NTE), mely csak növényi fitokrómokban fordul elő. Ez a régió a különböző fitokrómok körében nagyfokú változatosságot mutat. Egyre több kísérleti eredmény utal azonban ennek a régióknak a jelátvitel szabályozásában betöltött jelentős szerepére. Az N-terminális régióban találhatóak a PAS (PER-ARNT-SIM), GAF (cGMP specifikus foszfodiészteráz) és PHY (fitokróm specifikus) régiók, melyek minden fitokrómban (növényi és bakteriális) megtalálható és ezek alkotják a fotoszenzoros magot. A fényérzékelés és a jelátvitel az N-terminális doménjén (a molekula első nagyjából 70 kDa mol tömegű része) történik, míg a C-terminális domén (a molekula végének nagyjából 55 kDa mol tömegű része) a jelátvitel modulációjában játszik szerepet (16).

A fotoszenzoros mag bilin liáz aktivitással rendelkezik, melynek köszönhetően autokatalitikus reakcióban a kromofór a GAF aldomén egy evolúciósan konzervált helyzetű cisztein oldallánchoz köti tioéter kötéssel. A molekula ezen része játszik szerepet a fényjel felfogásában és a kromofór fény hullámhosszától függő konformációváltozása kihatással van a fitokróm fehérje harmadlagos szerkezetére.

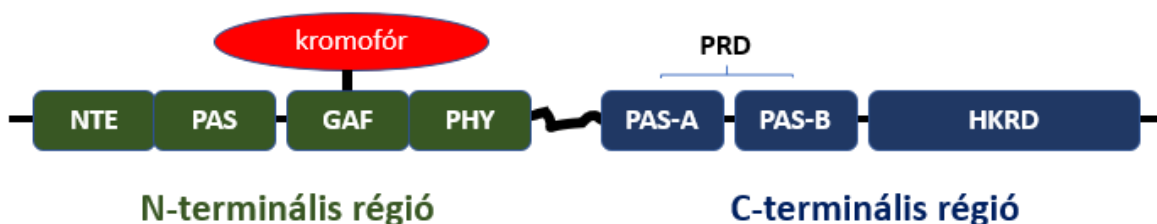
A C-terminális domén PRD (PAS related domain) és HKRD (hisztidin kinázokkal rokon domén) régiói a bakteriális hisztidin kinázokkal mutatnak alacsony szintű homológiát. A PRD régió két PAS domént tartalmaz, ami a fitokrómok dimerizációjában, fényfüggő interdomén kölcsönhatások kialakításában és feltehetően más fehérjékkel való kölcsönhatásban játszik szerepet. A dimerizáció a fitokróm működéséhez esszenciális (16).

2.3.2.3. A fitokrómok működésének alapja: a fotokonverzió

A fitokrómok két, spektroszkópiai tulajdonságaiban és biológiai aktivitásában eltérő formában léteznek. A sötétben képződött fitokróm úgynevezett Pr formában van, abszorpciós maximuma vörös tartományba esik ($A_{\max}=660$ nm) és biológiailag inaktív (2.3.2. A ábra). Vörös fény hatására a fitokromobilin kromofór izomerizáción megy keresztül, ami a kromofór C és D gyűrűje közötti C15 kettős kötés „Z” - „E” átmenetével történik (2.3.2. C ábra) (3).

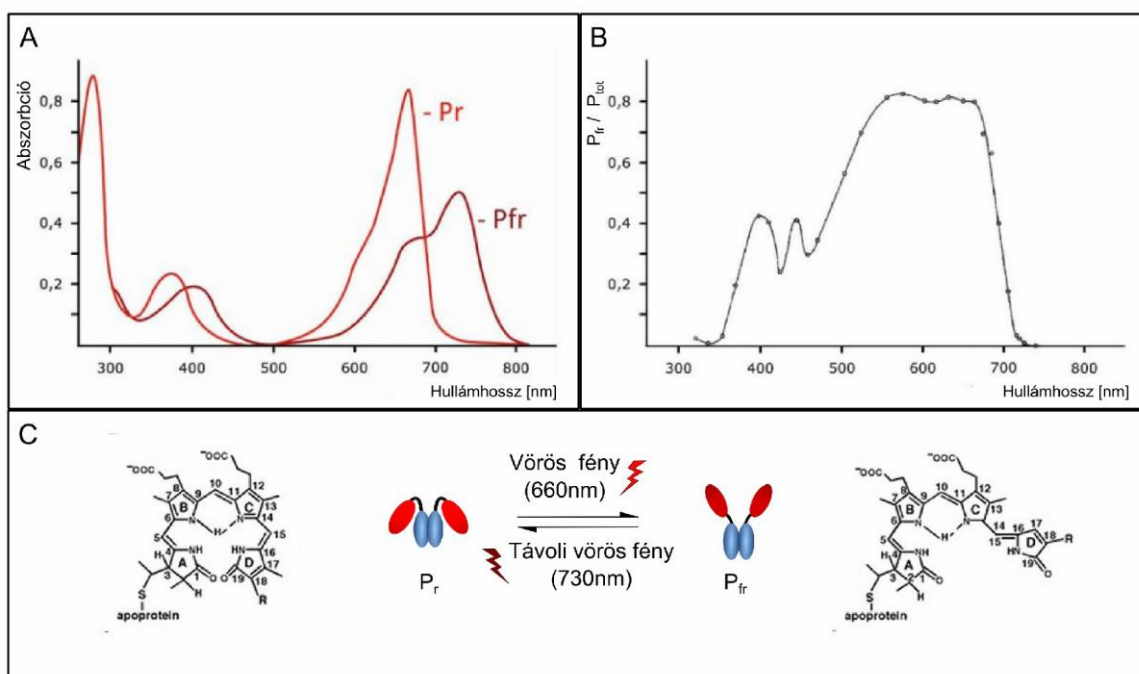
A kromofór izomerizációja megváltoztatja a kromofór-apoprotein és protein interdomén kölcsönhatásokat, melynek eredményeképpen jelentős változások mennek végbe a fitokróm harmadlagos szerkezetében, funkcionális részek válnak hozzáférhetővé (pl. NLS szekvencia, foszforilációs hely, kináz aktivitás).

Az így létrejövő konformert Pfr formának hívjuk, abszorpciós maximuma távoli vörös tartományban van ($A_{\max}=730\text{ nm}$) és biológiailag ez az aktív forma. A Pfr forma távoli vörös hullámhossz tartományba eső fotont elnyelve visszaalakul Pr formába, vagyis a $\text{Pr} \rightleftharpoons \text{Pfr}$ átalakulás egyensúlyi reakció.



2.3.1. ábra. A PHYA és PHYB molekulák szerkezete. (Fehér Attila ábrája)

NTE - N-terminális extenzió; GAF - cGMP specifikus foszfodiészterázok, adenilát ciklázok, FhIA; PHY - fitokrómokra jellemző régió; PRD - két PAS motívumot tartalmazó régió; PAS - PER-ARNT-SIM; HKRD - hisztidin kinázokkal rokon domén; C - csukló régió (1)



2.3.2. ábra. A fitokrómok hullámhossz-függő viselkedése. A) A fitokrómok két konformerének, — Pr és Pfr — abszorpciós spektrumai (11). B) A különböző hullámhosszúságú fénykezelés hatására kialakuló Pfr – Ptot egyensúly (8) C) A Pr-Pfr egyensúly sémája és a fitokromobilin kromofór izomerizációja. A vörös ovális az N-terminális, a kék ovális a C-terminális domént reprezentálja. A fitokrómok fényfüggő konformációváltozását vörös fény (660nm) erősen Pfr képződés, távoli vörös fény erősen Pr képződés irányába tolja. A panel szélén a fitokromobilin kromofór konformációja látható Pr (bal oldal) és Pfr állapotban (jobb oldal) (1, a szerző engedélyével).

Mivel a két forma spektrumai átfednek, nincs olyan fénykezelés, amivel csak egyik, vagy másik formát tudnánk létrehozni. A $\text{Pr} \rightleftharpoons \text{Pfr}$ átalakulás folyamatos, amíg a besugárzás tart és a fény hullámhossz-összetételétől függően egy egyensúlyi állapot alakul ki, a fotostacionárius állapot (2.3.2. B ábra) (18).

Távoli vörös fényben is létrejön aktív Pfr fitokróm, de ez az összes fitokrómnak legfeljebb 2-3%-a. Ezzel szemben intenzív vörös fényben (660 nm) a fitokrómok kb. 85%-a aktív Pfr konformációban van (5). A

két forma részben átfedő abszorpciós spektrumai miatt ez az elérhető legnagyobb Pfr / Ptot arány. Az, hogy egy fitokróm szabályozta folyamat gátolt vagy aktivált, az adott folyamat Pfr küszöbétől függ.

2.3.2.4. Az aktív fitokrómok inaktivációja

Sötétben csírázó, etiolált csíranövényekben a PHYA fehérje a domináns, fényérzékelésért felelős receptor. Ilyen körülmények között a PHYA az összes fitokrómtartalom 85%-át teszi ki (20). Fény hatására a PHYA Pfr formába alakul és ezzel aktiválódik a PHYA jelátviteli hálózata, ami egy sor drámai változást indít el génkifejeződés szabályozásában. Ezek a változások biztosítják a növény túlélését és fejlődését napfényben. Ezzel a folyamattal párhuzamosan megindul aktivált PHYA fehérjemolekulák gyors degradációja, ami eltávolítja az aktivált Pfr PHYA receptormolekulákat a rendszerből (20).

A Pfr PHYA degradációjában, az E3 ubikvitin ligázok és a 26S proteasóma vesz részt. A COP1 E3 ubikvitin ligáz az egyik fehérje, melynek központi szerepe bizonyított a fényaktivált PHYA degradációjában (19). A Pfr PHYA degradációjának sebessége a sejten belüli elhelyezkedésétől is függ: a citoplazmában lassabb, míg a sejtmagban számottevően gyorsabb a lebomlása. Fehér fényben nőtt növényekben a PHYB az összes fitokrómtartalom 40%-át teszi ki. A PHYB a PHYA-tól eltérően fényben stabil fehérje és a fényben fejlődő növény fő fotoreceptora. Az aktív, Pfr PHYB fotoreceptorok inaktivációja a spontán relaxáción keresztül valósul meg, melynek következtében inaktív Pr formába alakulnak vissza (16). A jelenséget sötét reverziónak nevezzük. Hajtóereje a Pfr PHYB kisebb termodinamikai stabilitása, aminek következtében a PHYB Pfr formája bizonyos idő után visszaalakul inaktív Pr formába. Ennek a relaxációs folyamatnak a féléletideje kb. 60 perc.

2.3.2.5. A fitokrómok kináz aktivitása és autofoszforilációja

A növényi fitokrómok fényaktivált protein kinázok; szerin/treonin kináz aktivitást mutatnak. Számos fehérjét fedeztek fel, melyeket a fitokrómok Pfr formájukban foszforilálnak in vitro rendszerben. Ilyenek a kriptokrómok (CRY1, CRY2), a PKS1 (PHYTOCHROME KINASE SUBSTRATE 1) és a PIF3 (PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR 3) transzkripció faktor (17).

2.3.2.6. A fitokrómok jelátviteli hálózata

A jelátvitel negatív elemei közé tartozó faktorok funkciójának sérülése, vagy elvesztése a fotomorfogenezis programjának fényviszonyoktól független aktivitásával jár (akár állandó sötétben fejlődve is fényben nőtt növényekre hasonlítanak). Ebbe a csoportba tartoznak a szkotomorfogenezis programjának megvalósításában kulcsszerepet játszó PIF (PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR) transzkripció faktorok, valamint a fotomorfogenezis kialakításáért felelős transzkripció faktorok degradációját elindító E3 ubikvitin ligáz komplexeket felépítő fehérjék: COP1, DET (DEETIOLATED), FUS (FUSCA).

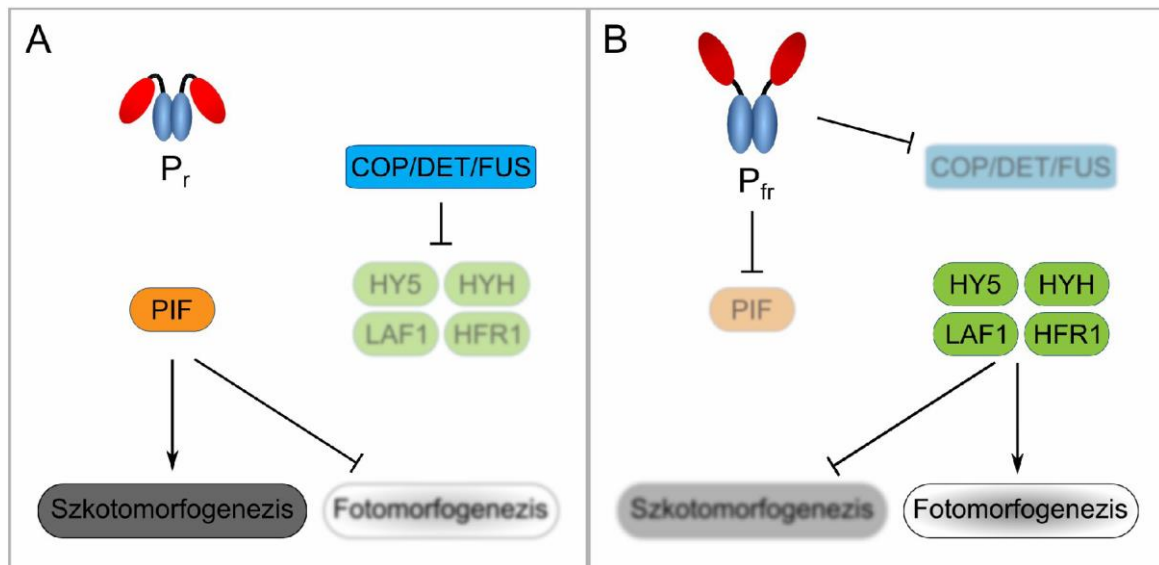
A jelátvitel pozitív elemei közé tartozó gének funkciójának sérülése, vagy elvesztése a növény csökkent fényérzékenységéhez vezetnek. Ide soroljuk azokat a fitokróm allélokat, melyek csökkent jelátviteli képességgel rendelkeznek, valamint a fotomorfogenezis kialakításáért felelős gének kifejeződését aktiváló transzkripció faktorok: HY5 (ELONGATED HYPOCOTYL 5), HYH (HY5 HOMOLOG), LAF1 (LONG AFTER FAR-RED 1), HFR1 (LONG HYPOCOTYL IN FAR-RED 1) stb.

A COP1 szerepe a következő transzkripció faktorok ubikvitinációjában és lebontásában bizonyított: ELONGATED HYPOCOTYL 5 (HY5), HY5 HOMOLOG (HYH), LONG AFTER FAR-RED 1 (LAF1), LONG HYPOCOTYL IN FAR-RED1 (HFR1). Ezen transzkripció faktorok közös vonása, hogy mindannyian a fotomorfogenezis programjának kialakításáért felelős gének szabályozásában vesznek részt. A COP1 komplexei a fitokrómok ubikvitinációjában és lebontásában is szerepet játszanak (19).

2.3.2.7. A fitokrómok jelátvitelének modellje

Az Arabidopsis fejlődési programja két fő szakaszra különíthető: a csírázás után sötétben zajló szkotomorfogenezisre és a fény hatására beinduló fotomorfogenezisre. Úgy tűnik, hogy ennek a két

fejlődési programnak a génkifejeződés szintjén való megvalósulásáért két, transzkripció faktorokból felépülő kaszkárendszer felelős (23). A szkotomorfogenezist létrehozó jelátviteli hálózat központi elemei a PIF transzkripció faktorok (23,13), míg a fotomorfogenezist létrehozó rendszerben a HY5, HYH, LAF1, HFR transzkripció faktorok játszanak kulcsszerepet. Egyszerre mindig csak az egyik rendszer aktív és a közöttük való átkapcsolást a fényben aktivált fitokrómok (Pfr) végzik.



2.3.3. ábra. A fitokrómok jelátvitelének vázlatos modellje (1, a szerző engedélyével).

A fitokróm jelátvitel elemei: a fitokróm fotoreceptorok, a COP/DET/FUS alkotta E3 ubikvitin ligáz komplexek, valamint a PIF és HY5, HYH, LAF1, HFR1 transzkripció faktorok.

A) Sötétben: a PIF transzkripció faktorok aktívak, míg a HY5, HYH, LAF1, HFR1 transzkripció faktorokat a COP/DET/FUS fehérjék alkotta E3 ubikvitin ligáz komplexek folyamatosan ubikvitinálják, alacsonyan tartva ezzel fehérjeszintjüket.

B) Fényben: az aktív fitokrómok kölcsönhatnak a PIF-ekkel, ami foszforilációjukat és ezen keresztül gyors lebomlásukat idézi elő. Az aktív fitokrómok a COP1-el is kölcsönhatva megváltoztatják ezeknek az E3 ubikvitin ligáz komplexeknek a szubsztrátspecifitását, így stabilizálva a HY5, HYH, LAF1, HFR1 (stb.) transzkripció faktorokat. Sötétben a negatív elemek aktívak: az E3 ubikvitin ligáz komplexek (COP, DET, FUS) működésének következtében a fotomorfogenezis programját megvalósító transzkripció faktorok — a jelátvitel pozitív elemei — folyamatosan ubikvitinálódnak, emiatt fehérjeszintjük alacsony marad, működésük pedig gátolt. A PIF transzkripció faktorok magas szinten halmozódnak fel a sejtben és aktiválják a szkotomorfogenezis programjának megvalósítását végző géneket (13). Ezzel egy időben a PIF-ek gátolják a fotomorfogenezis megvalósításában szerepet játszó gének kifejeződését is, ellensúlyozva az alacsony szinten azért jelen levő pozitív elemek hatását (1,22).

Fényben a pozitív elemek válnak aktívvá, miután a fény aktiválja a fitokrómokat. A fitokrómok P_{fr} formája kölcsönhatásba lép a PIF transzkripció faktorokkal és a COP1 E3 ubikvitin ligázzal. E kölcsönhatás a PIF-ek foszforilációját és degradációját vonja maga után, a COP1 felépítette E3 ubikvitin ligáz komplexeknek pedig megváltozik a szubsztrátspecifitásuk és a sejtben belüli lokalizációjuk. Ennek következtében az eddig (sötétben) lebontott HY5, HYH, LAF1 és HFR transzkripció faktorok stabilizálódnak, felhalmozódásuk következtében pedig aktiválják a fotomorfogenezis programját megvalósító géneket. Ezzel egy időben gátolják a szkotomorfogenezis megvalósítását végző gének kifejeződését, ellensúlyozva az alacsony szinten azért még jelen levő PIF-ek hatását (2.3.3. ábra B panel).

2.3.2.8. A fitokrómok közvetítette válaszreakciók

A fitokróm kutatás kezdetén a fitokrómok által befolyásolt válaszreakciókat a kiváltásukhoz szükséges fény dózisa alapján kategorizálták. Így a fitokrómok hatását három kategóriába sorolták: i) nagyon alacsony fénydózist (very low fluence response - VLFR), ii) közepes fénydózist (low fluence response - LFR), iii) és magas fénydózist (high irradiance response - HIR) igénylő élettani folyamatokra (2.3.5. ábra) (18).

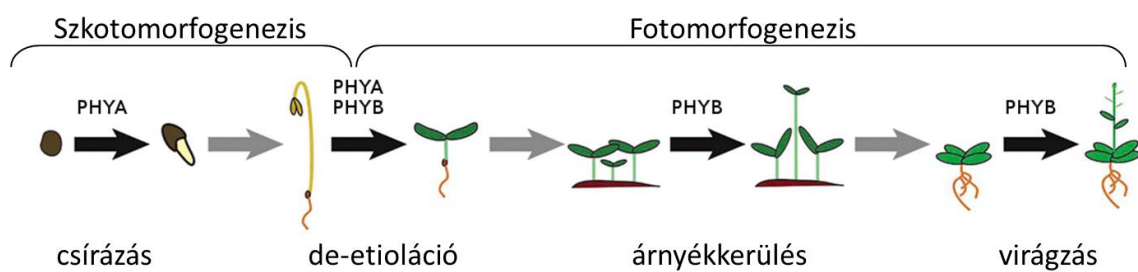
A VLFR válaszra jellemző, hogy olyan extrém alacsony fényintenzitás képes kiváltani, amelyre semmilyen más fotoreceptor nem reagálna (9,6). A folyamat hátterében a PHYA fehérje kimagasló fényérzékenysége áll.

Mivel a PHYA fény hatására gyorsan elbomlik, a VLFR válasz jellemzően a növény korai életszakaszához kötődik. Ide tartozik a csírázás indukciója, a szkotomorfogenezis - fotomorfogenezis programjai közötti átkapcsolás.

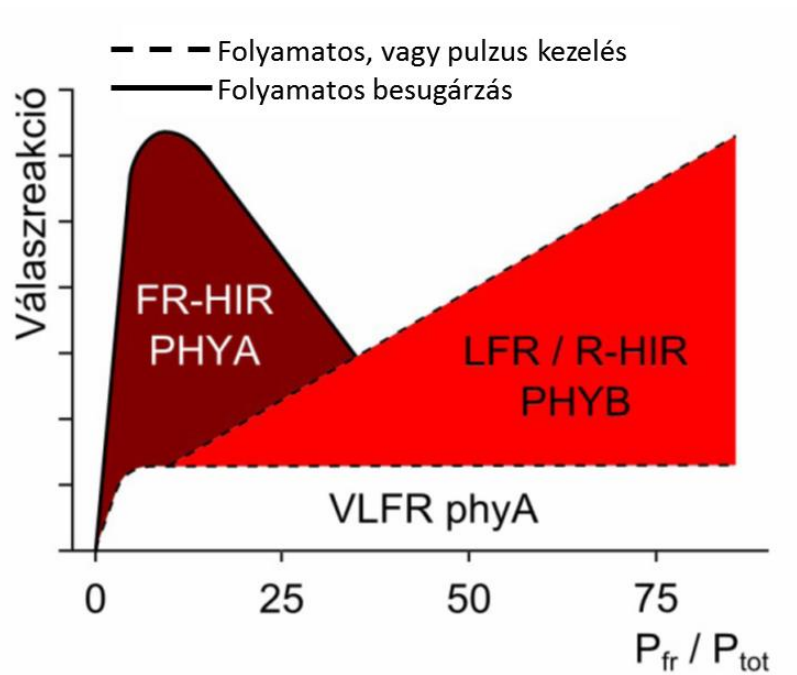
A VLFR válasz távoli vörös fény kezeléssel nem fordítható vissza, mivel a VLFR reakciók beindítása olyan alacsony Pfr/Ptot szintekhez kötött, amit a távoli vörös fény által létrehozott Pfr arány (~2-3%) többszörösen felülmúl. A VLFR válaszra igaz a reciprocitás törvénye, ami azt jelenti, hogy a fénykezelés dózisa (egységnyi idő alatt elnyelt fotonok száma) és a kiváltott VLFR válasz erőssége között összefüggés áll fenn. Ugyanaz a VLFR elérhető rövid ideig tartó erősebb fény impulzusokkal vagy hosszabb ideig tartó megfelelően gyengébb fényimpulzusokkal is, azaz a beérkező fotonok száma a kiváltó tényező függetlenül az eltelt időtartamtól (5).

Az LFR válaszok közé a legkorábban felfedezett fitokrómok szabályozta élettani folyamatokat soroljuk. Melyek pl. a már említett saláta magvak csírázási indukciója, vagy a PHYB sejtmagi komplex képzése Arabidopsisban (2). Az LFR reakciók kiváltásában a fényben stabil fitokrómok vesznek részt, melyek Arabidopsisban a PHYB, C, D és E fehérjék. Az LFR reakciók hátterében elsősorban a PHYB fehérje áll. Az ide tartozó válaszok határozott hullámhosszfüggést mutatnak: vörös fény serkenti, míg távoli vörös fény gátolja őket (a válaszreakció megfordítható). Az LFR reakciókra érvényes a reciprocitás törvénye, vagyis a válasz erőssége a fénykezelés dóziséval egyenes arányban áll (5).

A HIR válasz kiváltásához nagy intenzitású, folyamatos fénykezelés szükséges. A fénykezelésbe beiktatott rövid megszakítások is a válasz drasztikus csökkenéséhez vezetnek. Ide tartozó válaszreakció a csíranövények hipokotil megnyúlásának fényfüggő gátlása. Mind a PHYA, mind a PHYB képes HIR választ kiváltani, így HIR választ két altípusba soroljuk: i) a távoli vörös fénnel (far red - FR) kiváltható FR-HIR és ii) a vörös fénnel (red - R) kiváltható R-HIR. Az FR-HIR válasz kiváltásában szerepet játszó PHYA szintje csak távoli vörös fényben (700-730 nm) csírázó növényekben elég magas a válasz szabályozásához (5).



2.3.4. ábra. A főbb fitokrómok szerepe az egyedfejlődésben (1, a szerző engedélyével)



2.3.5. ábra. A fitokrómok válaszreakcióinak függése a P_{fr}/P_{tot} aránytól VLFR: etiolált csíranövényekre jellemző, bármilyen színű fény képes kiváltására, nem visszafordítható és nem igaz rá a reciprocitás törvénye. LFR: ezek a reakciók visszafordíthatóak: vörös fény serkenti, távoli vörös fény gátolja őket, a fénydózissal arányos a válasz erőssége (igaz a reciprocitás törvénye). HIR: ez a válasz nem visszafordítható, kiváltásához folyamatos besugárzásra van szükség. Vörös fényben a PHYB, távoli vörös fényben a PHYA játsza a főszerepet szabályozásában. Nem igaz rá a reciprocitás törvénye. (1, a szerző engedélyével)

A FR-HIR és a R-HIR válaszok P_{fr} küszöbszintje nagyban eltér: a FR-HIR 2-3% P_{fr}/P_{tot} PHYA szinteknél a legaktívabb, míg a R-HIR kiváltásához nagyon magas PHYB P_{fr} szintek szükségesek. A HIR válasz nem reverzibilis és nem érvényes rá a reciprocitás törvénye sem (5).

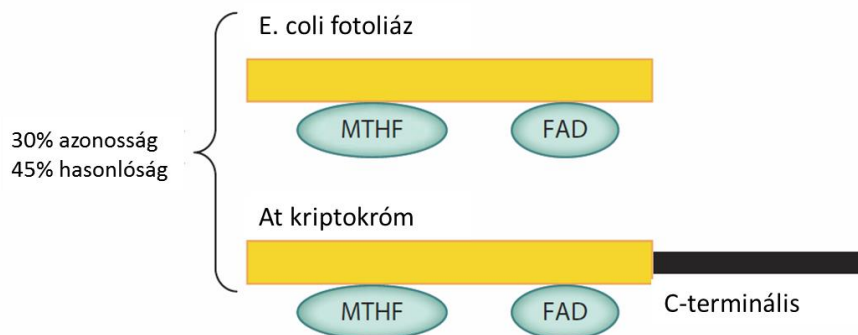
2.3.2.9. A sejtmagi import

A PHYA sejtmagi importja meglehetősen gyors folyamat, amit vörös, távoli vörös és kék fény is képes indukálni (10). A PHYA sötétben szigorúan a citoplazmában található, azonban már egy rövid, néhány perces fényimpulzus hatására a sejtmagba kerül. Mivel vörös fényben a PHYA gyorsan elbomlik és csak távoli vörös fényben stabil, hosszú távon csak a távoli vörös fény képes kiváltani PHYA sejtmagi importja a VLFR és a FR-HIR válaszok körébe sorolható folyamatok (12). Folyamatos fénykezelés hatására a PHYB sejtmagi szintje számottevően megemelkedik. Leghatékonyabban a vörös, kismértékben a kék fény is elősegíti ezt a folyamatot (7). A PHYA-val ellentétben a PHYB sejtmagi importja lassú, legalább 1 órás fénykezelést igénylő folyamat.

A fitokrómok a citoplazmában is kifejthetnek hatást, ilyenkor gyors változásokat indukálnak pl. a membránfeszültségben, ionfluxusokban.

2.3.3. UV-A és kék fény érzékelése

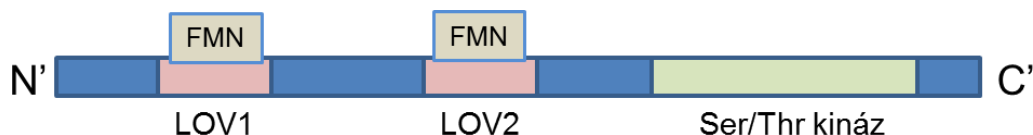
Az UV-A (320-400 nm) és a kék fény érzékeléséért felelős egyik receptor család tagjai a kriptokrómok (CRYPTOCHROME 1, 2). Evolúciósan a fotoliázokkal mutatnak rokonságot, amik kulcsfontosságú szerepet töltenek be az UV-C és UV-B sugárzás hatására létrejövő DNS károsodás, — pirimidin dimerek — eltávolításában és javításában, amihez a szükséges energiát a kék fényből nyerik. A kriptokrómok N-terminális régiójához nem-kovalensen kötődik egy-egy FAD (Flavin-Adenin Dinukleotid) és Dezaflavin/Pterin kromofór. HY4 egy 75 kDa fehérje, mely a mikrobiális DNS fotoliázhoz hasonlít (2.3.6. ábra).



2.3.6. ábra. A bakteriális fotoliáz és a növényi kriptokróm szerkezete. (Pécsváradi Attila ábrája)

A C-terminális régió továbbítja az érzékelt fényjelet a COP1 (CONSTITUTIVE PHOTOMORPHOGENIC 1) molekulával való kölcsönhatás révén, mely utóbbi a fényérzékelés egyik központi integrátora. A kriptokrómok fontos szerepet játszanak a hipokotil megnyúlás, a gázcsere nyílásának szabályozása, a fototropizmus, a virágzási idő szabályozása és a cirkadián óra beállításának folyamataiban (14). A CRY1 a sötétben csírázó magvak hipokotiljának növekedésgátlását okozza a fényre kerüléskor, serkenti a sziklevelek zöldülését, az antocián termelést. A CRY2 serkenti a kék fény indukálta levélkiterülést, fotolabilis.

A mutáns *cry1/cry2* növények kék fény függő fiziológiájának vizsgálata vezetett egy másik receptorcsalád, a fototropinok felfedezéséhez. A fototropinok szintén kék fény receptorok, Arabidopsisban ez a fotoreceptor család két, egymással nagyfokú homológiát mutató taggal rendelkezik (PHOT1 és PHOT2 — PHOTOTROPIN 1 és 2). N-terminálisukon két LOV (Light Oxygen Voltage) domén köt receptoronként 2-2 FMN (Flavin Mono-Nukleotid) kromofórt, míg C-terminálisuk szerin/threonin kináz aktivitást mutat. Molekulasúlyuk 120 kDa (2.3.7. ábra). Szerepük, ahogy nevük is mutatja a hajtás fény, míg a gyökércsúcs fénnel ellentétes irányba fordításában van (pozitív és negatív fototropizmus). Szabályozzák továbbá a kloroplasztizok sejten belüli, fényintenzitástól függő elrendeződése is (14). A fototropinoknak szerepe van a sztóma zárósejtek H^+ -ATPázának aktiválásában.



2.3.7. ábra. A fototropinok szerkezete. (Pécsváradi Attila ábrája)

2.3.4. Az UV-B sugárzás érzékelése

A spektrum UV-B (280-320 nm) tartománya erős stresszfaktor. A fényfüggő életmód következtében a növények ennek a sugárzásnak szinte állandóan ki vannak téve. Az UV-B sugárzást a nukleinsavak és fehérjék aromás gyűrűi nagy hatékonysággal nyelik el, magas energiatartalma miatt pedig jelentős károkat okoz reaktív gyökök képződésén keresztül. Ezért különösen fontos az UV-B sugárzás elleni védekezés, ami főképp fotoprotektív pigmentek felhalmozódásán és morfológiai adaptáción (alacsonyabb, földhöz simuló struktúra, levelek elfordulása, vastagabb viaszos kutikula, kloroplasztizok elmozdulása a sejtek belsőbb régióiba stb.) keresztül valósul meg (24). Az UV-B érzékeléséért felelős receptor az UVR8 fehérje (25), amely alap állapotban homodimer formában a citoplazmában található. Az UVR8 nem rendelkezik kromofórral. Kitüntetett triptofán aminosavak nyelik el a nagy energiájú UV-B fényt és okoznak olyan konformáció változást, ami a homodimerek

széteséséhez és a nukleuszba való transzportjához vezet. Az UVR8, a kriptokrómokhoz hasonlóan, a HY5 transzkripció faktort aktiválja (24).

Összefoglalás

1. A fény a fotoreceptorok révén befolyásolja a növényi egyedfejlődés számos folyamatát.
2. A növények a vörös/sötétvörös fotonokat a fitokrómokkal érzékelik.
3. A fitokrómok fényaktivált kinázok.
4. A fitokrómok a citoplazmában transzport folyamatokra, a sejtumban a génexpresszióra hatnak.
5. A különböző fitokrómok többféle fénydózisú, fényerősségű válaszreakciót kapcsolnak.
6. A kriptokrómok és a fototropinok a növények kékfény receptorai, melyek a hipokotil megnyúlásban, zárósejtek nyitásban, fototropizmusban fejtenek ki hatást.

Ellenőrző kérdések

1. A fitokrómok melyik konformere aktív?
2. Miért nem megfordítható a VLFR válasz?
3. A sejt melyik részében hatnak a fitokrómok??
4. Melyik kékfény receptor hat a sztóma zárósejtek nyitására?

Megvitatandó kérdések

Melyik fitokróm túlermelése javítaná a növények árnyéktűrését?

Javasolt irodalom

1. Taiz L, Zeiger E (szerk.). Plant Physiology. Fourth edition. Sinauer Associates, Inc., Publishers, Sunderland, Massachusetts, 2006. ISBN 10: 0-87893-856-7

Felhasznált irodalom

1. Bindics J, 2014. A fitokrómok N-terminális régiójának szerepe a vörös és távoli vörös fény érzékelésében. Doktori értekezés. Ábrák és szöveg felhasználása a szerző engedélyével.
2. Adam, E. ... Nagy, F., 2011. Altered Dark- and Photoconversion of Phytochrome B Mediate Extreme Light Sensitivity and Loss of Photoreversibility of the phyB-401 Mutant. *PLoS ONE*, 6(11). Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3207837/> (Accessed February 23, 2014).
3. Andel, F., 3rd, Lagarias, J.C. & Mathies, R.A., 1996. Resonance raman analysis of chromophore structure in the lumi-R photoproduct of phytochrome. *Biochemistry*, 35(50), pp.15997–16008.
4. Borthwick, H.A. ... Toole, V.K., 1952. A Reversible Photoreaction Controlling Seed Germination. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 38(8), pp.662–666.

5. Casal, J.J., Sanchez, R.A. & Botto, J.F., 1998. Modes of action of phytochromes. *Journal of Experimental Botany*, 49(319), pp.127–138.
6. Eichenberg, K. ... Schafer, E., 1999. In vivo characterization of chimeric phytochromes in yeast. *The Journal of Biological Chemistry*, 274(1), pp.354–359.
7. Gil, P. ... Nagy, F., 2000. Photocontrol of subcellular partitioning of phytochrome-B:GFP fusion protein in tobacco seedlings. *The Plant Journal*, 22(2), pp.135–145.
8. Hanke, J., Hartmann, K.M. & Mohr, H., 1969. (The effects of night breaks on flowering of *sinapis alba* L). *Planta*, 86(3), pp.235–249.
9. Hennig, L. ... Schafer, E., 1999. Dynamic properties of endogenous phytochrome A in *Arabidopsis* seedlings. *Plant Physiology*, 121(2), pp.571–577.
10. Hisada, A. ... Furuya, M., 2000. Light-induced nuclear translocation of endogenous pea phytochrome A visualized by immunocytochemical procedures. *The Plant Cell*, 12(7), pp.1063–1078.
11. Kami, C. ... Fankhauser, C., 2010. Light-regulated plant growth and development. *Current Topics in Developmental Biology*, 91, pp.29–66.
12. Kim, L. ... Nagy, F., 2000. Light-induced nuclear import of phytochrome-A:GFP fusion proteins is differentially regulated in transgenic tobacco and *Arabidopsis*. *The Plant Journal*, 22(2), pp.125–133.
13. Leivar, P. & Quail, P.H., 2011. PIFs: pivotal components in a cellular signaling hub. *Trends in Plant Science*, 16(1), pp.19–28.
14. Liscum, E., Hodgson, D.W. & Campbell, T.J., 2003. Blue light signaling through the cryptochromes and phototropins. So that's what the blues is all about. *Plant Physiology*, 133(4), pp.1429–1436.
15. Mathews, S. & Sharrock, R.A., 1997. Phytochrome gene diversity. *Plant, Cell & Environment*, 20(6), pp.666–671.
16. Matsushita, T., Mochizuki, N. & Nagatani, A., 2003. Dimers of the N-terminal domain of phytochrome B are functional in the nucleus. *Nature*, 424(6948), pp.571–574.
17. Al-Sady, B. ... Quail, P.H., 2006. Photoactivated phytochrome induces rapid PIF3 phosphorylation prior to proteasome-mediated degradation. *Molecular Cell*, 23(3), pp.439–446.
18. Schafer, E. & Bowler, C., 2002. Phytochrome-mediated photoperception and signal transduction in higher plants. *EMBO Reports*, 3(11), pp.1042–1048.
19. Seo, H.S. ... Chua, N.-H., 2004. Photoreceptor ubiquitination by COP1 E3 ligase desensitizes phytochrome A signaling. *Genes & Development*, 18(6), pp.617–622.
20. Sharrock, R.A. & Clack, T., 2002. Patterns of expression and normalized levels of the five *Arabidopsis* phytochromes. *Plant Physiology*, 130(1), pp.442–456.
21. Sharrock, R.A. & Quail, P.H., 1989. Novel phytochrome sequences in *Arabidopsis thaliana*: structure, evolution, and differential expression of a plant regulatory photoreceptor family. *Genes & Development*, 3(11), pp.1745–1757.
22. Shen, Y. ... Deng, X.W., 2009. Phytochrome A mediates rapid red light-induced phosphorylation of *Arabidopsis* FAR-RED ELONGATED HYPOCOTYL1 in a low fluence response. *The Plant Cell*, 21(2), pp.494–506.
23. Shin, J. ... Choi, G., 2009. Phytochromes promote seedling light responses by inhibiting four negatively-acting phytochrome-interacting factors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(18), pp.7660–7665.
24. Yin R, Ulm R. How plants cope with UV-B: from perception to response. *Curr Opin Plant Biol*. 2017; 37:42–8.
25. Liang T, Yang Y, Liu H. Signal transduction mediated by the plant UV-B photoreceptor UVR8. *New Phytol*. 2019;221(3):1247–52.

3. Rész A növények növekedésének és alkalmazkodásának hormonális szabályozása

A fejezetben azokról a kémiai közvetítő anyagokról (hormonokról) lesz szó, melyek a növények növekedését, fejlődését és a környezeti változásokhoz való alkalmazkodását koordinálják. Bemutatásra kerül felfedezésük rövid története, szerkezetük és hatásmechanizmusuk, valamint a homeosztázisuk szabályozása (bioszintézis, konjugáció, inaktiválás/lebontás, transzport).

3.1. Fejezet. A növényi hormonok

Írta: Prof. Dr. Fehér Attila

Tanulási célkitűzések:

Tudás

- ismeri a növényi hormon fogalmát
- tudja ismertetni a növényi hormonok általános és speciális jellemzőit
- ismeri a növényi és állati hormonok közötti lényegi különbségeket
- ismeri a hormonok szintjét befolyásoló alapvető folyamatokat
- ismeri a növényi hormonok érzékelésének alapvető mechanizmusait, a kapcsolódó jelátviteli útvonalak főbb jellemzőit
- ismeri a növényi hormonok vizsgálatára alkalmas kísérleti megközelítési lehetőségeket

Képesség

- képes egy ismeretlen növényi hormont jellemezni, meghatározni
- képes egy adott növényi folyamathoz megfelelő szabályozó hormont rendelni

Attitűd

- nyitott az egyes növényi hormonok sajátosságainak mélyebb megismerésére
- nyitott a hormonok hatásmechanizmusával, fiziológiai hatásaival kapcsolatos kísérletek elvégzésére

Autonómia/felelősség

- önállóan érvel azzal kapcsolatban, hogy a növényi növekedés szabályozók is hormonnak tekinthetők

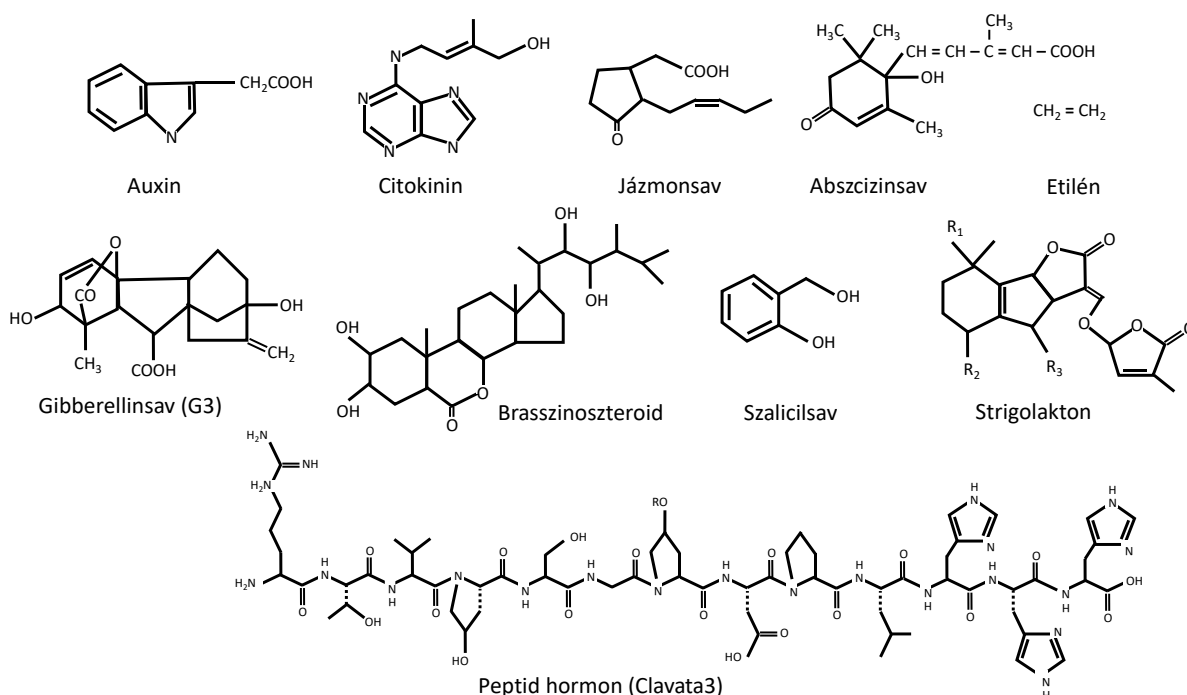
3.1.1. A növényi hormonok fogalma és alapvető sajátosságai

Növényi hormonoknak (fitohormonoknak) nevezzük azokat a növényi sejtek által szintetizált szerves vegyületeket, melyeknek kizárólag jelátviteli funkciója van és alapvető szerepük a növényi szervezet növekedésének, egyedfejlődésének, fiziológiájának és a környezethez való alkalmazkodásának koordinálása.

Általános jellemzőjük, hogy nagyon kis mennyiségben is hatásosak (10^{-9} M to 10^{-6} M) és érzékelésükben specifikus receptor (jelfogó molekula) vesz részt. Jelenlegi ismereteink alapján a következő növényi hormonokat tartjuk számon: auxinok (AUX), citokininok (CK), gibberellinek (GA), abszcizinsav (ABA), etilén (ET), brasszinoszteroidok (BR), szalicilsav (SA), jázmonsav (JA), strigolakton (SL) (3.1.1. ábra). Ide sorolható még az az igen nagyszámú (több, mint ezerre tehető a számuk) jelátviteli peptid molekula (peptid hormon), melyek a növényi sejtek közötti kommunikációban vesznek részt.

A fenti definíció alapján nem tartoznak a növényi hormon kategóriába azok a molekulák, melyeknek egyéb fontos fiziológiai funkciója van és emellett a jelátviteli szerepük másodlagosnak tekinthető. Ezek

közé tartoznak például a poliaminok, hidrogén peroxid, nitrogén monoxid, kalcium ion, illetve pl. egyes aminosavak, cukrok. Ezeknek a molekuláknak a jelátviteli funkciója nem függ specifikus receptoroktól és a jelátviteli szempontból hatásos koncentráció tartományuk is magasabb határok között mozog (10^{-6} M to 10^{-3} M).



3.1.1. ábra. A növényi hormonok szerkezete. (Fehér Attila ábrája)

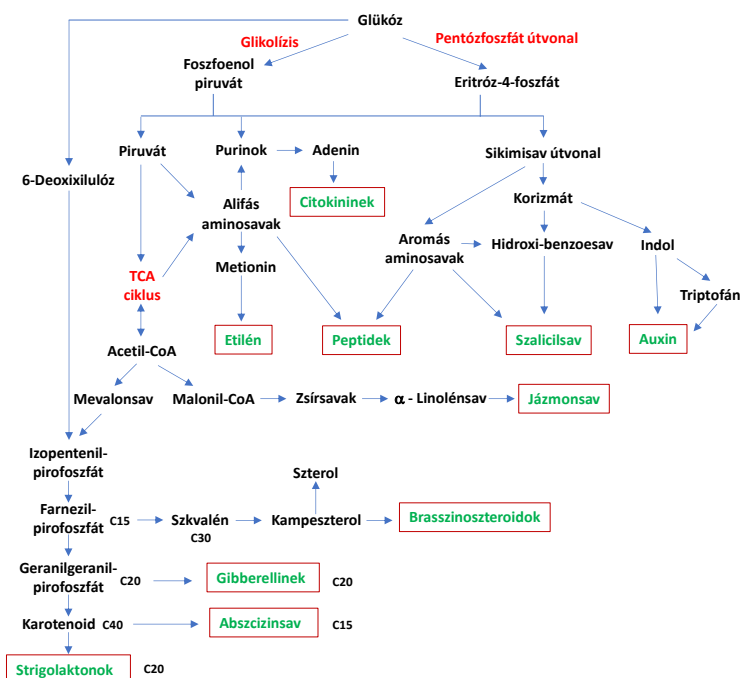
A hormon fogalmát növények esetében elsőként Hans Fitting német botanikus használta olyan pollen kivonatokat vizsgálva, melyek serkentik a magház növekedését, és amelyekről később kiderült, hogy auxin tartalmúak (1). A növényi hormonokat gyakran növényi növekedés szabályozóknak (angol elnevezés alapján „plant growth regulator”, rövidítve PGR) is nevezik. Ezt az elnevezést azonban szűkebb értelemben csak a fitohormonokhoz hasonló szerkezetű és/vagy hatású mesterséges vegyületekre használják.

Az állati és a növényi hormonok sok tekintetben eltérnek egymástól.

Az állati hormonok változatos szerkezetűek: módosult aminosavaktól (pl. norepinefrin) peptideken (pl. oxitocin) illetve szteroidokon (pl. progeszteron) át a sejtek belsejébe bejutni képtelen nagy méretű fehérjékig (pl. növekedési faktorok) sokféle molekula tartozik ide. Az állati hormonok általában speciális szervekben (mirigyekben) termelődnek és a véráramnak köszönhetően gyakran nagy távolságra jutnak el, ahol egy adott cél sejt(csoport)ra és adott folyamatra hatnak. Képződésüket, funkciójukat a központi idegrendszer koordinálja.

A növényi hormonok, a peptid hormonok kivételével, kisméretű molekulák, melyek közvetlenül vagy közvetve (transzporterek segítségével) képesek a sejt belsejébe jutni. Szinte bármely sejtben szintetizálódhatnak, bár egyes szervekben fokozott lehet a szintézisük. Általában kis hatótávolságúak, de a szállító szövetekben vagy akár sejtről-sejtre terjedve nagyobb távolságra is eljuthatnak a szervezetben. Nincsenek speciális célsejtjeik és nem csak egy-egy folyamatra hatnak, hanem igen

A növényi hormonok olyan anyagcsere utak, illetve anyagcsere termékek származékai, melyek más funkcióval is rendelkeznek (2) (3.1.2. ábra). Az auxin, az etilén, és a szalicilsav szintézise aminosavakból (triptofán, metionin, illetve fenil-alanin) indul. A citokininek adenin származékok, míg a jázmonsav az α -linolénsav oxigenációjának terméke. A peptid hormonok fehérje prekursorok hasításával jönnek létre. A többi növényi hormon pedig a másodlagos anyagcsere termékének tekinthető terpenoid (a $(C_5H_8)_n$ összegképletű, izoprén egységekből álló vegyületek a terpének, az ezekből levezethető szénhidrogéneket és oxigéntartalmú származékait nevezzük terpenoidoknak). Az abszcizinsav és a strigolakton 40-szénatomos karotenoidok oxidatív hasítását követő enzimatis reakciók eredményeként képződik. A gibberellinsav a diterpenoid bioszintézis általános prekursorából a 20-szénatomos geranilgeranil pirofoszfátból származik. A brassinoszteroidok szintézise pedig a kampszterolra, a növényi membránok egyik abundáns alkotóelemére vezethető vissza.



Az etilént, szalicilsavat és abszcizinsavat kivéve minden növényi hormon többféle formában fordul elő a növényi sejtekben. Ez a szerkezeti változatosság leggyakrabban a hormonok glikozilációjának, metilációjának, vagy aminosavakkal való konjugációjának az eredménye és hozzájárul a hormonhatások specifikusságához: a különböző aktív formák eltérő fiziológiai válaszokat válthatnak ki. Például az indolecetsav karboxil-metil-észter formája sokkal hatásosabb hipokotil növekedés gátlási tesztekben, mint maga az auxin és szintjének térbeli és időbeli szabályozása hozzájárul a normális levélfejlődéshez (3). A szerkezeti változatosság másik fontos következménye, hogy ezek a hormonok egymásba átalakulni képes aktív és inaktív formában is létezhetnek. Ez lehetővé teszi az aktív hormon szintjének gyors és finom szabályozását: az inaktív formák raktározott formáknak tekinthetők, melyből az aktív forma igény szerint szabadítható fel. A citokininnek például gyakran inaktív nukleotid vagy nukleozid formában fordulnak elő és a cukor/foszfátcsoport hidrolízisét követően válnak aktív nukleobázissá (4).

Az aktív hormon szintjét azonban alapvetően a bioszintézisének és a degradációjának egyensúlya szabja meg (2). Gyakran a degradáció ütemétől függ, hogy egy hormon meddig aktív: a gyors, mindössze néhány perces hormon hatások (pl. sebzési válasz) esetében a hormonok féléletideje rövid, de vannak olyan folyamatok (pl. csírázás, magfeltöltődés) melyek hosszú, akár napokig tartó folyamatos hormonhatást igényelnek. A hormonok lebontását általában specifikus enzimek (oxidázok, hidroxilázok) katalizálják. Egyedül az etilén esetében nem ismerünk speciális lebontási útvonalat: az aktív etilén szintjét egy adott szövetben a szintézisének és a szövetből való diffúziójának az üteme határozza meg. A strigolakton hormon lebontását pedig maga a receptor végzi, aminek köszönhetően minden strigolakton molekula csak egyszer képes a receptorát aktiválni (5).

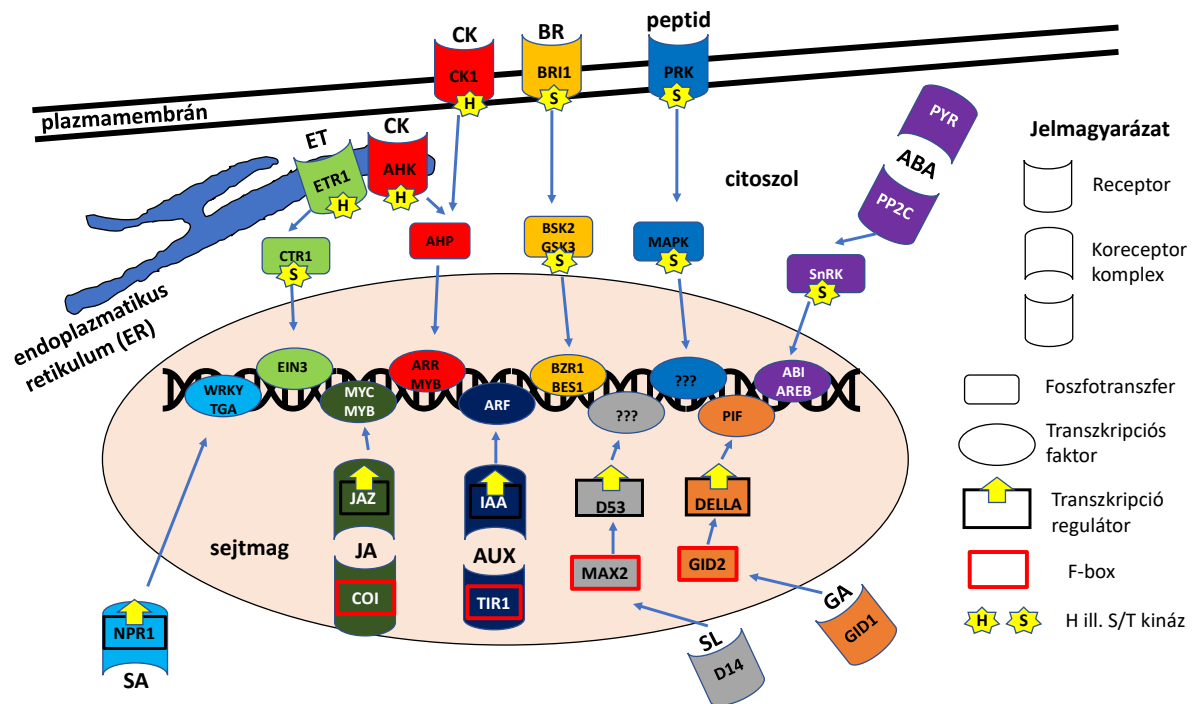
Az állati hormonokhoz hasonlóan, a növényi hormonok esetében is gyakran eltér a bioszintézis, a raktározás és a fiziológiai hatás helye. Azaz, a növényi hormonok transzport folyamatok segítségével kell, hogy eljussanak a hatóhelyükre. A hormonok transzportja sejten belül, rövid távon sejtek között, illetve hosszú távon szervek között zajlik. A gyenge savként viselkedő növényi hormonok (pl. indolecetsav, abszcizinsav) protonált formában passzívan is képesek a lipid membránokon átjutni, de a szabályozott hormon transzport a sejten belül, illetve a sejtek között is membránba ágyazott változatos szerkezetű transzporter fehérjék (permeázok, karrierek, ioncsatornák, ATP-függő transzporterek) segítségével zajlik.

Az állati és a növényi hormonokra is jellemző, hogy a hatásuk függ a koncentrációjuktól. Vannak olyan hormonhatások, melyek a hormon koncentrációjával arányosan, fokozatosan zajlanak, mint például a sejtek megnyúlása, míg mások a „minden vagy semmi” elvet követik (pl. nyugalmi állapot megtörése). Más felosztás szerint a kiváltott változások lehetnek mennyiségi (kvantitatív; pl. növekedés) vagy minőségiek (kvalitatív; pl. a termés lágyulása, színének kialakulása), lehetnek megfordíthatóak (reverzibilisek; pl. légcseré nyílások nyitódása) vagy megfordíthatatlanok (irreverzibilisek; pl. oldalgyökér képződés). A hormonválaszt a hormon koncentrációja mellett a hormonnal szembeni érzékenység is befolyásolja. Ez az érzékenység függ a fajtól, fejlődési állapottól, a sejt- illetve szövettípustól, valamint az adott szervtől. Legfontosabb meghatározója a hormonális jelátvitel hatékonysága, aminek fontos eleme a hormon és receptorának kapcsolata. Így egy adott hormonnal való reagálóképesség a receptor molekulák számától (a receptorok számának és a hormon koncentrációjának arányától), hozzáférhetőségétől (kompartmentalizáció, ill. a kötőhely foglaltsága), a hormonnal való affinitásától (konformáció), specifikus inhibitorok jelenlététől stb. függ.

3.1.2. A növényi hormonok érzékelése

A növényi hormonok receptorai változatosak (2,6): lehetnek membrán-kapcsolt (BR, CK, ET, peptid hormonok) és szolubilis (AUX, GA, JA, SA, SL, ABA). Előbbiek közül csak a brasszinoszteroidoknak, a peptid hormonoknak, valamint a citokinineknek van a plazmamembránban elhelyezkedő sejt felszíni receptora. A citokininek azonban emellett az endoplazmatikus retikulum membránjában is találhatók receptorai, ott, ahol az etilén receptorai is vannak. A szolubilis hormon receptorok részben citoszolikusak (ABA, GA, SL, SA) illetve nukleárisak (AUX, JA), de a két kompartmentum között mozoghatnak is (GA, SA, SL). A növényi hormonok érzékelését követő jelátvitel vagy fehérje foszforiláción, vagy célzott fehérje lebontáson alapszik, kivéve a szalicilsavét, amely közvetlen konformáció változást idéz elő transzkripció koregulátorlént funkcionáló receptorában (3.1.3. ábra).

Az első csoportba tartoznak az ABA, a CK, az ET és a BR, valamint a peptid hormonok jelátviteli útjai. A BR és a peptid hormonok receptorai szerin/treonin kinázok, míg a citokinin és etilén receptorok hisztidin kinázok (szemben az állati sejtek receptor kinázaival, melyek tirozin kinázok). Az ABA receptora egy kis molekulatömegű fehérje, amely az ABA-t kötve foszfatáz gátlóként hat.



3.1.3. ábra. A növényi hormonok érzékelésének és jelátvitelének útjai. Az érzékelés a sejtfelszínen (plazmamembránba ágyazott receptorok), illetve a sejt belsejében (az ER membránba ágyazott, citoszolikus, ill. nukleáris receptorok) történik. A jelátvitel foszforiláción (felül) vagy fehérje lebontáson (alul, kivéve SA) alapul, a végső állomások specifikus transzkripció faktorok. Egy-egy jelátviteli fehérje többféle funkcióval is rendelkezhet: pl. receptor és kináz; receptor és F-box fehérje, koreceptor és transzkripció szabályozó vagy foszfatáz gátló). Az ABA, JA és AUX érzékelésében koreceptor komplex vesz részt: két fehérje együttesen köti az adott hormont ill. a hormon „összeragasztja” a két fehérjét. Az egyes hormonok jelátviteli útvonalát színek jelölik, részletes leírásokra az adott hormon tárgyalásakor kerül sor. (Fehér Attila ábrája)

Az AUX, JA, SL és GA hormonok jelátvitelénél fehérjék ubiquitinációja és proteasomális lebontása történik (6). Az ubiquitinnek kis fehérje molekulák, amelyek megfelelő enzimek közreműködésével (ubiquitin aktiváz, ubiquitin konjugáz és ubiquitin ligáz) képesek egymáshoz és ún. destruktív jel hordozó fehérjékhez kovalensen kapcsolódni. A poliubikvitinált fehérjét nagyméretű proteolitikus komplex (proteasóma) ismeri fel és gyorsan degradálja (3.1.4. ábra). A folyamat specifitását a célfehérje elsődleges szerkezete és az ubiquitináló enzimek változatossága biztosítja. A hormon érzékelésben a rendszer úgy vesz részt, hogy a specifitást biztosító fehérjéhez (az esetek többségében az ubiquitin ligáz komplex ún. F-boks fehérje komponenséhez) a hormon közvetlenül vagy közvetve (egy receptor fehérje közvetítésével) kapcsolódik. Ez a kapcsolat szükséges ahhoz, hogy az ubiquitin ligáz komplex a lebontandó szubsztátot, ami általában a hormonregulált gének transzkripcióját specifikusan gátló fehérje, felismerje és poliubikvitinálja. A represszor fehérje így lebontásra kerül a megfelelő transzkripció faktorok felszabadulnak a gátlás alól és a génátíródás elindul.

A jelátviteli folyamatok részletesebb tárgyalására az egyes hormonok bemutatása során kerül sor (lásd később).

3.1.3. A növényi hormonok vizsgálati módszerei

A növényi hormonok fiziológiai szerepének vizsgálata magában foglalja azonosításukat és mennyiségük meghatározását. A növényi hormonok szintjének mérését megnehezíti, hogy a rendkívül komplex kémiai összetételű növényi kivonatokban nagyon kis mennyiségben vannak csak jelen. A hormonok és az alapvető anyagcseretermékek (pl. cukrok) koncentrációja közötti különbség elérheti a 10

nagyságrendet. Ezért magát a hormonkimutatást megelőzi a komplex növényi kivonat frakcionálása és dúsítása (pl. a vegyületek vizes illetve organikus fázisok közötti megoszlása vagy akár pusztán a méretük révén) (7,8). A növényi hormonok azonosítása és mennyiségi meghatározása megfelelő érzékenységű és specifitású analitikai módszerek hiányában sokáig nem a közvetlen kimutatásukon, hanem a hatásuk mérésén alapult. Ennek alapja, hogy a hormonok már igen kis mennyiségben hatva is jelentős fiziológiai/morfológiai változásokat képesek előidézni. Ezek a változások lehetnek az adott hormonra specifikusak és a mértékük egy adott koncentráció tartományon belül arányos a hormon koncentrációval. Ezek az ún. bioesszék a növényi hormonok felfedezésében is jelentős szerepet játszottak (lásd később). Ilyen pl. az auxin azonosításra és koncentráció meghatározásra használt zab koleoptil görbülési teszt, az etilén koncentráció-függő hatása az epinasztiára, a rizs levéllemez elhajlási teszt, ami a brasszinoszteroidok kvantitatív meghatározására alkalmas, vagy az α -amiláz aktivitás teszt amit a gibberellinek specifikus kimutatására használnak (9). Ezeket a klasszikusnak tekinthető hormonkimutatási módszereket költséghatékonyságuk miatt a mai napig használják kisebb pontosságuk ellenére is.

Az 1960-as évektől vált elterjedté a növényi hormonok immunológiai kimutatása enzimkapcsolt immunoszorbens módszerrel (ELISA) illetve radioimmunszéssel (RIA) (7,8). Mindkét módszer a növényi hormonnak, mint antigénnek, egy specifikus ellenanyaghoz való szoros kötődésén alapul. Az ELISA vizsgálat során a vizsgált oldatban található antigént szilárd fázishoz kötik majd enzimmel kapcsolt specifikus antitesttel jelölik. Az enzim révén a kapcsolódás színreakcióval detektálható. A reakció erőssége arányos a mintában található antigén mennyiségével. Ez a kimutatási módszer egyszerű és gyors, ezért nagy mennyiségű minta párhuzamos vizsgálatára alkalmas. Az érzékenysége és pontossága azonban változó. A RIA megközelítés érzékenysége nagyobb. Ez a módszer azon alapszik, hogy a molekula radioaktívan megjelölt formája leszorítja a nem jelölt molekulát az ellenanyaggal képzett komplexéből. A radioaktív jelölés kicserélődése pedig kvantitatívan mérhető. Hátránya, hogy radioaktív hormont igényel. Ellenanyagok használhatók növényi hormonok *in situ* hisztológiai kimutatására is, azonban ez a megközelítés nagy specifitású és affinitású ellenanyagokat és érzékeny detektálási technikát igényel.

A növényi hormonok közvetlen kimutatására számos kromatográfiás módszert dolgoztak ki. A növényi hormonok kutatásának úttörői elsősorban papírkromatográfiát, illetve elektrokémiai elválasztási módszereket alkalmaztak és az így kapott frakciókban a hormonhatású komponenseket bioesszék segítségével azonosították. Napjainkban a hormonok szerkezetének és fiziko-kémiai tulajdonságainak ismerete lehetővé tette, hogy specifikus dúsítási és szűrés esetén módosítási lépéseket követően folyadék vagy gázkromatográfiás eljárással pontosan meghatározzuk az egyes hormonok mennyiségét adott növényi mintában (7,8,10). A tömegspektrométerek fejlődésének köszönhetően a növényi hormonok mennyiségi és minőségi meghatározása egyre érzékenyebbé és pontosabbá válik (10). A „metabolomika” módszereinek fejlődése mára lehetővé tette akár az összes növényi hormon mennyiségének párhuzamos meghatározását ugyanazon mintában (11). Mindez azonban drága műszereket, speciális jól felszerelt laboratóriumot és megfelelő szakértelmet igényel.

A növényi hormonok funkcionális vizsgálatát nagyban elősegítették az *in planta* kimutatásukat lehetővé tevő molekuláris biológiai módszerek. Ezek többsége hormonválasz gének promotérének egy jelző (riporter) génhez való kapcsolásán alapszik (9,12). A leggyakrabban használt jelző gének termékei a bakteriális β -glukuronidáz enzim (GUS), ami megfelelő szubsztrátokat használva kék vagy lila elszíneződést eredményez, illetve a medúzából származó zölden fluoreszkáló fehérje (GFP) és variánsai, melyek UV fénnel detektálhatók. A hormon-indukált promóterrel kapcsolt riporter gént tartalmazó mesterséges gén konstrukciókat genetikai transzformációval beépítik a vizsgálni kívánt növény genomjába. A transzgenikus növényben a riporter gén működése, mint bioszenzor, jelzi a

hormon jelenlétét és a hormonválasz mértékét. Ez a módszer tehát nem közvetlenül a hormonnak az adott sejtben/szövetben való szintjéről ad információt, hanem a hormon koncentrációjának és a sejt/szövet hormon érzékenységének eredőjeként megnyilvánuló hormonhatásról. Előnye, hogy lehetővé teszi az in vivo hormonális változások térbeli és időbeli nyomon követését. Felhasználását korlátozzák ugyanakkor a transzgenikus növények létrehozásának nehézségei (időigény, faj és genotípus függés, a beépülés helyének hatása a génkifejeződésre stb.).

Összefoglalás

1. A növényi hormonok kizárólagos feladata a növényi szervezet növekedésének, egyedfejlődésének, fiziológiájának és a környezethez való alkalmazkodásának koordinálása. Azokat a jelátvitelben is szerepet játszó molekulákat, melyek más alapvető (pl. anyagcsere) funkcióval is rendelkeznek, nem soroljuk a hormonok közé.
2. A jelenleg az alábbi vegyületeket soroljuk a növényi hormonok közé: auxinok, citokininek, gibberellinek, abszcizinsav, etilén, brasszinoszteroidok, szalicilsav, jázmonsav, strigolakton, és a peptid hormonok.
3. Az állati és a növényi hormonok eltérnek egymástól. A növényi hormonokra jellemző:
 - i. kis szerves molekulák
 - b. nem speciális szervekben szintetizálódnak, hanem a szervezetben szinte bárhol képződhetnek
 - c. nincsenek speciális célsejtjeik, hatásuk szerteágazó
 - d. rövid és hosszútávú transzportjuknak köszönhetően nemcsak képződésük helyén hatnak, hanem távolabbi régiókba is eljuthatnak
 - e. nem állnak központi szabályozás alatt, hanem a környezeti tényezők és az egyedfejlődési program függvényében kölcsönösen szabályozzák egymás szintjét és jelátvitelét
4. Az aktív növényi hormonok szintjét egy adott sejtben/szövetben/szervben a szintézisük és lebontásuk aránya, szerkezeti módosulások (egymásba reverzibilisen vagy irreverzibilisen átalakulni képes aktív, illetve inaktív variánsok), illetve a transzport folyamatok szabják meg.
5. A növényi hormonok elsődleges (pl. aminosav, illetve zsírsav szintézis) illetve másodlagos (terpenoid bioszintézis) anyagcsere utak módosulásának/elágazásának termékei.
6. A növényi hormonok érzékelésében specifikus sejtfelszíni és/vagy intracelluláris receptorok vesznek részt. A jelátvitel fehérje foszforiláció és/vagy fehérje ubikvitináció és lebontás függő.
7. A növényi hormonok kimutatása és mennyiségi meghatározása a komplex növényi mintákban biológiai hatásukon (bioesszék, bioszenzorok), illetve kémiai szerkezetükön és fiziko-kémiai tulajdonságaikon (immunológiai és kromatográfiás eljárások) alapul. A modern tömegspektrográfiai eljárások lehetővé teszik az igen kis mennyiségben előforduló növényi hormonok és szerkezeti variánsaik egymás melletti kvantitatív kimutatását korlátozott mennyiségű növényi mintából is.

Ellenőrző kérdések

1. Melyek a ma ismert növényi hormonok?
2. Miért nem tekintjük növényi hormonnak a nitrogén monoxidot?
3. Miért sorolhatjuk a jelátviteli szerepű peptideket a növényi hormonok közé?
4. Mik a növényi és állati hormonok közötti legfontosabb általános különbségek?
5. Melyik az a másodlagos anyagcsere útvonal, amelyhez számos növényi hormon szintézise kapcsolódik?
6. Mely aminosavak szolgálnak növényi hormon szintézisének kiindulási anyagául?
7. Milyen folyamatok befolyásolják egy hormon szintjét egy adott szövetben?
8. Hol történik az egyes növényi hormonok érzékelése?
9. Mi az a két általános jelátviteli folyamat, amely a növényi hormonok jelátvitelében fontos szerepet játszik?

Megvitatandó kérdések

1. Miért térnek el ennyire a növényi és állati hormonok?
2. Ha a növényekben a hormonok nem állnak központi (idegrendszeri) szabályozás alatt, hogyan történik a szervezet fejlődésének/reakciójának a koordinálása?
3. Mi lehet az oka, illetve előnye annak, hogy több növényi hormon jelátvitelére transzkripciót gátló fehérje lebontásán alapszik?
4. Miért fontos a növényi hormonok kutatása?
5. Milyen tényezőktől függ egy adott sejt hormonválasza?

Javasolt irodalom

1. Erdei László (szerk.). Növényélettan – Növekedés- és fejlődésélettan. JATEPress Szeged, Magyarország, 2011.
2. Li J, Li C, Smith SM. (szerk.) Hormone Metabolism and Signaling in Plants. Academic Press; 2017.
3. Davies PJ, (szerk.) Plant Hormones: Biosynthesis, Signal Transduction, Action! 3. kiad. Springer Netherlands; 2010.

Felhasznált irodalom

1. Masuda Y, Kamisaka S. Discovery of Auxin. In: Discoveries in Plant Biology (Internet). WORLD SCIENTIFIC; 2000 (idézi 2019. január 14.). o. 43–57. (Discoveries in Plant Biology; köt. Volume 3). Elérhető: https://www.worldscientific.com/doi/abs/10.1142/9789812813503_0003
2. Smith SM, Li C, Li J. Hormone function in plants. In: Li J, Li C, Smith SM, szerkesztő. Hormone metabolism and signalling in plants. Academic Press, United States of America; 2017. o. 1–32.
3. Qin G, Gu H, Zhao Y. An indole-3-acetic acid carboxyl methyltransferase regulates Arabidopsis leaf development. Plant Cell. 2005; 17:2693–704.
4. Feng J, Shi Y, Yang S. Cytokinins. In: Hormone Metabolism and Signalling in Plants. Academic Press, United States of America; 2017.

5. Wang B, Wang Y, Li J. Strigolactones. In: *Hormone Metabolism and Signaling in Plants* (Internet). Elsevier; 2017 (idézi 2019. január 3.). o. 327–59. Elérhető: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128115626000104>
6. Larrieu A, Vernoux T. Comparison of plant hormone signalling systems. *Essays Biochem.* 2015. szeptember 15.;58(0):165–81.
7. Brenner M. Modern methods for plant growth substance analysis. *Ann Rev Plant Physiol.* 1981; 32:511–38.
8. Du F, Ruan G, Liu H. Analytical methods for tracing plant hormones. *Anal Bioanal Chem.* 2012; 403:55–74.
9. Su Y, Xia S, Wang R, Xiao L. Phytohormonal quantification based on biological principles. In: *Hormone Metabolism and Signaling in Plants*. 2017. o. 431–70.
10. Chu J, Fang S, Xin P. Quantitative analysis of plant hormones based on LC-MS/. In: *Hormone Metabolism and Signalling in Plants*. Academic Press, United States of America; 2017. o. 471–526.
11. Durgbanshi A, Arbona V, Pozo O. Simultaneous determination of multiple phytohormones in plant extracts by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *J Agric Food Chem.* 2005; 53:8437–42.
12. Wells D, Laplaze L, Bennett M. Biosensors for phytohormone quantification: challenges, solutions, and opportunities. *Trends Plant Sci.* 2013; 18:244–9.

3.2. Fejezet Az auxin

Írta: Prof. Dr. Fehér Attila

Tanulási célkitűzések:

Tudás

- ismeri az auxin érzékelésének és génkifejeződést szabályozó szerepének mechanizmusát
- ismeri a mesterséges auxinok gyakorlati felhasználási lehetőségeit
- ismeri az auxin szintjét a növényi szövetekben befolyásoló alapvető folyamatokat (metabolizmus, transzport)
- ismeri a tropizmus fogalmát
- tudja megnevezni a természetes auxint
- tudja ismertetni az auxinok általános jellemzőit
- tudja ismertetni az auxin szerepét a tropizmusokban
- tudja felsorolni az auxin legfontosabb fiziológiai funkcióit

Képesség

- képes felismerni egy ismeretlen vegyület auxin-szerű hatásait
- képes az auxin fiziológiai és egyedfejlődési hatásainak vizsgálatára
- képes az auxin kanalizációs elmélet általános alkalmazására

Attitűd

- nyitott az auxin, mint növényi hormon, mélyebb tanulmányozására,
- nyitott az auxin, mint növényi hormon, fiziológia hatásainak kísérletes vizsgálatára

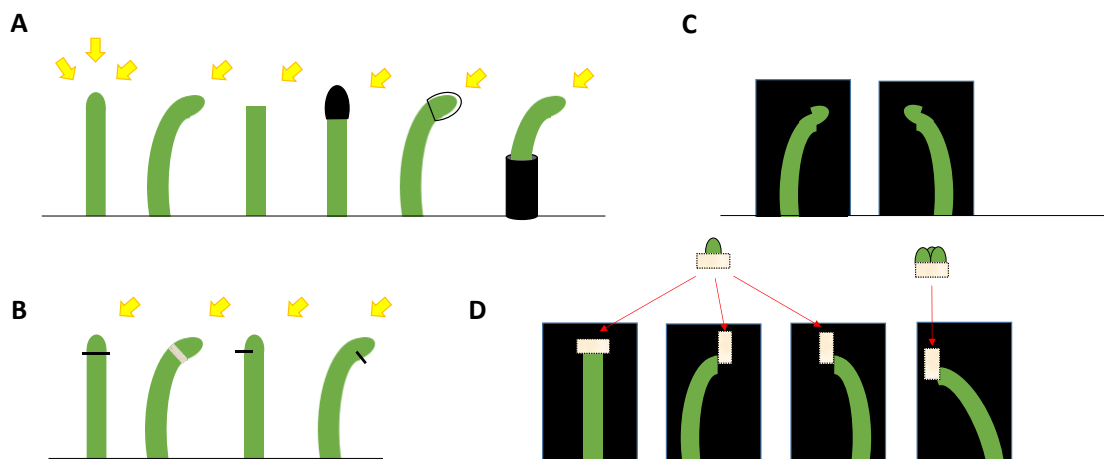
Autonómia/felelősség

- önállóan érvel az auxin sejtszintű funkcióinak a növények egyedfejlődésében betöltött központi szerepével kapcsolatban
- átérzi az auxinok gyakorlati alkalmazásával kapcsolatos felelősséget (kémiai fegyverként, nem-szelektív herbicidként való alkalmazás)

3.2.1. Az auxinok felfedezése

Az auxin volt az első felfedezett növényi hormon, aminek a létezésére már jóval kémiai azonosítása előtt számos megfigyelés utalt. Azt a feltételezést, hogy növényekben a szövetek fejlődését olyan anyagok szabályozzák, amelyeknek az eloszlását a környezet (fény, illetve gravitáció) befolyásolja, Julius von Sachs (1832-1897) német botanikus fogalmazta meg 1882-ben megjelent művében (1). Ekkoriban közölte Charles Darwin és fia Francis Darwin azokat a kísérleteit, amelyeket kanáriköles (*Phalaris canariensis*) és zab csíranövényekkel végeztek (2). Azt vizsgálták, hogy miért görbül a csíranövény koleoptillal burkolt hajtása a fény felé, ha csak egy irányból kap megvilágítást. Azt figyelték meg, hogy a fényt a koleoptil csúcsa érzékeli, hiszen, ha eltávolították azt, vagy átlátszatlan „sapkával” letakarták, akkor elmaradt a görbülés (3.2.1. ábra A). Fényáteresztő „sapka” esetében azonban nem történt változás. Mivel maga a görbülés a csúcs alatt, a növekedési zónában következett be, feltételezték, hogy a fény hatását valami közvetíti a koleoptil csúcsa és a növekedési régió között. Ezt igazolta az is, hogy ha a koleoptil alsó növekedő részét takarták le, de a csúcst szabadon hagyták, a görbülés megtörtént (3.2.1. ábra A). Később egy dán kutató, Peter Boysen-Jensen tovább vizsgálva a jelenséget megállapította, hogy ha a levágott koleoptil csúcsot visszahelyezi, akkor a görbülési válasz visszaáll (1,3,4). Ha a levágott csúcs és a koleoptil közé csillám darabkát helyezett a görbülés elmaradt,

de ha zselatinnal választotta el a csúcsot a koleoptil többi részétől, akkor nem (3.2.1. ábra B). Feltételezte, hogy a fény hatását valamilyen kémiai anyag közvetítheti. Megfigyelte azt is, hogy ha a csillámot csak félig illeszti be a koleoptil csúcs alá az árnyékos oldalon, akkor elmarad a görbülés, ha ugyanezt a fényfelőli oldalon végzi el, akkor nem (3.2.1. ábra B). Ebből arra következtetett, hogy a fény hatását közvetítő anyag egyenlőtlenül oszlik meg a megvilágított és az árnyékos oldal között, és a görbülést az árnyékos oldal fokozott növekedésének tulajdonította. Feltételezéseit egy magyar botanikus, Paál Árpád, igazolta (1,3,4). A Jób könnye (*Croix lachryma*) fű vastag koleoptilja lehetővé tette számára, hogy a levágott csúcsot félig elcsúsztatva ragaszthassa vissza zselatinnal a koleoptilra (3.2.1. ábra C). A sötétbe helyezett csíranövény koleoptilja elgöbült, mégpedig mindig a félig visszahelyezett csúccsal ellentétes irányba. Ez a kísérlet arra utalt, hogy a növekedésszabályozó anyag (Paál Árpád már így nevezte) a hajtáscsúcsban állandóan termelődik/jelen van (nem kell hozzá fény) és az árnyékos oldalon jut el a koleoptil alsóbb régióiba, ahol növekedést vált ki. Ez az árnyékos oldalon bekövetkező megnyúlás az ellenkező irányba való görbülést eredményez.



3.2.1. ábra Az auxin felfedezéséhez vezető kísérletek vázlata. A. Charles és Francis Darwin kísérlete. Az egyirányú megvilágítás a koleoptil fény felé való görbülését eredményezi (a, b). A görbülés a csúcs alatt történik. A koleoptil csúcsának eltávolítása (c) valamint fényt át nem eresztő „sapkával” való letakarása (d) megakadályozza a görbülést. Ha a csúcsot fényátersztő „sapkával” látjuk el vagy ha nem a csúcsot, hanem a koleoptil alsó részét takarjuk el a fénytől, akkor a koleoptil a fény irányába göbül. B. Peter Boysen-Jensen kísérlete. Ha a koleoptil csúcsát levágta, majd visszahelyezte úgy, hogy a csúcs és a koleoptil közé egy csillám darabot helyezett, akkor az egyirányú megvilágítás esetében sem történt görbülés (a), ellentétben azzal, ha a levágott csúcsot egy zselatin réteg választotta el a koleoptil többi részétől (b). Ha a csillám darabot csak félig mélyesztette a koleoptil csúcs alatt a szövetek közé, akkor a görbülés attól függött, hogy az árnyékos, vagy megvilágított oldalon történt-e meg a szövetek elválasztása. Előbbi esetben (c) elmaradt, utóbbiban (d) bekövetkezett. C. Paál Árpád kísérlete. Ha a levágott koleoptil csúcsok aszimmetrikusan elcsúsztatva kerültek visszahelyezésre, akkor sötétben is bekövetkezett a görbülés, mégpedig mindig a visszahelyezett csúccsal ellentétes oldal felé. D. Frits Went kísérlete. A levágott koleoptil csúcsot agar kockára helyezte (a), majd ezt az agar kockát csúcs nélküli koleoptilokra helyezte. Ha szimmetrikusan, a koleoptil közepére helyezte a kockát, sötétben nem volt görbülés (a), ha aszimmetrikusan elcsúsztatva, akkor sötétben is volt elhajlás, mindig az ellenkező oldal felé (c, d). A sárga nyilak a fénybesugárzás irányát jelzik. A kísérletek magyarázata a szövegben. (Fehér Attila ábrája)

A megfigyeléseket Frits Went holland biológus is alátámasztotta (1,3,4): agar kockákra helyezett levágott zab koleoptil csúcsokat és így a növekedés szabályozó anyag ezekben az agar kockákban gyűlt össze. Amennyiben ezeket az agar kockákat féloldalasan helyezte eltávolított csúcsú koleoptilokra, akkor sötétben is elő tudta idézni a görbülést (3.2.1. ábra D). Azt is megfigyelte, hogy az agar kockára helyezett koleoptil csúcsok számával (a növekedés szabályozó anyag mennyiségével) arányos a koleoptil görbülete (3.2.1. ábra D). Ez az ún. zab koleoptil teszt alapja, ami a mai napig használt bioesszé az auxin hatás kimutatására és mérésére.

Ennek a tesztnek a segítségével kísérelték meg az auxin azonosítását. Kimutatták, hogy a csíranövényeken kívül előfordul ilyen hatású anyag pollen kivonatokban, sőt gomba fermentációs szűrletekben és az emberi vizeletben is (1). Egy holland kémikus, Fritz Kögl, és munkatársai számoltak be elsőként 1933-ban a hatóanyag sikeres tisztításáról és kristályosításáról emberi vizeletből (5). Ők adták a hatóanyagnak az auxin elnevezést a görög „auxein” növekedni szó alapján (sokan tévesen Frits Wentnek tulajdonítják az auxin elnevezést). Egy évvel később sikerült a hatóanyagot növényi szövetekből is kitisztítani, de itt két szerkezetileg némileg eltérő hatóanyag frakciót kaptak: az egyik az emberi vizeletben is megtalálható anyagot tartalmazta amit „auxin-a”-nak (auxenotriolic acid) neveztek el míg a csak a növényekben kimutatható frakció hatóanyagát „auxin-b”-ként (auxenolonic acid) írták le. Mindkét vegyületről úgy találták, hogy csak szén, hidrogén és oxigén atomokból állnak. Ugyanebben az évben ugyanezek a kutatók beszámoltak egy az emberi vizeletből kristályosítható harmadik auxin-hatású anyagról, az indole-3-ecetsavról, ami azonban nitrogén atomot is tartalmazott, ezért a „heteroauxin” nevet kapta. A következő évtizedekben az auxin-a és az auxin-b tisztítására és pontos kémiai szerkezetének a meghatározására tett kísérletek sorra kudarcot vallottak és kétségek merültek fel az auxin természetét illetően (5). Az angol-amerikai Kenneth V. Thimann 1935-ben Rhizopus gomba szűrletéből sikeresen kristályosított a zab koleoptil görbülését kiváltó anyagot és indol-3-ecetsavként azonosította, ami szerkezetében megegyezett a „heteroauxinnal”. Növényi szövetekből egy újabb holland kémikus, Arie Jan Haagen-Smit (Fritz Kögl korábbi munkatársa), tisztította és kristályosította először a hatóanyagot (1946-ban) és igazolta ő is, hogy az nem más, mint az indol-3-ecetsav (5). Ezt követően vált fokozatosan elfogadottá, hogy a növények növekedését szabályozó auxin hormon valójában a korábban „heteroauxin” -nak nevezett indol-3-ecetsav (IES). Az auxin-a és auxin-b évekig tartó intenzív kutatását ma a tudomány egyik tévutjának tekintjük, mindkét frakció vélhetően indol-3-ecetsavval szennyezett volt (5).

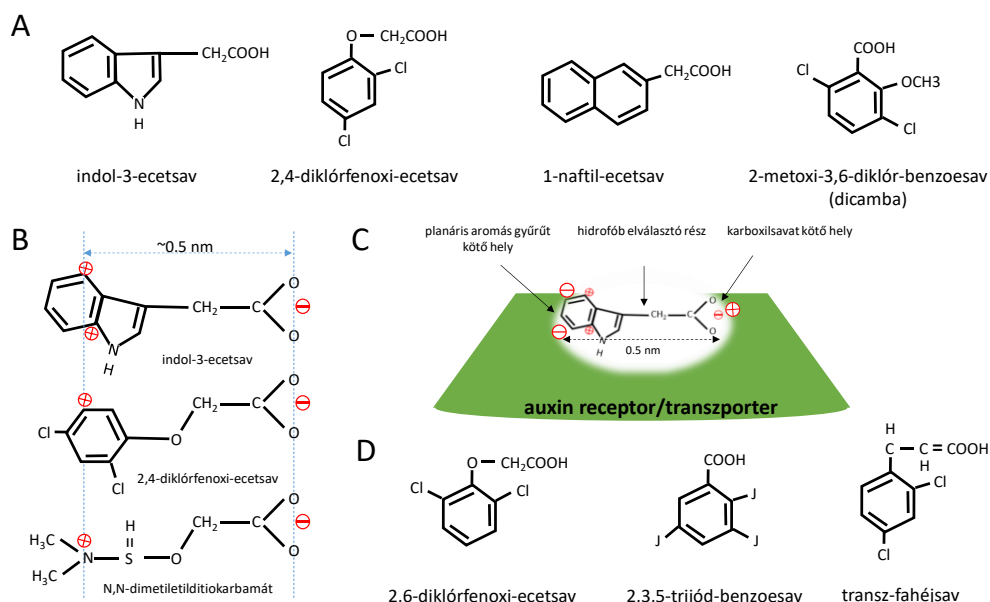
3.2.2. Természetes és mesterséges auxinok – szerkezet és hatás

A természetben előforduló auxin hatású vegyületek mind az indol-3-ecetsav elő anyagai vagy származékai, és hatásukat indolecetsavvá átalakulva fejtik ki. Így kijelenthetjük, hogy a természetes auxin hormon azonos az indol-3-ecetsavval. Azonban számos mesterséges (szintetikus) auxin hatású molekula is létezik. Már a természetes auxin azonosítására tett kísérletekkel párhuzamosan, a múlt század harmincas és negyvenes éveiben, kimutatták számos mesterséges vegyületről, hogy az auxin hormonhoz hasonló aktivitással rendelkezik (6). Nagy lökést adott a mesterséges auxinok kutatásának az a felismerés, hogy az auxin nagy dózisban gyomirtószerként is alkalmazható. William Gladstone Templeman brit kutató írta le elsőként, hogy a magas auxin koncentráció nem egyformán hat a növényekre: a kétszikű „széleslevelű” növények sokkal érzékenyebbek rá, mint a „vékonylevelű” egyszikűek (6). Munkatársaival kimutatták, hogy az auxinok megfelelő koncentrációban alkalmazva lehetővé teszik a búzaföldön a „széleslevelű” gyomnövények szelektív elpusztítását, anélkül, hogy a búza károsodna. Az IES, illetve az akkor ismert auxinhatású vegyületek (pl. a 1-naftil-ecetsav; NAA) a talajba jutva hamar lebomlottak és drága volt az előállításuk is, így a mezőgazdasági felhasználásuk nem jöhetett szóba. Ezért Templeman kémikusokhoz fordult segítségért. Így került előállításra és auxin hatású vegyületként azonosításra, számos vegyület közül, a 2,4-diklórfenoxi-ecetsav (2,4-D) és 2-metil-

4-klór-fenoxi-ecetsav (MCPA), melyek rendkívül hatékony szelektív herbicideknek bizonyultak, és a mai napig elterjedten használják őket a mezőgazdaságban és a házikertekben egyaránt.

A mesterséges auxinok (3.2.2. ábra A) összességükben a természetes auxin összes fiziológiai hatásával rendelkeznek, de önmagában egyik molekula sem bír olyan széleskörű hatással, mint az IES. A szervezetben való szállításuk (transzportjuk), más molekulákkal való kapcsolódásuk (konjugációjuk) és enzimatikus lebontásuk is eltér az indol-3-ecetsavétól, ennek köszönhető erőteljesebb és a természetes auxintól némileg eltérő a hatásuk. Ráadásul sokkal ellenállóbb molekulák, mint a természetes auxin, akár hetekig is megmaradnak a talajban. Herbicidként való használatuk mellett, nagyban elősegítették az auxin kutatást is. Szomorú eredménye volt a mesterséges auxinok kutatásának a 2,4-diklór-fenoxi-ecetsav (2,4-D) és a 2,4,5-triklór-fenoxi-ecetsav (2,4,5-T) 1:1 arányú keverékének („Agent Orange”) katonai felhasználása a vietnami háborúban. Az amerikai haderők 77 millió liter „Agent Orange” keveréket permeteztek Dél-Vietnamra. A permetezés fő célja a sűrű dzsungellombozat ritkítása volt. Azonban ennek súlyos, a mai napig ható, egészségkárosító (rákos megbetegedések és fejlődési rendellenességek) következményei lettek a helyi lakosságra nézve (7).

A legtöbb auxin hatású vegyületek közös jellemzője az aromás gyűrű (ez lehet indol, fenoxi, naftil vagy benzol gyűrű is) és az ettől egy hidrofób szakasszal elválasztott karboxilsav (3.2.2. ábra A). Az aromás gyűrű pozitív és a karboxil csoport negatív töltései közötti távolság minden esetben kb. 0.5 nm, ahogy a 2. ábrán az IES és a 2,4-D esetében láthatjuk (3.2.2. ábra B). Ez teszi lehetővé, hogy ezek a molekulák azonos módon illeszkedjenek az auxin receptorok, transzporterek ún. auxin-kötő zsebébe és ott azonos változásokat idézzenek elő (3.2.2. ábra C). Az aromás gyűrű nem feltétele az auxin hatásnak, az auxin hatású ditiokarbamátok pl. nem rendelkeznek vele, de a hidrofil maggal elválasztott részleges pozitív és negatív töltések távolsága itt is kb. 0.5 nm (3.2.2. ábra B). A negatív töltés minden esetben karboxil csoporthoz köthető.

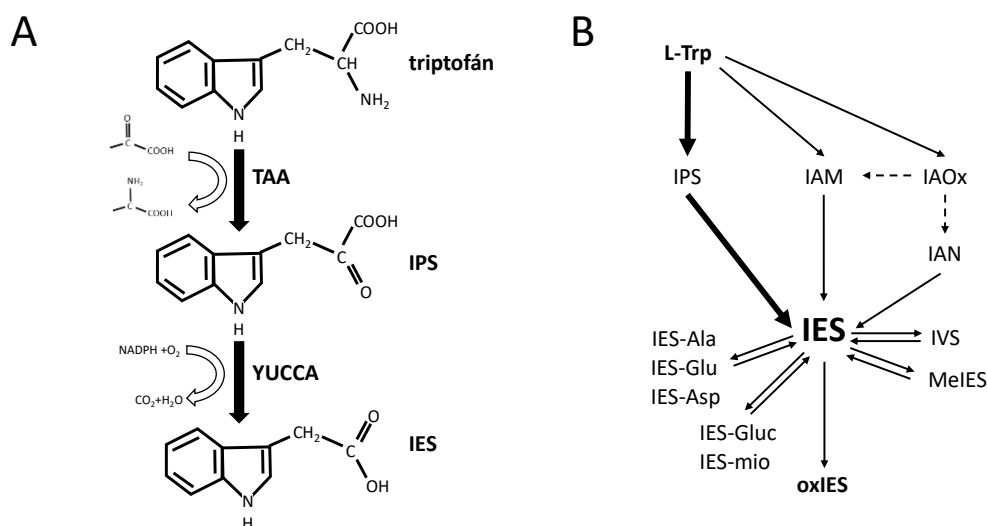


3.2.2. ábra. Az auxinok szerkezete. A. A természetes (indole-3-ecetsav) és néhány mesterséges auxin molekula szerkezete. B. A különböző auxin hatású vegyületek közös szerkezeti tulajdonságokkal rendelkeznek. C. Ezek teszik lehetővé, hogy az auxin-kötő fehérjékhez azonos módon tudjanak kapcsolódni, ami feltehetően a közös hatásmechanizmusuk alapja. D. Néhány természetes (transz-fahéjsav) és mesterséges (2,6-diklór-fenoxi-ecetsav, 2,3,5-trijód-benzoecsav) anti-auxin szerkezete. (Fehér Attila ábrája)

Számos az auxinokéhoz hasonló szerkezetű molekula ismert, melyek azonban nem rendelkeznek auxin hatással, hanem éppen megakadályozzák az auxinok működését: ezek az anti-auxinok. Az anti-auxinok hatásának feltételezett alapja, hogy mivel szerkezetükben hasonlóak az auxinokhoz ezért képesek az auxin-kötő zsebbe reverzibilisen bekötődni. Annyira azonban el is térnek az auxinoktól, hogy ne tudják az auxinokéhoz hasonló változásokat ezekben a fehérjékben előidézni. Mivel az auxinok és anti-auxinok ugyanoda kötődnek, így kompetícióban vannak egymással: az anti-auxin nagy koncentrációban alkalmazva kiszorítja az auxint az auxin-kötő helyekből

3.2.3. Az auxin metabolizmusa

Szinte bármely növényi szerv, illetve szövet képes auxint előállítani. Nagyobb mennyiségben azonban a gyorsan osztódó/növekvő szövetekben képződik, elsősorban a hajtásban. Így elsődleges auxin forrásnak a hajtáscsúcsot, a levélkezdeményeket, fiatal leveleket és fiatal terméseket tekinthetjük. Az auxin szintézise növényfajtól és szövettípustól függően többféle útvonalat is követhet. A legáltalánosabb útvonal a triptofán aminosavból indul ki és mindössze két enzimatikus lépésből áll (8) (3.2.3. ábra A). A triptofánból először indol-piroszólósav keletkezik egy transzaminálási lépésben, amit triptofán-aminotranszferáz (angol rövidítésük TAA) enzimek katalizálnak. Az indol-piroszólósavból egy flavin-monooxygenáz család tagjai, melyeket az enzimhiányos Arabidopsis mutánsok fenotípusa alapján YUCCA fehérjéknek nevezünk, állítják elő az indol-ecetsavat. Arabidopsisban 5 TAA és 11 YUCCA kódoló gén van, melyek kifejeződése részben szerv, illetve szövet specifikus, de részben át is fedhet egymással (9). Az auxin szintézis gének kifejeződést más hormonok is szabályozhatják. Az auxin szintézisben szerepet játszó gének nagy száma biztosítja, hogy az auxin szintézis térben és időben történő pontosan szabályozott módon menjen végbe. A TAA és YUCCA enzimek az endoplazmatikus retikulum membránhoz kötve és a citoplazmában találhatóak (9).



3.2.3. ábra. Az auxin metabolizmusa. A. Az auxin szintézis általánosan elterjedt útvonala. B. A triptofánból kiinduló alternatív auxin bioszintézis útvonalak vázlata, valamint az aktív auxin szintet befolyásoló reverzibilis konjugáció és irreverzibilis oxidáció termékei. TAA - triptofán-aminotranszferáz; YUCCA - YUCCA-típusú flavin-monooxygenáz; IPS – indol-3-piroszólósav; IES – indol-3-ecetsav; L-Trp – L-triptofán; IAM – indol-3-acetamid; IAox – indol-3-acetaldoxim; IAN - indol-3-acetonitril; IVS – indol-3-vajsav; Ala – alanin; Glu – glutamát; Asp – aszpartát; Gluc – glükóz; mio – mioinozitol; MeIES – karboxi-metil IES (indol-3-ecetsav metilészter); oxIES – oxindol-3-ecetsav (Fehér Attila ábrája)

Bizonyos növényekben feltételezhetően vannak alternatív útvonalak, melyek az indole-3-acetaldoximon (IAOx), vagy indole-3-acetamidon (IAM) keresztül vezetnek triptofánból auxin szintézishez (3.2.3. ábra B). Ezek jelentősége bizonytalan, nem általánosíthatók (10). Az IAOx útvonal, melynek köztes terméke az indol-acetonitril (IAN), pl. a keresztesvirágúakra jellemző, de a kukorica koleoptilban is kimutathatók ezek az auxin prekursorok. Növényi kórokozók (pl. az *Agrobacterium trumefaciens*) indole-3-acetamidon (IAM) keresztül termeltetnek a növényi sejtekkel auxint, ami tumorképződéshez vezet. Az IAM szintézisének útja nem ismert, bár számos növényből kimutatható. IAM hidrolázokat viszont, melyek az IAM-ot IES-vé alakítják, sikerült már több növényben is azonosítani. Korábbi elméletek az indol-acetaldehidot tekintették az auxin közvetlen prekursorának, de ezt a későbbi kísérletek megcáfolták (11). Vannak feltételezések triptofántól független auxin szintézis útvonalairól is, de ezek létezését sem sikerült eddig kísérletileg igazolni (12).

A szabad auxin szint szabályozásában a bioszintézis mellett fontos szerepe van az auxin konjugátumoknak és az auxin lebontásának is. Ahogy korábban szó volt róla, az auxin magas koncentrációban káros a növények számára (ezért használható herbicidként). Másrészt a különböző auxin koncentrációk eltérő fejlődési és fiziológiai folyamatokat váltanak ki. Szükség van tehát az auxin szintek finom szabályozására. Az auxin, főképp karboxil csoportja révén, különböző kismolekulású vegyületekhez (de akár makromolekulákhoz is) kapcsolódhat (13). A leggyakoribb konjugált formák az auxin aminosav (aszpartát, glutamát, alanin stb.) konjugátumai, a glükózilészterek, a mioinozit észterek és a metilészterek (3.2.3. ábra B). A konjugált formák enzimatis úton képződnek és alakulnak vissza szabad auxinná. A karboxi metiltranszferáz enzim által előállított metil-eszterifikált formából (MeIAA) metileszterázok (Pl. AtMes17) szabadítják fel a szabad auxint (14). Az aminosavakkal való konjugációt a GH3 enzim család (lúdfűben 20 tagú) tagjai végzik (13). Ezek nemcsak auxinhoz, más növényi hormonokhoz, pl. szalicilsavhoz, jázminsavhoz, is konjugálhatnak aminosavakat. A család tagjai közül néhánynak a génje auxin indukál. Ezeknek a géneknek a konstitutív (állandó) működése, a szabad auxin szint csökkenésével összhangban csökkent megnyúlást, növekedést, illetve oldalgyökér képződést okoz. Mivel a konjugált formák általában nem rendelkeznek auxin hatással, de belőlük a szabad auxin felszabadítható, így az auxin raktározott formáinak tekinthetők. A konjugátumok képződésén keresztül a növény az aktív auxin szintjét képes átmenetileg csökkenteni. Az indolecetsav indolvajsavvá (IVS) is alakulhat, amely a peroxiszmában béta-oxidáció révén visszaalakulhat aktív indolecetsavvá, így szintén egy raktározott auxin formának tekinthető (12). Az IVS-t elterjedten használják kereskedelembe kapható készítményekben a járulékos gyökérképződés serkentésére hajtásokon („gyökereztető por”).

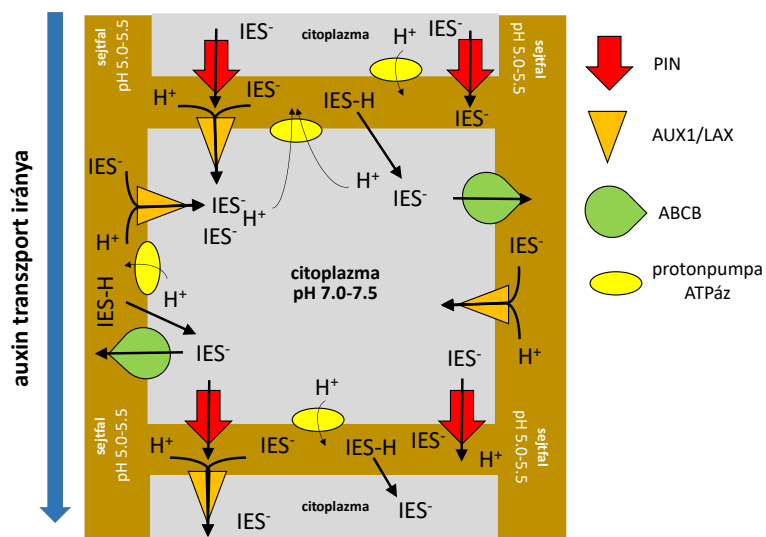
Az auxin végleges eltávolítása, lebontása, oxidáción keresztül történik. A szabad, illetve a konjugált formák egyaránt lebontásra kerülhetnek. Az oxidáció terméke az oxindol-3-ecetsav (oxIES), illetve konjugált formái (3.2.3. Ábra B).

3.2.4. Az auxin szállítása (transzportja)

Az auxin lokális koncentrációját metabolizmusa (szintézis, konjugáció, oxidáció) mellett a sejtek, szövetek, szervek közötti transzportja határozza meg. Az auxin transzportnak két fő mechanizmusát különböztetjük meg. Az auxin gyors, hosszú távú szállítása a fiatal szervekből (lásd fentebb) a növény többi részébe a floém áramon keresztül valósul meg. Ez a szállítási mód passzív, nem ad lehetőséget az auxin megoszlás szabályozására. A másik szállítási mód a sejtről-sejtre történő, aktív, irányított transzport. Ez rövid és hosszabb távú auxin szállítást is lehetővé tesz. A hosszútávú irányított transzport az edénynyalábok parenchimatikus sejtjei között megy végbe, sejtről-sejtre.

Az auxinok sejtről-sejtre történő irányított szállítását az auxin gyenge sav karaktere és többféle auxin transzporter fehérje együttesen teszi lehetővé (15). A poláris auxin transzport mechanizmusát az ún. kemiozmotikus auxin transzport modell alapján (3.2.4. ábra) az alábbiakban foglalhatjuk össze. A

növényi sejtek falának tere (az apoplaszt) a plazmamembránban elhelyezkedő protonpumpa (H^+ -ATPáz) működésének köszönhetően enyhén savas kémhatású (pH kb. 5.0-5.5). Ebben a savas közegben az auxin (indol ecetsav) kb. 20%-a protonált lipofil formában ($IES-H$) van jelen, ami képes a sejtmembránon passzívan átjutni diffúzióval. Az auxin kb. 80%-a azonban emellett a pH mellett is disszociál auxin anionra (IES^-) és protonra (H^+). A töltéssel rendelkező auxin anion nem tud passzívan átjutni a sejtmembránon. Az IES^- másodlagos transzporttal, H^+/IES^- szimporttal, jut be a sejtbe az AUX1/LAX típusú auxin influx karrierek (permeázok) közvetítésével. A sejt citoplazmájának pH-ja semleges, enyhén lúgos (pH kb. 7.0-7.5). Emellett a pH mellett az auxin teljes mértékben ionos formában van jelen. Mivel a negatív töltésű auxin anion nem tud átjutni a sejtmembránon, így „csapdázódik” a sejtben. A sejtől csak szabályozott módon tud kijutni. Ezt a folyamatot két transzporter fehérje család tagjai szabályozzák: a P-glikoproteinek (PGP) közé tartozó „ATP-Binding Cassette family B” (ABCB) transzporterek és a PIN-FORMED (PIN) auxin efflux karrierek. Ezek közül az utóbbiak felelősek az auxin transzport irányának meghatározásáért. A PIN fehérjék ugyanis jellemzően polárisan helyezkednek el a sejtmembránban, azaz az auxint a sejtől egy meghatározott irányba juttatják ki. Itt az auxin felhalmozódik a sejtek közötti térben (az apoplasztban) majd a fentebb ismertetett módon bejut a szomszédos sejtekbe, amelyekből viszont szintén irányítottan, jellemzően az ellenkező oldalon, lép majd ki létrehozva az irányított auxin áramlást.



3.2.4. ábra. Az auxin transzport kemiozmotikus modellje. Magyarázat a szövegben. (Fehér Attila ábrája)

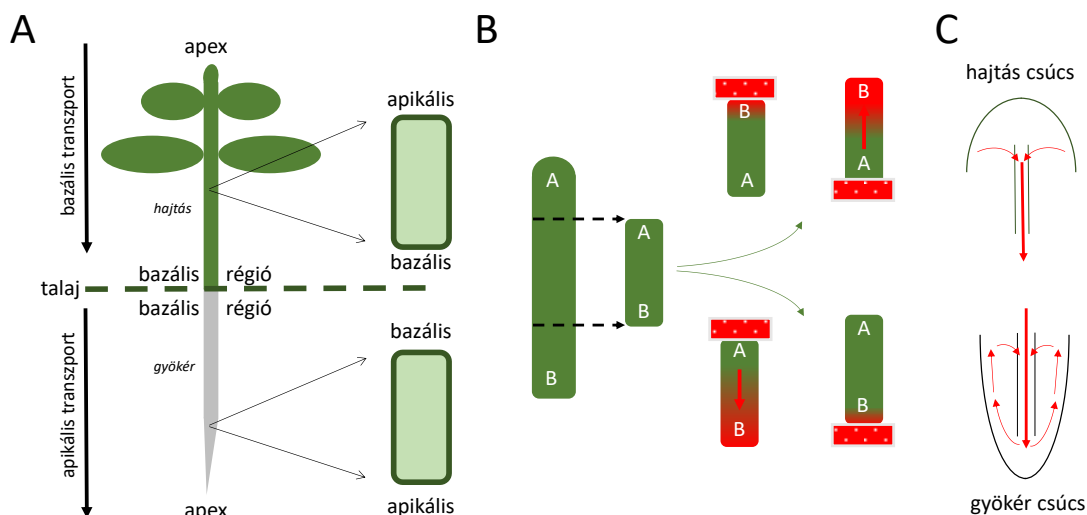
Az ABCB transzporterek elhelyezkedése a sejtmembránban a PIN fehérjékkel szemben jellemzően egyenletes. Az ő szerepük az irányított transzport számára a sejtben rendelkezésre álló auxin szintjének a kontrollálása, amihez ATP-t használnak (elsődleges transzport). A sejtről sejtre történő irányított auxin szállításhoz mind a PIN mind az ABCB transzporterekre szükség van.

A fent említett auxin transzporter családok mindegyikébe több fehérje tartozik. Az ezeket kódoló gének szerv/szövet specifikus, illetve más hormonok által befolyásolt kifejeződése hozzájárul az auxin transzport szabályozásához. A PIN fehérje család Arabidopsisban nyolc tagú, ebből öt tagnak (PIN1,2,3,4,7) van jelentős szerepe a az irányított auxin transzportban, míg az endoplazmatikus retikulum membránban elhelyezkedő két karrier (PIN5,8) elsősorban a sejtben belüli auxin homeosztázis fenntartásában vesz részt, a PIN6 pedig mindkét folyamatban szerepet játszhat.

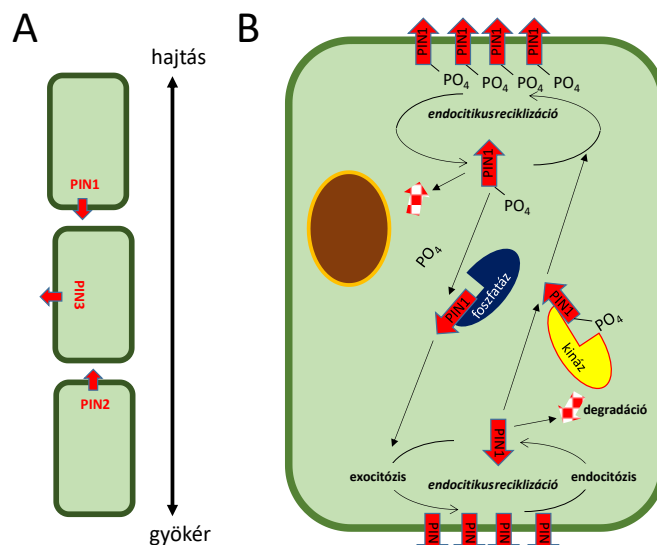
A hajtásban az auxin fő áramlási iránya a hajtáscsúcstól (apex) a hajtás alsó része felé (bazális régió) mutat (3.2.5. ábra A,B), azaz bazális transzportról beszélünk; a gyökérben a központi szövetben

a hajtás felőli régiótól (a gyökér bázisa) a gyökércsúcs (apex) felé történik az elsődleges auxin áramlás, azaz a gyökércsúcsba az auxin apikális transzporttal jut el (3.2.5. ábra A,C), ott azonban a kéreg és epidermisz szövetrétegekben megvalósul egy visszirányú bazipetális irányú transzport is (3.2.5. ábra C). A teljes növényre jellemző fő auxin áramlás (hajtás csúcsától a gyökércsúcs felé) mellett, lokálisan szabályozott rövidtávú auxin transzport biztosítja a különböző szervekre, szövetekre, sejtcsoportokra jellemző auxin szintek kialakulását (lásd később).

Az auxin transzport irányát részben meghatározza a PIN fehérje típusa: a PIN1 fehérje alapvetően a gyökércsúcs felé, a PIN2 fehérje a hajtáscsúcs felé történő, míg a PIN3 fehérje elsősorban az oldalirányú transzportért felel (3.2.6. ábra A). A PIN fehérjék poláris elhelyezkedését a membránban fehérje foszforiláció is szabályozza. Pl. a PIN1 fehérje pl. a PINOID kináz általi foszforiláció hatására a bazális membránból átkerülhet az apikális membránba (és fordítva), de ha egy foszfát ezt a foszfát csoportot eltávolítja róla akkor visszakerül az eredeti pozíciójába (3.2.5. ábra C). Továbbá, a PIN fehérjék és a sejtmembrán kapcsolata dinamikus. A PIN fehérjék endocitotikus vezikulák révén folyamatosan bekerülnek a sejt belsejébe, majd exocitózissal visszaépülnek a membránba (a folyamat neve: endocitotikus reciklizáció; 3.2.6. ábra B). Ez lehetővé teszi a PIN fehérjék mennyiségének és egyik membrán doménból a másikba történő átrendeződésének a hatékony szabályozását és így az auxin transzport szintjének és irányának gyors megváltoztatását (15).



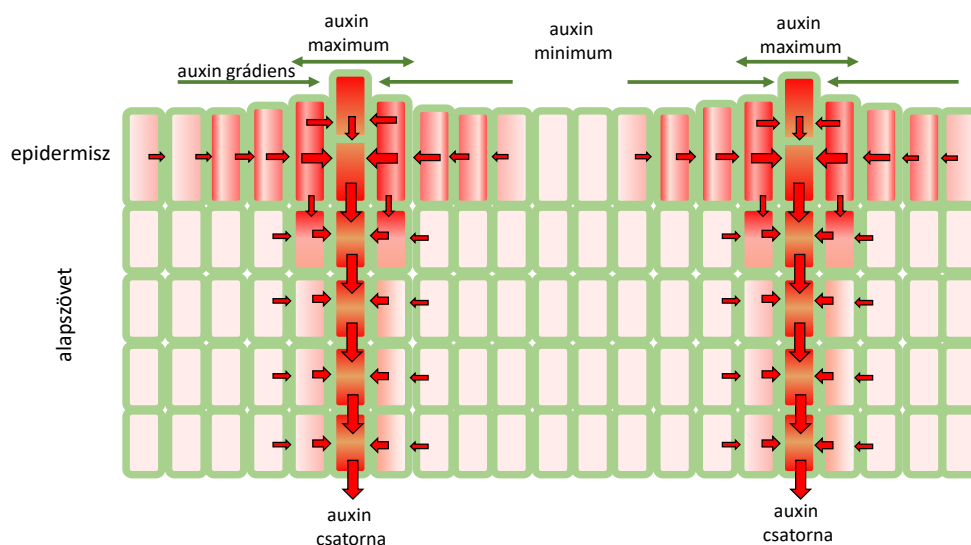
3.2.5. ábra Az auxin transzport irányai. A. Az apikális és bazális régiók viszonya a hajtásban és a gyökérben (apex = csúcs). B. A fő auxin áramlási irányok a hajtáscsúcsban (fent) és a gyökércsúcsban (lent). C. A hajtásban zajló auxintranszport bazipetális jellegének kísérleti igazolása. A – apikális; B – bazális régió. Hajtásdarabokat az apikális régiójukkal lefelé (fent) vagy felfelé (alul) helyezünk el. Ezt követően auxinnal átitatott agar kockát () helyezünk vagy az apikális vagy a bazális régióra. A piros szín mutatja, hogy néhány óra elteltével az auxint a hajtásdarab mely régiójában találhatjuk meg felhalmozódva. Ez minden esetben a bazális régió lesz, azaz az apikális régióra helyezett auxin átranzportálódott a bazális régióba, míg a bazális régióra helyezett auxin helyben maradt: az auxin transzport a hajtásban túlnyomórészt egyirányú, bazipetális. (Fehér Attila ábrája)



3.2.6. ábra A PIN fehérjék és az auxin transzport iránya. A. Adott PIN fehérje alapvetően egy adott irányú auxin transzportban vesz részt és az ennek megfelelő membrán régióban helyezkedik el. B. Egy adott PIN fehérje esetében is megváltozhat, hogy mely membránrégióban helyezkedik el. A PIN fehérjék folyamatosan leválnak, majd visszaépülnek a sejtmembránba (endocitikus reciklizáció). Ez lehetővé teszi mennyiségük (degradáció) illetve a membránok közötti átrendeződésük dinamikus szabályozását, melyben specifikus fehérje kinázok/foszfatázok által katalizált foszforilációjuk/defoszforilációjuk játszik fontos szerepet. (Fehér Attila ábrája)

Az auxin pozitívan szabályozza saját transzportját. Egyrészt fokozza a PIN fehérjét kódoló gének expresszióját, másrészt stabilizálja a PIN fehérjék sejtmembránba épülését (csökkenti az endocitikus reciklizációt). Ez azt eredményezi, hogy az auxint transzportáló sejt egyre hatékonyabban pumpálja ki magából az auxint, ezzel a belső auxin koncentrációja lecsökken, így hatékonyabban vesz fel auxint a környezetéből. Így a környező sejtek apoplasztjából is elvonja az auxint, vagyis kialakul a szomszédos sejtek felől az auxint hatékonyan transzportáló sejt felé egy önerősítő auxin áramlás. Az auxin transzport irányítottsága miatt ez azt jelenti, hogy az auxin áramlás fokozatosan egy vagy néhány sejtrétegre korlátozódik („auxin kanalizációs elmélet”; (16)). Eredményeként sejtrétegek, szövetek közötti auxin grádiensek, illetve néhány sejtre korlátozódó auxin maximumok alakulnak ki. Az auxin kanalizációja, és ennek köszönhető magas lokális koncentrációja, szabja meg többek között a prokambium és így az edénynyalábok differenciálódásának, illetve a szervkezdemények kialakulásának a helyét. Az auxin egyenlőtlen megoszlása a növények morfogenezisét (méretét, alakját, szerveinek helyét, számát stb.) alapvetően meghatározza.

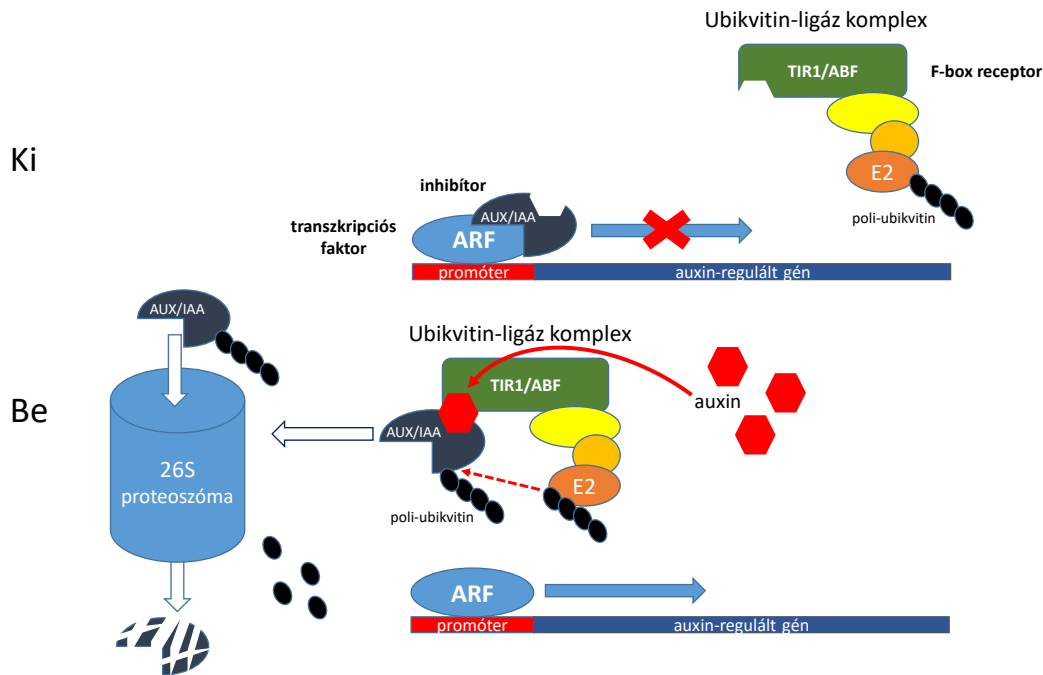
A poláris auxin transzportot lehet gátolni. A leggyakrabban használt auxin transzport inhibitorok a trijódbenzoészav (TIBA) illetve a naftiltálsav (NPA). Mindkét molekula az auxin effluxot gátolja, így a transzportáló sejtekben az auxin anionnak a felhalmozódását eredményezi.



3.2.7. ábra Az auxin kanalizáció modellje. Az auxin transzport önerősítő jellege auxin grádiensek illetve auxinban gazdag sejtcsoportok (csatornák, maximumok) kialakulását eredményezi. A csatornák prokambiummá (majd edénynyalábokká), az auxinban gazdag sejtcsoportok szervezdeményekké (majd szervekké, pl. levél vagy oldalgyökér) fejlődhetnek. A kanalizáció miatt a csatornák, ill. auxin maximumok között alacsony auxin tartalmú zónák alakulnak ki. A zöld szín a sejtfalak terét (apoplaszt) jelzi, a sejteket kitöltő piros szín erőssége az auxin szintet, a piros nyilak az auxin áramlás irányát, méretük az erősségét jelzik. A PIN fehérjék elhelyezkedése egybeesik a nyilak által mutatott iránnyal. Az auxin az auxint hatékonyan transzportáló sejtek felé áramlik, amelyeknek ennek következtében tovább fokozódik az auxin transzportáló képessége (pozitív visszacsatolás). (Fehér Attila ábrája)

3.2.5. Az auxin érzékelése és jelátvittele

Az auxin koncentráció különbségeket a növényi sejtek auxin receptorok közreműködésével érzékelik, amelyek aktiválódva intracelluláris jelátviteli útvonalakon keresztül váltanak ki génkifejeződési, fiziológiai és/vagy strukturális válaszokat. Az auxin több száz gén kifejeződését szabályozza rendkívül gyorsan (17). A génexpressziós változásokért felelős intracelluláris auxin jelátvitel alapvetően három fehérjecsald tagjait foglalja magába: a TRANSPORT INHIBITOR RESPONSE 1 (TIR1)/AUXIN-BINDING FACTOR (ABF) F-box típusú fehérjét, az AUXIN/INDOLE-3-ACETIC ACID INDUCIBLE (AUX/IAA) represszor fehérjét, és az AUXIN RESPONSE FACTOR (ARF) transzkripciós faktorokat (3.2.8. ábra). A TIR1/ABF fehérjét tekintjük az auxin intracelluláris receptorainak (18). Ezek a fehérjék ubiquitin ligáz fehérje komplexek szubsztát felismerő komponensei. Funkciójuk auxin jelenlétében az AUX/IAA represszorok ubiquitinálásának elősegítése, amit az AUX/IAA fehérjék proteasómákon keresztüli lebontása követ (19). Az auxin ebben a reakcióban „molekuláris ragasztóként” szerepel, azaz szükséges a TIR1/ABF és az AUX/IAA fehérjék összekapcsolódásához. Az AUX/IAA represszorok az ARF transzkripciós faktorok inhibitorai (20). Az ARF transzkripciós faktorok az auxin válasz gének promóterében fellelhető „auxin response element” (auxRE) kötőhelyekhez kapcsolódnak, auxin hiányában azonban az AUX/IAA fehérjék gátolják működésüket. Mivel auxin jelenlétében az AUX/IAA fehérjék a TIR1/ABF fehérjék közvetítésével lebontódnak, az ARF transzkripciós faktorok el tudják indítani az auxin regulált gének működését (3.2.8. ábra). Érdekes módon az AUX/IAA fehérjéket kódoló gének közül több is 5-60 percen belül aktiválódik auxin hatására. Ez egy erőteljes negatív visszacsatolási mechanizmust jelent, ami biztosítja a sejt számára az auxin koncentráció változásaira történő gyors reagálás lehetőségét.



3.2.8. ábra Az auxin intracelluláris érzékelésének és jelátvitelének mechanizmusa. Magyarázat a szövegben. (Fehér Attila ábrája)

Az Arabidopsis genom 6 TIR1/AFB fehérjét, 29 Aux/IAA represszort és 23 ARF transzkripció faktor (továbbá még öt az AUX/IAA fehérjékhez kapcsolódó korepresszort) kódol. Ez a szabályozásban résztvevő fehérjék nagyszámú kombinációját teszi lehetővé (21). Az ezeket a fehérjéket kódoló gének szerv/szövet/fejlődési ill. fiziológiai állapot specifikus expressziója biztosítja a növény számára, hogy az auxin szint változásokat komplex módon érzékelje és értékelje. Az auxin nemcsak aktiválni, hanem gátolni is képes bizonyos gének kifejeződését. Ennek megfelelően vannak olyan ARF transzkripció faktorok, melyek elfoglalva bizonyos gének promóterét gátolják azok átíródását. Ezeket az ARF-eket gátló AUX/IAA fehérjék teszik lehetővé, hogy auxin hiányában ezek a gének átíródjanak.

Számos megfigyelés utal arra, hogy a fent ismertetett jelátviteli mechanizmus mellett további auxin érzékelési, jeltovábbítási útvonal is létezhet növényekben (22). Az utóbbi évekig tartotta magát az a nézet, hogy az AUXIN BINDING PROTEIN1 (ABP1) néven leírt fehérje az auxin extracelluláris receptora. Újabb vizsgálatok azonban komolyan megkérdőjelezték a korábbi kísérletek eredményeit, így az ABP1 fehérje auxin válaszokban betöltött szerepe bizonytalanra vált (23).

3.2.6. Az auxin fiziológiai funkciói és szerepe a növények növekedésében és fejlődésében

Az auxin széleskörűen szabályozza, a többi hormonnal kölcsönhatásban, a növények növekedését, fejlődését és életfolyamatait. Az alábbi folyamatokban van központi szerepe:

- a sejtek, szervek megnyúlásos növekedésének koncentráció függő serkentése illetve gátlása
- egyirányú ingerre adott növekedési válaszok (tropizmusok)
- a sejtek osztódásának serkentése, fenntartása (citokininek jelenlétében; pl. kallusz képződés),
- génexpresszió és a sejtek differenciálódásának szabályozása, pl. vaszkuláris elemek differenciálódása
- a növényi test felépítésének szabályozása (embriogenezis, morfogenezis, szervképződés)
- járulékos gyökér iniciáció, oldalgyökér fejlődés, gyökérdifferenciálódás, gyökérmerisztéma működésének fenntartása

- hajtás elágazódás szabályozása (apikális dominancia)
- a levél, illetve termés leválásának (abscisszió) szabályozása (etilénnel közösen)
- terméskötés, termésfejlődés, termésnövekedés, partenokarpia (megtermékenyítés nélküli termésfejlődés)
- a virágok nemi jellegének befolyásolása (nő virágok képződésének serkentése)

Sokrétű, a növények fejlődését, fiziológiáját szabályozó szerepe a sejtek szintjén kifejtett hatásaira vezethető vissza: az auxin elsősorban a növényi sejtek megnyúlását, osztódását és differenciálódását szabályozza. Ezeket a sejtszintű hatásait a 2.2. fejezet tárgyalja részleteiben. Az auxinnak a szervek, illetve a növényi szervezet egészének szintjén is a legfontosabb szerepe ezeknek a sejtszintű folyamatoknak a koordinálása, koncentráció függő módon. Ebben nagy jelentősége van az auxin metabolizmusa és transzportja révén kialakuló egyenlőtlen auxin megoszlásnak (auxin grádiensek, maximumok, minimumok; 3.2.7. ábra). Az auxin konkrét funkcióinak a részletes bemutatására a növények vegetatív és reproduktív egyedfejlődési szakaszait tárgyaló fejezetekben kerül sor. Az alábbiakban az irányított növényi növekedési mozgásokban, a tropizmusokban, betöltött szerepét mutatjuk be részletesebben.

3.2.6.1 A tropizmusok

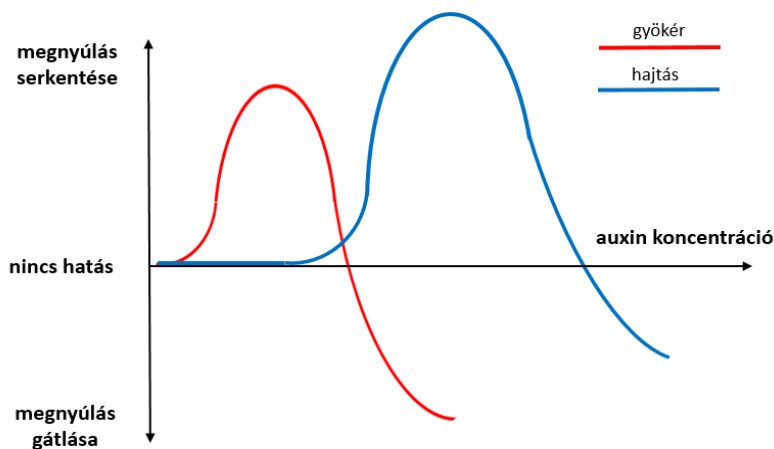
Az auxin egyik jellegzetes hatása a sejtek ill. szervek megnyúlásos növekedésének serkentése/gátlása. Ezen alapulnak az auxin hatás kimutatására alkalmas egyes bioesszék is (zab koleoptil megnyúlásos teszt, gyökér növekedés gátlási tesztek). A megnyúlás mértéke az auxin koncentrációtól és a sejtek (szervek) auxin érzékenységtől függ. A gyökér sejtjei rendkívül érzékenyek az auxinra, így csak extrém alacsony koncentrációban fokozza az auxin a gyökér megnyúlását, magasabb koncentrációban gátolja. A hajtás esetében sokkal magasabb a megnyúlást fokozó auxin koncentráció és csak nagyon magas koncentráció esetében történik gátlás (3.2.9. ábra). Ennek a különbségnek fontos szerepe van a szervek geotropikus ingerre adott válaszában (lásd alább).

Az auxin sejtmegnyúlást szabályozó hatása áll a növények egyirányú inger hatására bekövetkező irányított növekedési mozgásai mögött. Ezek az ún. tropizmusok. Az inger és a növekedés irányának viszonya alapján lehet ez a növekedési válasz pozitív vagy negatív, orto vagy plagitropos. Az inger típusa szerint beszélhetünk foto-, gravi-, termo-, higro-, tigmotropizmusról.

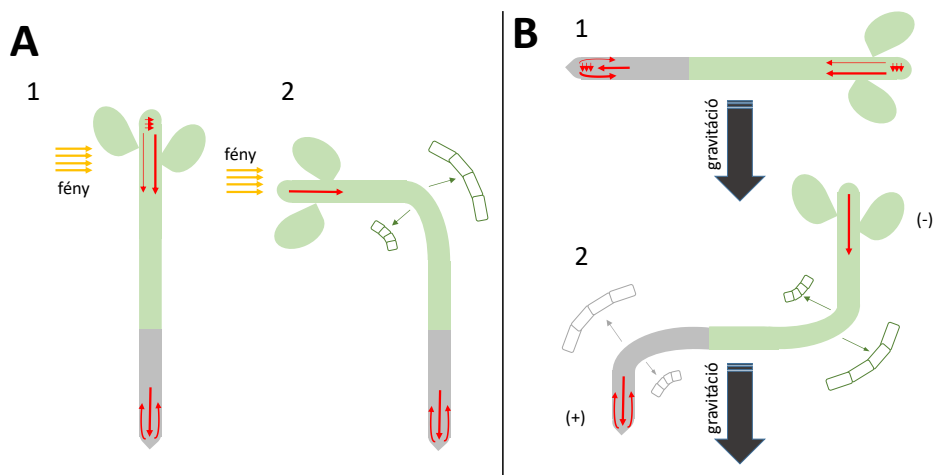
A fototropizmus hatására a növények hajtása az oldalirányból érkező fény felé növekszik (3.2.1. ábra). Ennek a folyamatnak a vizsgálata vezetett el az auxin felfedezéséhez (lásd 3.2.1.). A jelenség röviden a következőképpen magyarázható. A fény felőli oldalon a hajtáscsúcsból a hajtás alapi része felé történő auxin transzport gátlódik. A hajtáscsúcsban belül a transzport az árnyékos oldal felé irányul, ahol az hajtás alapja felé történő auxin áramlás így felerősödik. A hajtás két oldalán egyenlőtlen auxin megoszlás alakul ki, ami eltérően befolyásolja a sejtek megnyúlását: a fény felőli oldalon az alacsony auxin koncentráció mellett a sejtek megnyúlása elmarad, az árnyékos oldalon viszont a megemelkedett auxin szint miatt fokozódik. A két oldalon eltérő mértékű lesz a sejtmegnyúlás, ami a hajtásnak a fényfelé hajlását (görbülését) eredményezi (3.2.10. ábra A).

Érdekes példája az auxin koncentrációfüggő hatásának a hajtás, illetve a gyökér eltérő előjelű gravitropizmusa. A hajtás negatív (a gravistimulussal ellentétes irányú), a gyökér pozitív (a gravistimulussal megegyező irányú) növekedési választ ad, így növekedve a hajtás felfelé, a gyökér lefelé törekszik, ha a növényt az oldalára fektetjük (3.2.10. ábra). A gravitációt a növény speciális sejtjei érzékelik, melyek keményítő tartalmú amiloplasztiszokat (sztatolitokat) tartalmaznak. Ezek a sejtek a gyökér esetében a gyökérsüvegben, a hajtásban a kéreg szövet legbelső rétegében helyezkednek el. Az amiloplasztiszok a nehézségi erő hatására elmozdulva az endoplazmatikus retikulumból Ca^{2+} kiáramlást eredményezve jelátviteli utakat aktiválnak, amelyek ma még nem pontosan ismert módon

megváltoztatják az auxin transzportot: a gravitációs ingertől távolabbi oldalon csökken, a közelebbi oldalon növekszik az auxin koncentrációja és áramlása.



3.2.9. ábra A gyökér és a hajtás megnyúlásos növekedésének auxin koncentráció függése eltér, a két szerv auxin érzékenysége különböző. (Fehér Attila ábrája)



3.2.10. ábra A foto- (A) és gravitropizmus (B) magyarázata a Cholodny-Went hipotézis alapján. 1. Az egyirányú inger (fény ill. gravitáció) hatására az auxin transzport iránya és az auxin megoszlása megváltozik (piros nyilak). 2. A szerv kétoldalán az eltérő auxin koncentráció eltérő mértékű sejtmegnyúlást eredményez, aminek következtében a növekvő szerv elhajlik. A hajtás és a gyökér eltérő irányú (negatív ill. pozitív) gravitropikus válasza a két szerv sejtjeinek eltérő auxin érzékenységére vezethető vissza. A növekedéskorrekció (elhajlás) után az auxin transzport a hajtás ill. a gyökér csúcsban mindkét oldalon visszaáll az eredeti szintre. (Fehér Attila ábrája)

Az egyenlőtlen auxin megoszlás itt is eltérő mértékű sejtmegnyúláshoz vezet a szerv két oldalán, ami a növekedés során görbülést eredményez. Az érdekes az, hogy bár az auxin mind a szár, mind a gyökér esetében a gravitációs ingerhez közelebbi oldalon halmozódik fel, a szár felfelé, a gyökér azonban lefelé fordulva növekszik (10. ábra B). Az eltérő válasz a két szerv különböző auxin érzékenységének

következménye (9. ábra). A gyökér nagyobb auxin érzékenysége ugyanis azt eredményezi, hogy az auxin akkumulációja az alsó oldalon gátolja a sejtek megnyúlását, míg a felső ellentétes oldalon az alacsony koncentráció elegendő a sejtek megnyúlásához, így a gyökér lefelé görbül. Ezzel szemben a szár alacsonyabb auxin érzékenysége következtében az alsó oldalon fokozódik a megnyúlás, míg a felső oldalon az alacsony auxin szint következtében gátolt, így a hajtás felfelé görbül (10. ábra B). A tropizmusok jelentős része magyarázható az auxin egyenlőtlen eloszlását követő egyenlőtlen sejt megnyúlással és az ennek köszönhető egyenlőtlen növekedéssel (Cholodny-Went hipotézis) (24,25; ill. 3.2.10. ábra).

Összefoglalás

1. Az auxinok felfedezése Charles Darwin és fia Francis Darwin kísérleteivel kezdődött, akik a kanáriköles és zab csíranövények fototropizmusát vizsgálták. A magyar Paál Árpád is végzett ezen a területen fontos kísérleteket.
2. A természetben előforduló auxinok az indol-3-ecetsav, illetve annak előanyagai vagy származékai.
3. A legtöbb auxin hatású vegyületek közös jellemzője az aromás gyűrű és az ettől egy hidrofób szakasszal elválasztott karboxilsav. Az aromás gyűrű pozitív és a karboxil csoport negatív töltései közötti távolság teszi lehetővé, hogy ezek a molekulák azonos módon illeszkedjenek az auxin receptorok, transzporterek ún. auxin-kötő zsebébe és ott azonos változásokat idéznek elő. Az aromás gyűrű maga azonban nem feltétele az auxin hatásnak.
4. A mesterséges auxinok szelektív gyomirtó hatással is rendelkeznek.
5. Szinte bármely növényi szerv, illetve szövet képes auxint előállítani. Nagyobb mennyiségben azonban a gyorsan osztódó/növekvő szövetekben képződik, elsősorban a hajtásban. Így elsődleges auxin forrásnak a hajtáscsúcsot, a levélkezdeményeket, fiatal leveleket és fiatal terméseket tekinthetjük.
6. Az auxin szintézisének elő anyaga a triptofán aminosav. A szabad auxin szint szabályozásában a bioszintézis mellett fontos szerepe van az auxin konjugátumoknak és az auxin lebontásának is.
7. Az auxin transzportnak két fő mechanizmusát különböztetjük meg. Az auxin gyors, hosszú távú szállítása a fiatal szervekből a növény többi részébe a floém áramon keresztül valósul meg. Ez a szállítási mód passzív, nem ad lehetőséget az auxin megoszlás szabályozására. A másik szállítási mód a sejtről-sejtre történő, aktív, szabályozott és irányított transzport. Az irányított auxin transzport mechanizmusát az ún. kemiozmotikus modell írja le, aminek alapja az auxin, mint gyenge sav, passzív csapdázódása a sejtek citoplazmájában, valamint különböző auxin transzporter fehérjék együttes működése az auxin aktív transzportjában. A transzport irányát a sejtek membránjában polárisan elhelyezkedő PNOID (PIN) auxin efflux karrier fehérjék szabályozzák meg.
8. Az auxin transzport öngerősítő jellege auxin grádiensek, illetve auxinban gazdag sejtcsoportok (csatornák, maximumok) kialakulását eredményezi. Az auxin egyenlőtlen megoszlása a sejtek/szervek között a növények morfogenezisét (méretét, alakját, szerveinek helyét, számát stb.) alapvetően meghatározza.

9. Az auxin intracelluláris receptorai ubikvitin ligáz fehérje komplexek szubsztrát felismerő komponensei. Funkciójuk auxin jelenlétében az AUX/IAA represszorok lebontásra való kijelölése. Az AUX/IAA represszorok az ARF transzkripció faktorok inhibitorai. Az ARF transzkripció faktorok az auxin válasz gének promóterében fellelhető „auxin response element” (auxRE) kötőhelyekhez kapcsolódnak, auxin hiányában azonban az AUX/IAA fehérjék gátolják működésüket.
10. Az auxinnak a növények fejlődését, fiziológiáját szabályozó szerepe elsősorban a növényi sejtek megnyúlásának, osztódásának és differenciálódásának koordinálása, koncentráció függő módon.
11. A növények egyirányú inger hatására bekövetkező irányított növekedési mozgásai az ún. tropizmusok. A tropizmusok jelentős része magyarázható az ún. Cholodny-Went hipotézissel, melynek lényege, hogy az inger hatására az auxin eloszlás az adott szerv két oldalán megváltozik, az egyenlőtlen auxin megoszlást egyenlőtlen sejt megnyúlás, illetve ennek következményeként egyenlőtlen növekedés (elhajlás) követi.

Ellenőrző kérdések

1. Melyik folyamat tanulmányozása vezetett el az auxin felfedezéséhez és ma a. hogyan magyarázzuk ebben a folyamatban az auxin szerepét?
2. Mi a természetes auxin kémiai neve?
3. Milyen biológiai anyagból tisztítottak elsőként auxin hatású anyagot nagyobb mennyiségben?
4. Mi az auxinok szerkezete és hatása közötti összefüggés?
5. Miért került sor mesterséges auxinok kutatására és előállítására?
6. Hol található az auxin receptora és hogyan továbbítja az auxin jelet a génkifejeződés szabályozása során?
7. Melyik anyagcsere útvonalból ágazik el az auxin bioszintézise?
8. Mi az auxin aminosavakkal, cukrokkal való konjugációjának a funkciója?
9. Mi az auxin kemiozmotikus transzportjának a lényege?
10. Melyik auxin transzporter fehérje határozza meg a sejtről-sejtre történő auxin transzport irányát, és hogyan?
11. Mik az auxin legjellemzőbb biológiai funkciói?
12. Mik azok a tropizmusok, és miért az auxin kapcsán tárgyaljuk ezt a folyamatot?

Megvitatandó kérdések

1. Az auxin hormon, morfogén, vagy mindkettő?
2. Miért fontos az auxin grádiensek kialakulása a növényi egyedfejlődés szempontjából?
3. Az auxin hatásai függnék-e más hormonoktól?
4. Mitől függ egy adott sejt/szerv auxin érzékenysége?
5. Mennyire egyedi az auxin érzékelésének és jelátvitelének mechanizmusa?
6. Használunk-e a mezőgazdasági/kertészeti gyakorlatban auxinokat?

Javaolt irodalom

1. Erdei László (szerk.). Növényélettán – Növekedés - és fejlődésélettán. JATEPress Szeged, Magyarország, 2011.
2. Li J, Li C, Smith SM. (szerk.) Hormone Metabolism and Signaling in Plants. Academic Press; 2017.

Felhasznált irodalom

1. Masuda Y, Kamisaka S. Discovery of Auxin. In: Discoveries in Plant Biology (Internet). Singapore: WORLD SCIENTIFIC; 2000 (idézi 2019. január 14.). o. 43–57. (Discoveries in Plant Biology; köt. Volume 3). Elérhető: https://www.worldscientific.com/doi/abs/10.1142/9789812813503_0003
2. Bell PR. Darwin's Biological Work: Some Aspects Reconsidered. Cambridge University Press; 2011. 369 o.
3. Firn RD. Historical Sketches 19: AUXINS. J Exp Bot. 1986;37(180):1090–2.
4. Enders TA, Strader LC. Auxin activity: past, present, and future. Am J Bot. 2015; 102:180–96.
5. Wildman SG. The auxin-A, B enigma: scientific fraud or scientific ineptitude? Plant Growth Regul. 1997. június 1.;22(1):37–68.
6. Troyer JR. In the beginning: the multiple discovery of the first hormone herbicides. Weed Sci. 2001. április;49(2):290–7.
7. Az Agent Orange – vegyi hadviselés (?) a vietnami háborúban (Internet). Napi történelmi forrás. (idézi 2019. január 16.). Elérhető: http://napitortenelmiforras.blog.hu/2015/07/31/az_agent_orange_vegyi_hadviseles_a_vietnami_haboruban
8. Zhao Y. Auxin Biosynthesis: A Simple Two-Step Pathway Converts Tryptophan to Indole-3-Acetic Acid in Plants. Mol Plant. 2012. március;5(2):334–8.
9. Poulet A, Kriechbaumer V. Bioinformatics Analysis of Phylogeny and Transcription of TAA/YUC Auxin Biosynthetic Genes. Int J Mol Sci (Internet). 2017. augusztus 18. (idézi 2019. január 21.);18(8). Elérhető: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5578179/>
10. Mashiguchi K, Tanaka K, Sakai T, Sugawara S, Kawaide H, Natsume M, és mtsai. The main auxin biosynthesis pathway in Arabidopsis. Proc Natl Acad Sci. 2011. november 8.;108(45):18512–7.
11. Woodward AW, Bartel B. Auxin: regulation, action, and interaction. Ann Bot 95. 2005;707–35.
12. Jiang Z, Li J, Qu L-J. Auxins. In: Hormone Metabolism and Signaling in Plants (Internet). Elsevier; 2017 (idézi 2019. január 3.). o. 39–76. Elérhető: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128115626000025>
13. Ludwig-Müller J. Auxin conjugates: their role for plant development and in the evolution of land plants. J Exp Bot. 2011. március;62(6):1757–73.
14. Yang Y, Xu R, Ma CJ, Vlot AC, Klessig DF, Pichersky E. Inactive methyl indole-3-acetic acid ester can be hydrolyzed and activated by several esterases belonging to the AtMES esterase family of Arabidopsis. Plant Physiol. 2008; 147:1034–45.
15. Vanneste S, Friml J. Auxin: A Trigger for Change in Plant Development. Cell. 2009. március 20.;136(6):1005–16.
16. Bennett T, Hines G, Leyser O. Canalization: what the flux? Trends Genet. 2014. február;30(2):41–8.
17. Paponov IA, Paponov M, Teale W, Menges M, Chakrabortee S, Murray JAH, és mtsai. Comprehensive transcriptome analysis of auxin responses in Arabidopsis. Mol Plant. 2008. március;1(2):321–37.

18. Dharmasiri N, Dharmasiri S, Estelle M. The F-box protein TIR1 is an auxin receptor. *Nature*. 2005. május;435(7041):441–5.
19. Tan X, Calderon-Villalobos LIA, Sharon M, Zheng C, Robinson CV, Estelle M, és mtsai. Mechanism of auxin perception by the TIR1 ubiquitin ligase. *Nature*. 2007. április 5.;446(7136):640–5.
20. Tiwari SB, Hagen G, Guilfoyle TJ. Aux/IAA Proteins Contain a Potent Transcriptional Repression Domain. *Plant Cell*. 2004. február 1.;16(2):533–43.
21. Bargmann BOR, Vanneste S, Krouk G, Nawy T, Efroni I, Shani E, és mtsai. A map of cell type-specific auxin responses. *Mol Syst Biol*. 2013 1.;9(1):688.
22. Kubeš M, Napier R. Non-canonical auxin signalling: fast and curious. *J Exp Bot*. 2019. május 9.;70(10):2609–14.
23. Shi J-H, Yang Z-B. Is ABP1 an Auxin Receptor Yet? *Mol Plant*. 2011. július;4(4):635–40.
24. Went F. Reactions and speculations. *Annu Rev Plant Physiol*. 1974; 25:1–26.
25. Friml J. Auxin transport — shaping the plant. *Curr Opin Plant Biol*. 2003 1.;6(1):7–12.

3.3. Fejezet Citokininek

Írta: Prof. Dr. Fehér Attila

Tanulási célkitűzések:

Tudás

- tudja, hogy mely vegyületeket és miért soroljuk a citokininek közé
- ismeri a citokininek metabolizmusának meghatározó lépéseit
- ismeri a citokininek főbb fiziológiai funkcióit
- érti a citokininek érzékelésének és jelátvitelének lényegét

Képesség

- képes a citokinin hatásainak felismerésére és vizsgálatára

Attitűd

- nyitott a citokinin, mint növényi hormon, mélyebb tanulmányozására,
- nyitott a citokinin, mint növényi hormon, fiziológia hatásainak kísérletes vizsgálatára

Autonómia/felelősség

- önállóan érvel amellyel, hogy a citokininek olyan fontos növényi hormonok, melyek felhasználhatóak a növények növekedésének, fejlődésének, öregedésének szabályozására

3.3.1. A citokininek felfedezése

A citokininek felfedezése, akárcsak az auxiné, a növényélettani kutatások hőskoráig vezethető vissza. Kutatók már a 19. században felvetették, hogy léteznie kell a növényi sejtek osztódását szabályozó növekedési faktornak (1). Gottlieb Haberlandt, a Magyaróváron dolgozó kiváló osztrák botanikus, 1913-ban kísérletileg igazolta, hogy a növények floem nedvében sejtosztódást serkentő anyag van. Egy holland kutató, van Overbeek 1941-ben a nukleotidokban gazdag kókusztej embriófejlődést serkentő hatását írta le. Folke Skoog amerikai kutató és munkatársai olyan vegyületeket kerestek, amelyek auxin jelenlétében fokozták a dohány sejtek osztódását (citokinezisét). van Overbeek közleménye vezette őket arra, hogy növényi kivonatok mellett a tisztított dezoxiribonukleinsav (DNS) hatását is teszteljék kísérleti rendszerükben. 1955-ben számoltak be arról, hogy autoklávozott hering sperma DNS-ből sikeresen tisztítottak egy olyan anyagot, ami hatékonyan serkentette dohány kallusz tenyészetekben a növényi sejtek osztódását. Ezt a vegyületet, amely a DNS degradációjának terméke, kinetin-nek nevezték el (2). Vagyis, az auxinhoz hasonlóan, az első citokinin hatású vegyületet sem növényekből tisztították. Az első természetes növényi citokint kukorica endospermiumából tisztította Carlos O. Miller (3). Ez a „kinetin-szerű” vegyület később *transz*-zeatinként került meghatározásra.

3.3.2. A citokininek fogalma és szerkezete

Ma a zeatin mellett számos mesterséges és természetes citokinin hatású, a növényi sejtek osztódását serkentő, molekula ismert. A citokininek gyűjtőnév alatt olyan vegyületeket értünk, melyek:

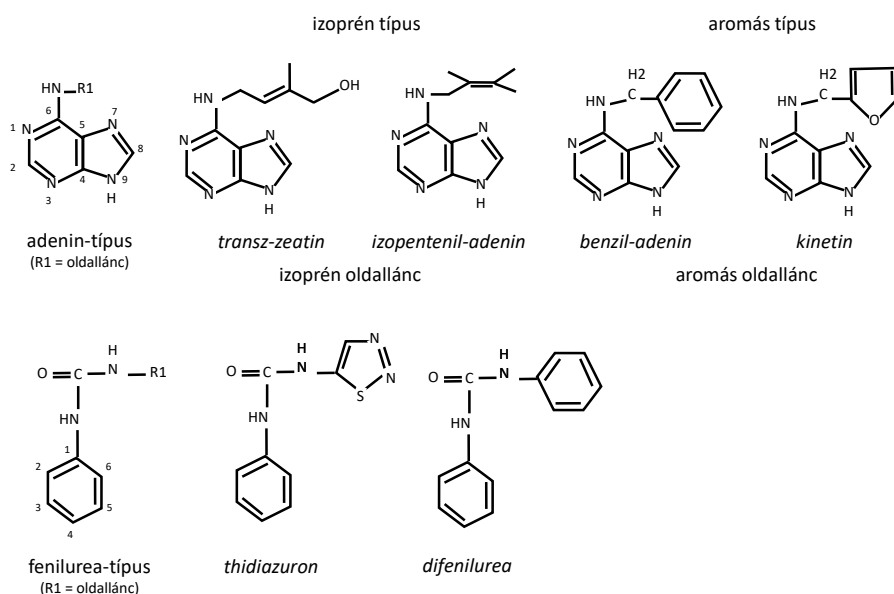
- többnyire purinvázzal rendelkeznek
- növényekben sejtosztódást indukálnak
- auxin jelenlétében fenntartják a kallusztényészetek növekedését

A definíció is jelzi, hogy bár a citokininek funkciói hasonlóak, szerkezetük változatos lehet. Szerkezetileg négy csoportba sorolhatóak:

- purin származékok,

- módosított (aza- ill. deaza-) purin származékok,
- urea származékok,
- aminopiridin vegyületek,

A természetes citokininek a legtöbb növényben N⁶-szubsztituált adenin származékok melyek izoprenoid (izopentenil) vagy aromás (benzil vagy hidroxibenzil) oldalláncal rendelkeznek (3.3.1. ábra). Előbbi csoportba tartozik az N⁶-(Δ^2 -izopentenil)-adenin (2-iP vagy iPA) illetve a zeatin, a másodikba a kinetin, a N⁶-benzil adenin (6-BA), és a topolin. Az aromás citokininek általában az izoprenoid típusúakénál jóval kisebb mennyiségben mutathatók ki növényi szövetekből.



3.3.1. ábra A citokininek főbb típusai és szerkezetük (Fehér Attila ábrája)

A természetes citokininek hatásának alapja a purinváz, annak módosításai a citokinin sejtosztódást serkentő hatását nagyságrendekkel csökkentik. A nem-purin típusú citokininek (3.3.1. ábra) biológiai aktivitása általában alacsony (pl. difenil urea), azonban bizonyos származékaik (pl. thidiazuron) a zeatinéhoz hasonló vagy akár magasabb aktivitással is rendelkezhetnek.

A citokininek biológiai hatása általában zsírolékonyságukkal, mely elsősorban az oldalláncaiktól függ, arányosan növekszik. A citokinin receptorok a citokininek szerkezet-hatás vizsgálatának eredményeivel összhangban kötőhelyükön egy purinvázat és egy az oldalláncot befogadó felszínnel rendelkeznek. Az aktív citokininek aromás gyűrűrendszere lép kölcsönhatásba a purin-kötő felszínnel, amiben a purin gyűrű 3. pozíciójában elhelyezkedő N atom fontos szerepet játszik. Az urea-típusú citokininek esetében a piridil csoport N-je foglalja el ezt a helyet.

3.3.3. A citokininek metabolizmusa

A citokininek általában szabad bázisként vagy konjugált (ribotid, ribozid, glükózid vagy aminosav konjugátum) formában fordulnak elő a növényekben. Általában a szabad bázis a biológiailag aktív forma, a konjugátumok pedig citokinin raktárként funkcionálnak. Bizonyos növényekben/szervekben vannak azonban olyan citokinin receptorok is, melyek a konjugált formákra érzékenyek (4).

Az izoprenoid típusú citokininek bioszintézisének kiinduló anyagai az elsődleges anyagcsere termékeiként szintetizálódó purin váz, illetve izoprenoid oldallánc (3.3.2. ábra). A szintézis során a Δ^2 -izopentenil pirofoszfát izopentenil csoportja kapcsolódik az adenzin monofoszfátra (3.3.2. ábra). A reakciót egy Δ^2 -izopenteniltranszferáz (IPT) enzim, a citokinin szintáz katalizálja. A reakció terméke az izopentenil-adenin-ribotid, amely tovább alakul izopentenil-adeninné illetve zeatinná.

Az Arabidopsis genom kilenc citokinin szintáz enzimet kódol. A citokinin szintáz (*ipt*) gének szerv/szövet specifikus kifejeződést mutatnak, ami a lokális citokinin szintézis transzkripció szintű szabályozására utal. Citokinin szinte minden szervben szintetizálódik, de jelentős mennyiségben a gyökérben képződik. A gyökérben képződött citokinin főként zeatin-ribozid formában jut el a xilémnedvben a hajtásba, míg a floemben izopentenil-adenin formában szállítódik a hajtásból a gyökér felé. A citokininnek sejtmembránon való átjutását purin permeázok, nukleozid transzporterek és ABC-típusú transzporterek segítik.



3.3.2. ábra A természetben leggyakrabban előforduló citokininnek (iPA, ZEA, DHZ) bioszintézisének vázlata. (Fehér Attila ábrája)

Citokinin oxidázok (CKX) az N⁶ oldalláncot lehasítva irreverzibilisen inaktíválják a citokinineket (5). Szinte minden szövetben kifejeződnek, hozzájárulnak a megfelelő citokinin szint fenntartásához. Egyes szintetikus citokinineket (pl. BA) nem tudnak hasítani, mások (pl. urea származékok) gátolják az aktivitásukat. Az auxin serkenti a citokinin oxidáz gének kifejeződését.

3.3.4. A citokininek érzékelése és jelátvittele

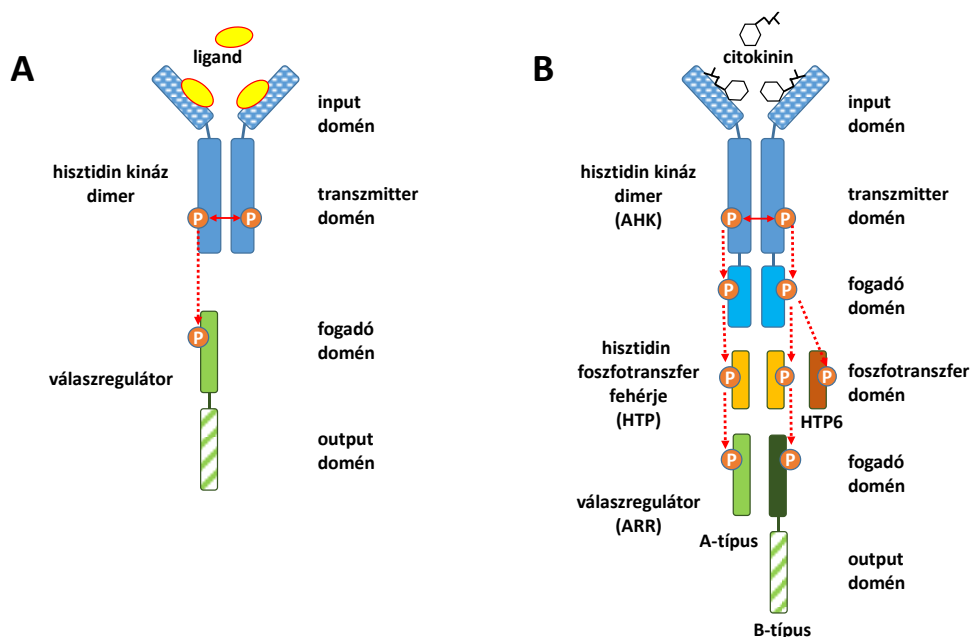
A citokininek érzékelésének mechanizmusa a bakteriális két-komponens rendszerhez hasonló. Ez a prokariótákban elterjedt jelátviteli rendszer alap formájában két fehérjét foglal magába: egy hisztidin kinázt és egy válaszregulátort (3.3.3. ábra A). A hisztidin kináz két fontos doménnel rendelkezik: egy input és egy transzmitter doménnel. Az input domén felelős a szignálérzékelésért, amit a transzmitter domén autofoszforilációja követ. Az autofoszforiláció egy hisztidin aminosavon történik. A válaszregulátor szintén két domént tartalmaz: egy fogadó (receiver) és egy szabályozó (output) domént. Az aktivált hisztidin kináz hisztidinjéről a foszforil csoport átadásra kerül a válaszregulátor egy aszpartát csoportjára (foszfortranszfer reakció). Ez aktiválja az output domént, ami továbbítja a jelet. Az esetek nagy részében ez a gén kifejeződésének a megváltoztatását jelenti, ekkor tehát a válaszregulátor transzkripció faktoraként működik. Ez az ún. alap két-komponens rendszer csak prokariótákban létezik, de egy bonyolultabb több lépéses változata előfordul prokarióták mellett élesztőkben és növényekben is (állatokban nem).

A növényekben is megtalálható „két-komponens” rendszer valójában három komponenst tartalmaz és a receptor hisztidin kináz sem két, hanem három doménnel rendelkezik (3.3.3. ábra B). A hisztidin kináz ugyanis egy fogadó (receiver) domént is tartalmaz, amelynek aszpartátja az autofoszforilációt követően átveszi a foszforil csoportot a hisztidintől. Innen pedig nem közvetlenül, hanem az ún. hisztidin foszfortranszfer fehérjék közvetítésével kerül át a foszfát a válaszregulátor fogadó doménjére.

Az Arabidopsis genomja 11 feltételezett hisztidin kinázt (AHK), 5 hisztidin foszfortranszfer fehérjét (AHP), és 23 válaszregulátort (ARR) kódol. A hisztidin kinázok közül három (AHK2,3,4), az összes AHP és a legtöbb ARR részt vesz a citokinin jelátvitelben (6). A három citokinin receptor hisztidin kináz (AHK) transzmembrán fehérje és az endoplazmatikus retikulum membránba vannak beágyazódva (lásd 3.1.3.). Van egy negyedik hasonló hisztidin kináz (CITOKININ INSZENZITÍV 1, CKI1), amely aktiválja a

citokinin jelátvitelt, de érdekes módon a ligandkötő doménje nem képes citokininint kötni, így máig ismeretlen módon aktiválódik és citokinin-független módon működik (7).

A válaszregulátoroknak (jelük angol nevük alapján: ARR) növényekben két típusuk létezik. A B-típusú ARR válaszregulátorok gének kifejeződését szabályozó transzkripció aktivátorok, az A-típusúak viszont a citokinin jelátvitelt gátló represszorok. Ez egyfajta kompetitív gátlást jelent: az A-típusú ARR azzal, hogy átveszi a foszforcsoportot a hisztidin transzfer fehérjétől megakadályozza a B-típusú ARR aktiválódását (6). Érdekes módon, az A-típusú ARR gének citokinin aktiváltak, azaz a citokinin negatív visszacsatolással szabályozza saját jelátvitelét. A hisztidin transzfer fehérjék (jelük HTP) közvetítik az endoplazmatikus retikulum membránban aktiválódó receptor hisztidin kináztól (AHK) a jelet a sejtmagban található ARR válaszregulátorok felé. Ezen a szinten is működik egy represszor: a HTP6 fehérje képes a jelet átvinni a hisztidin kinázoktól, de azt nem továbbítja tovább a sejtmagba, blokkolva ezzel a jelátvitelt.



3.3.3. ábra A prokarióta „két-komponens” jelátviteli rendszer (A) és a citokinin jelátvitelben szerepet játszó több lépéses változata (B). A piros nyilak autofoszforilációt (kináz reakció), a szaggatott piros nyilak foszforilcsoport átadást (foszotranszfer) jelölnek. Csak a B-típusú válaszregulátor aktiválása eredményez génaktivitást, az A-típusú ARR, illetve a HTP6 hisztidin foszotranszfer fehérje kompetitíven blokkolja a jelátvitelt. (Fehér Attila ábrája)

3.3.5. A citokininek biológiai funkciói

A citokininek számos fejlődési és fiziológiai folyamat szabályozásában részt vesznek, a többi hormonnal, elsősorban az auxinnal, kölcsönhatásban. A citokininek legjellegzetesebb szerepe a sejtosztódások serkentése, amelyért az auxinnal együttesen felelősek. Ennek részleteit a 2.2.3. fejezet tárgyalja. Ha egy növényi szerv darabot (explantumot) olyan mesterséges táptalajra helyezünk, amely a két hormont kiengyensúlyozott arányban tartalmazza, akkor az explantum sejtjei osztódni kezdenek és egy folytonosan osztódó szövet (kallusz) képződik, amely a két hormon jelenlétében hosszan fenntartható, szaporítható. Ebben a két hormon tehát együttműködik. A két hormon hatása azonban ellentétes a szervek differenciálódására: ha a kallusz tenyészet táptalajában az auxin mennyiségét megnöveljük a citokininét pedig nem, akkor gyökerek differenciálódása indul meg, míg, ha a citokinin mennyiségét növeljük az auxinét nem, akkor hajtások regenerálódnak. Ez összefügg a két hormonnak az embriogenezis során a hajtás- illetve a gyökér merisztéma kialakításában betöltött szerepével: a

gyökérmerisztéma egy lokális auxin felhalmozódás eredményeként alakul ki az embrió bazális régiójában, míg a hajtásmerisztéma az auxinban gazdag sziklevél kezdemények közötti auxinszegény, és citokininben gazdag régiójában alakul ki. A gyökérmerisztéma későbbi fenntartásában és működésében is fontos az auxin magas szintje, míg a hajtás merisztéma esetében a citokininről mondható el ez. Ellentétes a két hormon hatása a hajtás elágazódására: a hajtáscsúcsban szintetizálódó és a gyökér felé transzportálódó auxin gátolja az oldalrügyek kihajtását (ez az ún. apikális dominancia jelensége), míg a citokinin serkenti azt. A citokinin és az auxin együttesen, de egymás funkcióit kölcsönösen gátolva, felelősek a szállítószövetek differenciálódásáért: a citokinin a floem, az auxin a xilem fejlődésért felelős (8).

A növény öregedési folyamatait a citokinek és az auxinok is gátolják. Citokinin alkalmazásával a szenescencia folyamatai a sejtek elhalását megelőzően még visszafordíthatóak. Ebben jelentős szerepe van a citokininnek tápanyagforgalmat szabályozó hatásának. A magas citokinin tartalmú sejtek tápanyagfelhalmozó (gyűjtő, idegen szóval „sink”) aktivitásúak. Így külső citokinin kezeléssel megakadályozható, hogy az öregedő sejtekből/szervekből a tápanyagok a fiatalabb szervek felé áramoljanak. Ehhez kapcsolódva, a citokininnek a nitrogén anyagcsere fontos szabályozói is. Erre utal, hogy a magas nitrogén, illetve a magas citokinin szintek hatására aktiválódó gének nagymértékben átfednek (9). A citokinin, a növény nitrogén szintjével összhangban szabályozza a nitrát transzporter gének kifejeződését is. A gyökér citokinin termelése a gyökér számára rendelkezésre álló a talajból felvehető nitrogén függvénye. Ez meghatározza, hogy a gyökérből mennyi citokinin képes a hajtásba transzportálódni. A hajtásba jutó citokinin mennyisége pedig befolyásolja a hajtás nitrogén anyagcseréjét és fejlődését (pl. növekedési ütem, elágazódás stb.). A citokinin tehát a növény nitrogén ellátottságával kapcsolatos hírvivő és koordináló szerepet tölt be a gyökér és a hajtás között. A citokinek a foszfát és a kén anyagcsere szabályozásában is részt vesznek (9).

A citokininnek, mint a sejtosztódás pozitív szabályozói fontos szerepet töltenek be a szervek fejlődésében, így a mag, illetve termés fejlődés korai, növekedési szakaszában (10), illetve a csírázás során.

A citokininnek ezenkívül számos környezeti (abiotikus, illetve biotikus) hatásra adott növényi válaszban is részt vesznek (9).

A citokininnek növényekben betöltött szerepét jól demonstrálják azok a megfigyelések, amelyeket citokinin oxidáz túltermelő transzgenikus dohány és lúdfű növényekkel végeztek (11), (12). Ezek a növények kisebb hajtásmerisztémával és kisebb méretű hajtással rendelkeznek, viszont a gyökér merisztémájuk és a gyökérzetük nagyobb, ami arra utal, hogy a citokininnek a gyökérfejlődést negatívan szabályozzák.

Összefoglalás

1. A citokininek gyűjtőnév alatt olyan vegyületeket értünk, melyek többnyire purinvázzal rendelkeznek és a növényekben sejtosztódást indukálnak és tartanak fenn (auxinnal együtt).
2. A természetes citokininek a legtöbb növényben N⁶-szubsztituált adenin származékok melyek izoprenoid vagy aromás oldalláncal rendelkeznek.
3. A citokininek szabad bázisként vagy konjugált (ribotid, ribozid, glükozid vagy aminosav konjugátum) formában fordulnak elő a növényekben. Általában a szabad bázis a biológiailag aktív forma.
4. A legelterjedtebb izoprenoid citokininek bioszintézise során a Δ^2 -izopentenil pirofoszfát izopentenil csoportja kapcsolódik az adenzin monofoszfátra, amit a citokinin szintáz enzim katalizál.
5. A citokininek jelentős mennyiségben szintetizálódnak a gyökérben, de a növényben szinte bárhol termelődhetnek.
6. A citokininek hosszútávú transzportja a xilem, illetve a floem áramban történik.
7. Citokinin oxidázok hozzájárulnak a megfelelő citokinin szint lokális fenntartásához.
8. A citokininek érzékelésének mechanizmusa a bakteriális „két-komponens” rendszerhez hasonló. Elemei: receptor hisztidin kinázok (endoplazmatikus retikulum membrán); hisztidin foszfortranszfer fehérjék (citoplazma); válaszregulátorok (sejtmag). A jelátvitel a hisztidin kinázok autofoszforylációját követően a foszforil csoport hisztidin és aszpartát aminosavak közötti átadásával valósul meg (foszfortranszfer). A válaszregulátorok egyik típusa (B) transzkripció aktivátor, a másik (A) a citokinin jelátvitelt gátolja. A citokinin jelátvitel negatív visszacsatolással szabályozza önmagát (az A-típusú válaszregulátor gének citokinin függő kifejeződése révén).
9. A citokininek legfontosabb funkcióit az alábbiakban foglalhatjuk össze:
 - Sejtosztódás, differenciálódás szabályozása
 - Organogenezis (szervfejlődés) szabályozása (hajtás pozitív, gyökér negatív)
 - Szabályozzák a gyökér tápanyagfelvételét
 - Jelzik a növény N-ellátottságát (gyökér-hajtás kommunikáció)
 - Késleltetik az öregedést
 - Tápanyageloszlásban a sink (gyűjtő) erősségét növelik
 - Serkentik a gyümölcs és magfejlődést
 - Részt vesznek környezeti hatásokra adott növényi válaszokban

Ellenőrző kérdések

1. Milyen típusú, szerkezetű és funkciójú molekulákat tekintünk citokinineknek?
2. Mi határozza meg egy adott szervben a citokininek szintjét?
3. A citokinek és az auxinok mindig azonos hatásúak?
4. Hol helyezkedik el a citokininek receptora?
5. Mik a citokinin jelátvitel főbb lépései?
6. Hogyan befolyásolja a citokinin a növények öregedését?
7. A citokinin serkenti vagy gátolja a gyökérfejlődést?

8. Mit jelent az, hogy a citokinin növeli a szervek „sink” erősségét?
9. Mi a citokinin szerepe a növény nitrogén háztartásához kapcsolódóan?

Megvitatandó kérdések

1. Hogyan tudja befolyásolni egymás jelátvitelét az auxin és a citokinin?
2. Hogyan lehetséges, hogy a citokinin pozitívan szabályozza a hajtás, de negatívan a gyökérmerisztéma funkcióját?
3. Milyen pozitív hatások érhetők el a növények fejlődésében a citokinin szint befolyásolásával?
4. Mik a citokininnek kertészeti/mezőgazdasági felhasználásának lehetőségei?

Javasolt irodalom

1. Erdei László (szerk.). Növényélettan – Növekedés - és fejlődésélettan. JATEPress Szeged, Magyarország, 2011.
2. J. J. Kieber és G. E. Schaller, „Cytokinin signaling in plant development”, *Development*, köt. 145, sz. 4, o. dev149344, febr. 2018. doi: 10.1242/dev.149344

Felhasznált irodalom

1. C.-M. Chen, „The Discovery of Cytokinins”, in *Discoveries in Plant Biology*, köt. Volume 1, 0 köt., S.-D. Kung és S.-F. Yang, Szerk. WORLD SCIENTIFIC, 1998, o. 1–15.
2. C. O. Miller, F. Skoog, M. H. Von Saltza, és F. M. Strong, „Kinetin, a cell division factor from deoxyribonucleic acid”, *J. Am. Chem. Soc.*, köt. 77, sz. 5, o. 1392–1392, 0 1955.
3. C. O. Miller 1961, „A kinetin-like compound in maize”, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, köt. 47, o. 170–174.
4. J. Feng, Y. Shi, S. Yang, és J. Zuo, „Cytokinins”, in *Hormone Metabolism and Signaling in Plants*, J. Li, C. Li, és S. M. Smith, Szerk. Academic Press, 2017, o. 77–106.
5. D. J. Armstrong, *Cytokinin oxidase and the regulation of cytokinin degradation*. Cytokinins: Chemistry, Activity, and Function. CRC Press, Boca Raton, 1994.
6. T. Kakimoto, „Perception and signal transduction of cytokinins”, *Annu. Rev. Plant Biol*, 2003.
7. T. Kakimoto, „CKI1, a histidine kinase homolog implicated in cytokinin signal transduction”, *Science*, köt. 274, o. 982–985, 1996.
- A. Bishopp, H. Help, és S. El-Showk, „A mutually inhibitory interaction between auxin and cytokinin specifies vascular pattern in roots”, *Curr. Biol*, köt. 21, o. 917–926.
- B. T. Argueso, F. J. Ferreira, és J. J. Kieber, „Environmental perception avenues: the interaction of cytokinin and environmental response pathways”, *Plant, Cell & Environment*, köt. 32, sz. 9, o. 1147–1160, 2009.
8. P. E. Jameson és J. Song, „Cytokinin: a key driver of seed yield”, *J. Exp. Bot.*, köt. 67, sz. 3, o. 593–606, febr. 2016.
9. T. Werner, V. Motyka, V. Laucou, R. Smets, H. Van Onckelen, és T. Schmülling, „Cytokinin-deficient transgenic Arabidopsis plants show multiple developmental alterations indicating opposite functions of cytokinins in the regulation of shoot and root meristem activity”, *Plant Cell*, köt. 15, o. 2532–2550, 2003.

10. T. Werner, V. Motyka, M. Strnad, és T. Schmülling, „Regulation of plant growth by cytokinin”, PNAS, köt. 98, sz. 18, o. 10487–10492, aug. 2001.
11. J. J. Kieber és G. E. Schaller, „Cytokinin signaling in plant development”, Development, köt. 145, sz. 4, o. dev149344, febr. 2018.

3.4. Fejezet. Gibberellinek

Írta: Prof. Dr. Fehér Attila

Tanulási célkitűzések:

Tudás

- tudja, hogy mik azok a gibberellinek
- ismeri a gibberellinek bioszintézisének meghatározó folyamatait
- össze tudja hasonlítani az auxinok és a gibberellinek jelátvitelét és fiziológiai funkcióit
- ismeri a gibberellinek szerepét a növények növekedésének és fejlődésének szabályozásában

Képesség

- képes a gibberellinek hatásainak felismerésére és vizsgálatára

Attitűd

- nyitott a gibberellin, mint növényi hormon, mélyebb tanulmányozására,
- nyitott a gibberellin, mint növényi hormon, fiziológia hatásainak kísérletes vizsgálatára

Autonómia/felelősség

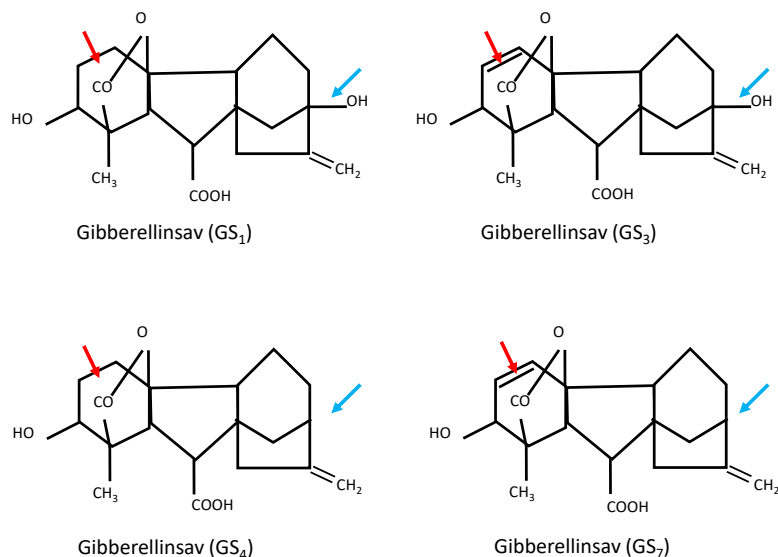
- önállóan érvel amellett, hogy a gibberellinek olyan fontos növényi hormonok, melyek felhasználhatók a növényi növekedés és fejlődés célzott befolyásolására

3.4.1. A gibberellinek és felfedezésük

A gibberellinek felfedezése visszavezethető egészen 1809-ig. Ekkor mondta ugyanis tollba egy félanalabéta japán farmer növénytermesztési tapasztalatait, melynek során leírta a rizs „bolond növény” (bakanae) betegségének tüneteit is (1). Ezeknek a növényeknek a hajtása rendkívül magasra kinyúlik a többi növény fölé, a szár internódiumai és a levelek is rendkívül hosszúak. A leveleknek a szárral bezárt szöge nagy, a növény sárgás színű és korán virágzik. Az 1900-as évek elején japán kutatók felvetették, hogy a tünetek egy gomba, a *Fusarium moniliforme* (konídiumos alakja a *Gibberella fujikuroi*) fertőzésére vezethetők vissza. Eichii Kurosawa 1926-ban igazolta, hogy ennek a gombának a toxinja okozza a növényeken a tüneteket (2). 1935-ben sikerült Teijiro Yabuta professzornak a hatóanyagot kitisztítani (3). Mivel a hatóanyag forrása a *Gibberella* gomba volt, a gombaszűrletből kristályosított két anyagot gibberellinA-nak és gibberellinB-nek nevezték el. A kémiai szerkezet meghatározására az 1950-es évekig kellett várni, amikor is kiderült, hogy a gibberellinA hatóanyag legalább három anyag keveréke volt, ezeket gibberellin A₁, gibberellin A₂, gibberellin A₃ névvel illették (a gibberellinB természete máig ismeretlen). Ez a nevezéktan fennmaradt; a gibberellineket konkrét kémiai nevük helyett sorszámokkal jelöljük (lásd alább). A kutatók feltételezték, hogy ez a növekedés szabályozó anyag növényekben is előfordul. Ezt 1958-ban sikerült igazolni éretlen babszemből tisztítva a vegyületet (4). A gibberellinek fiziológiai hatása részben átfed az auxinéval: serkenti a szár megnyúlását, erősíti az apikális dominanciát, serkenti a termésképzést és a partenokarpiát. Ráadásul, több növényben kimutatták, hogy pozitívan befolyásolja az auxin szintet. Ezek alapján sokáig nem tartották önálló hormonnak, hanem úgy vélték, hogy az auxinon keresztül hat a növények növekedésére és fejlődésére. Később azonban számos olyan specifikus gibberellin hatást igazoltak, ami alapján önálló növényi hormon státuszt nyert (5). Ennek helyességét a molekuláris genetika igazolta.

A gibberellinek egy nagy molekula család tagjai: ma 136 gibberellin molekulát ismerünk, de csak néhányuk rendelkezik hormon aktivitással. A gibberellineket a GA rövidítésével és számmal jelöljük: GA₁ ...GA₁₃₆ (lásd fentebb). A biológiailag legaktívabb molekulák jele GA₁, GA₃, GA₄ és GA₇.

A gibberellinek tetraciklikus diterpének, melyeknek az alapszerkezetét az ún. ent-gibberellán váz adja. Ehhez a vázhoz különböző csoportok (hidroxil, karboxil, metil, metilén, lakton gyűrű) kapcsolódhatnak (3.4.1 ábra). A gibberellineket 20- és 19-szénatomos molekulák csoportjára oszthatjuk. A biológiailag aktív gibberellinek 19 szénatomosak.



3.4.1. Ábra A biológiailag aktív gibberellinek szerkezete. A nyilak az eltéréseket jelzik. (Fehér Attila ábrája)

3.4.2. A gibberellinek szintjét befolyásoló folyamatok

A gibberellinek, mint diterpének, az izoprenoidok közé tartoznak, így szintézisük az izopentenil-pirofoszfátból indul ki, de a közvetlen prekürzornak a geranilgeranil-pirofoszfát tekinthető, ami még nem ciklusos molekula és a diterpének szintézisének közös kiinduló pontja. A szintézis útvonal három fázisra tagolható, melyek három különböző sejtkompartimentumban zajlanak le (3.4.2. ábra) (6), (7).

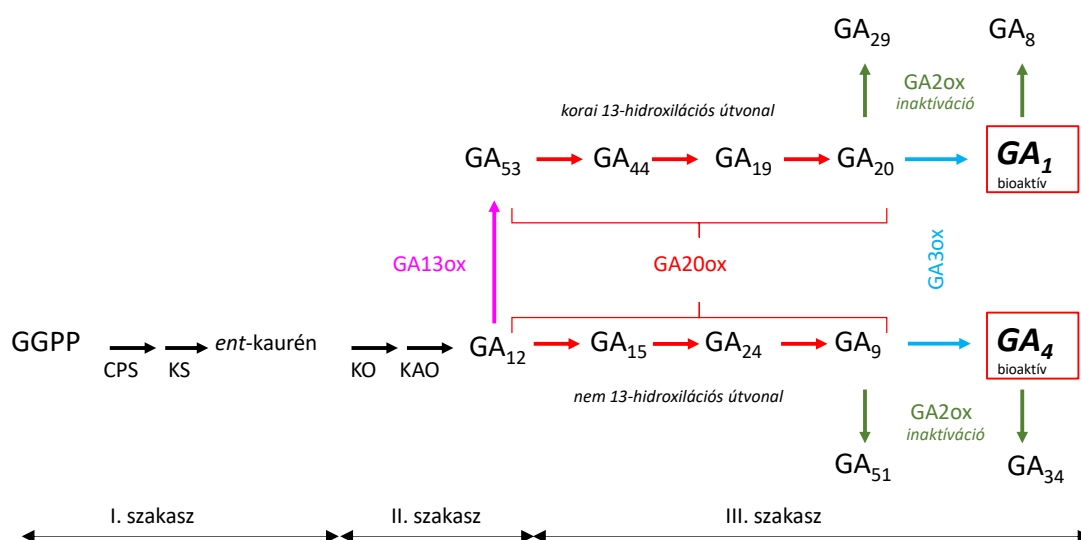
Az első fázis a geranilgeranil-pirofoszfát ent-kauréné alakítása a proplasztiszokban zajlik. Ez két lépésben megy végbe: először az A és a B gyűrű záródik és kopalil-pirofoszfát (KPP) jön létre, majd a C és D gyűrű zárulásával kialakul az *ent*-kaurén (EK) váz. A két reakciót az ent-kopalil difoszfát (ent-CDP) szintáz (CPS) illetve az ent-kaurén szintáz (KS) enzimek katalizálják. Arabidopsisban a CPS enzimet a *GA1* gén kódolja. A gibberellin hiányt okozó *ga1* mutáció fontos szerepet töltött be a gibberellinek funkcióinak feltárásában.

A gibberellin szintézis második szakaszában az ent-kaurén oxidáció révén gibberellinaldehid₁₂-vé (GA₁₂) alakul (3.4.2. ábra). Ezt az átalakulást mikroszomális citokróm P450-függő monooxygenázok katalizálják három lépésben. Arabidopsis mindhárom lépést ugyanaz az enzim, az *ent*-kaurén oxidáz végzi (a *GA3* gén kódolja).

A harmadik, végső szakaszban szintetizálódnak meg a fajra jellemző változatos gibberellinek. Ezeket a oxidációs/hidroxilációs reakciókat a citoszolban található 2-oxoglutarát-függő dioxigenázok végzik (GA 20-oxidázok (GA20ox) és GA 3-oxidázok (GA3ox)). Két párhuzamos útvonalat különíthetünk el attól függően, hogy a 13-as pozícióban hidroxilálódik-e a gibberellán váz (korai 13-hidroxilációs út) vagy sem. Az előbbi vezet pl. a GA₄, utóbbi a GA₁ aktív gibberellinek szintéziséhez. A GA20ox enzimek felelősek a

20 szénatomos gibberellinek 19 szénatomossá alakításáért. Az inaktív gibberellin formák biológiailag aktív formává alakítását pedig a 3 β -hidroxilációt katalizáló GA3ox enzimek végzik.

A gibberellinek nagy száma az oxidációs/hidroxilációs reakciók sokféleségének a következménye. A legtöbb növényben a GA₁ tűnik a meghatározó hormonnak, a többi gibberellin GA₁-vá alakulva fejthet ki biológiai hatást. Arabidopsisban azonban a GA₄ lehet a domináns hormon.



3.4.2. ábra A gibberellinek (GA) bioszintézisének és inaktivációjának egyszerűsített vázlata. GGPP – geranigeranil pirofoszfát; CPS - ent-kopalil difoszfát szintáz; KS - *ent*-kaurén szintáz; KO - *ent*-kaurén oxidáz; KAO - *ent*-kaurénsav oxidáz; GA₁₂ - gibberellinaldehyd₁₂; ox- oxidáz. A különböző oxidáz családok által katalizált reakciókat különböző színek jelzik. (Fehér Attila ábrája)

A bioszintézis meghatározó lépései, amelyek a gibberellin szint szabályozásában fontos szerepet játszanak: az ent-kopalil-difoszfát szintáz által katalizált ciklizációs reakció, valamint a 20-as szénatom lépcsőzetes oxidációja (C19-es gibberellinek szintézise), amit a GA20ox enzimek katalizálnak. A ciklizációs reakcióban résztvevő enzimek génjeinek kifejeződése az intenzíven növekvő szövetekben jelentősen megemelkedik. A gibberellin szintéziséért felelős több GA20ox és GA3ox enzim génjének expresszióját a gibberellin kezelés csökkenti, ami feedback gátlásra utal (az aktív gibberellin egy adott szintet meghaladva gátolja saját szintézisét). A gibberellinsav szintézisét környezeti hatások pl. fény hőmérséklet) és más hormonok (pl. abszcizinsav) is befolyásolják a résztvevő gének expressziójának szabályozásán keresztül.

A bioszintézis főbb helyei magasabbrendű növényekben a a hajtáscsúcs levélkezdeményei, fiatal levelei, a gyökércsúcs, a fejlődő gyümölcs, valamint a magvak.

A gibberellinek szintézisét számos ponton lehet gátolni. Az első szakasz reakcióit gátolja pl. a Phosphon D, a másodikat a paklobutrazol, a harmadikat a ciklohexándion, -trion és származékaik. Ezeket a vegyületeket növekedés/fejlődés gátló (retardáns) hatásuk miatt széleskörben alkalmazzák kertészeti, mezőgazdasági kultúrákban.

A gibberellinek inaktivációja elsősorban 2 β -hidroxilációval történik. Ezt GA 2-oxidase (GA2ox) enzimek végzik, melyek a bioszintézisben résztvevőkhöz hasonló 2-oxoglutarát-függő dioxigenázok. A 2 β -hidroxilált gibberellinek inaktívak. A reakció valószínűleg irreverzibilis.

A gibberellinek is előfordulhatnak szabad, valamint kötött formában is a növényekben. Ezek közül a gibberellin glükozil észterek átmeneti raktározott formának tekinthetők, belőlük aktív hormon szabadulhat fel.

A gibberellinek mind a xilém, mind a floém nedvből kimutathatók, hosszútávú transzportjuk itt történik. A sejtről-sejtre történő rövidtávú terjedésük feltehetően nem passzívan, hanem nitrát/peptid transzporterek segítségével valósul meg.

3.4.3. A gibberellinek érzékelése és jelátvittele

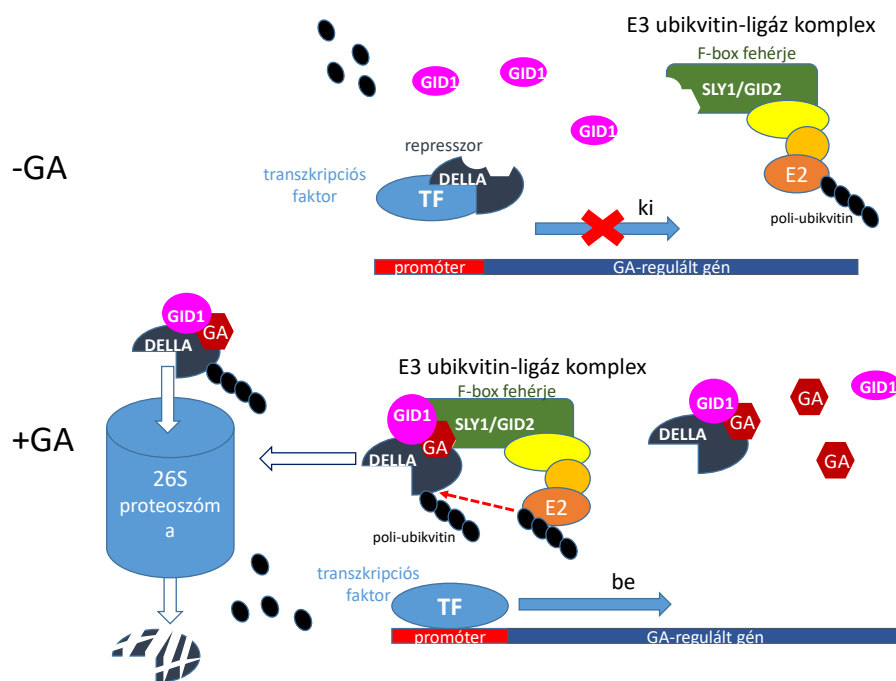
A gibberellinek érzékelése és jelátvittele az auxinéhoz hasonlóan gátlás megszüntetésén alapul (de-repressziós mechanizmusú) (3.4.3. ábra) (8). A bioaktív gibberellinek a sejtmagi DELLA transzkripciós represszorok lebontását serkentik, lehetővé téve a DELLA fehérjék által gátolt transzkripciós faktorok működését. A GA-jelet a GIBBERELLIN INSENSITIVE DWARF1 (GID1) fehérje érzékeli, amely a GA hatására konformáció változáson esik át és köti a DELLA represszort. A kialakuló GA-GID1-DELLA komplexet felismeri egy F-boksz fehérje (Arabidopsisban ez a SLEEPY1 (SLY1), rizsben a GID2) ami az E3-ubikvitin-ligáz komplex szubsztrát felismerő komponense. A DELLA fehérjét az E3 komplex ubikvitin láncsal megjelöli, a proteasóma pedig az így megjelölt fehérjét lebontja.

A GA jelátvitel központi elemei az evolúciósan konzervált, minden növényben fellelhető DELLA fehérjék, melyek két jellegzetes doménnel, a GA-érzékenységet felelős DELLA, valamint a represszor aktivitásért felelős GRAS doménnel rendelkeznek. Az Arabidopsis modell növény hat ebbe a csoportba tartozó fehérjével rendelkezik: GAI, RGA, RGA-LIKE 1 (RGL1), RGL2, és RGL3. Elsőként a GAI fehérjét azonosították a szemidomináns *gai-1* mutáció alapján, ami GA érzéketlenséget eredményez. Ez a GA-kötő DELLA domént kódoló génszakaszban bekövetkező delécia eredménye – ennek következtében a GA nem tudja a GAI fehérje degradációját indukálni. Az RGA fehérjét az *rga* funkció veszteséges mutáció alapján azonosították, ami viszont konstitutív GA választ eredményez, a represszor hiányában. A DELLA fehérjék rendkívül szerteágazó gátló aktivitással rendelkeznek, ugyanis számtalan különböző típusú transzkripciós faktoralal képesek kölcsönhatni (9). Ez magyarázza a gibberellinek széles hatásspektrumát is.

3.4.4. A gibberellinek főbb biológiai funkciói

A gibberellinek legjellemzőbb hatása, ami felfedezésükhöz is elvezetett, a szár megnyúlásának serkentése. A gibberellin hiányos vagy érzéketlen mutánsok törpe növekedésűek, akárcsak azok, melyeket gibberellin bioszintézist gátló vegyületekkel kezeltek. Megfigyelések szerint a növények hajtásának megnyúlása arányos a hajtásban mérhető aktív gibberellin szinttel. A gibberellin a genetikai illetve fiziológiai okokból törpe növények növekedését a normál növényekéhez teszi hasonlóvá (ez arra utal, hogy ezek a törpeségek összefüggenek az alacsony GA szinttel).

A gibberellinek az internódiumok hosszát és nem a számát növelik meg. Különösen erőteljes ez a hatás a mély vízi rizs esetében, ahol a napi akár 25 cm-es növekedés biztosítja a növény számára a vízborítottság elkerülését. A gyökér növekedésére a gibberellinek nem hatnak kimutatható módon.



3.4.3. ábra A gibberellin hormonok (GA) jelátvitelének vázlata. GA hiányában a DELLA represszorok gátolják a GA-regulált gének átíródását, az azokat szabályozó transzkripció faktorokhoz kötődve. A GA hormon intracelluláris receptora a szolubilis GID1 fehérje. GA jelenlétében GA-GID1-DELLA komplex képződik, amit az E3 ubikvitin ligáz komplex szubsztrátként ismer fel a SLY1/GID2 F-box komponense révén. A DELLA fehérje ubikvitinálódik és lebontódik, lehetővé téve a transzkripció faktorok kötődését a GA-regulált gének promóteréhez. (Fehér Attila ábrája)

A gibberellinek növekedést serkentő hatása a sejtmeagnyúlás, illetve a sejtosztódás fokozására vezethető vissza. A sejtmeagnyúlás tekintetében a gibberellinek is a sejtfa mechanikai tulajdonságaira hatnak, az auxinhoz hasonlóan, azonban a két hormon hatásának molekuláris mechanizmusa eltér. A gibberellinek ugyanis nem serkenti a sejtfa savanyosodását. A gibberellinek serkentik a sejtfa lazító xiloglükán-endo-transzglükózidáz enzime aktivitását és az expanzionok termelődését (10). Emellett befolyásolják a sejtek kortikális mikrotubulus hálózatának elrendeződését (11), ami pedig végső soron a cellulóz rostok lefutását határozza meg. Egyirányú meagnyúlás estén a mikrotubulusok, éppúgy, mint a cellulózzrostok, gyakran a meagnyúlás irányára merőlegesen helyezkednek el.

A gibberellin serkenti a sejtosztódást a szubapikális hajtásmerisztémában és a fűfélék internódiumának interkaláris merisztémájában. A sejtosztódásra gyakorolt gibberellinhatás a G2/M sejtciklus fázisátmentnél érvényesül leginkább. A gibberellin mitotikus ciklinek és a G2/M fázisban is ható ciklin-dependens kináz CDKA (CDC2) expresszióját serkenti.

A gibberellin jellegzetes hatása a magvak és a rügyek nyugalmi állapotának megtörése. A fejlődő magvak igen magas GA tartalommal rendelkeznek, ami az intenzív növekedéssel van összhangban. Az érett, nyugalomba kerülő magokban azonban az aktív GA szint igen alacsony (akár ki sem mutatható). Ekkor is magas azonban a GA₁₂ gibberellinaldehid szintje, ami a csírázaskor aktív gibberellinné alakulva serkenti a csírázás folyamatát. Bizonyos növények magjai fény- vagy hideg kezelést igényelnek a magnyugalom megtöréséhez és a csírázás megindulásához. Ezek a hatások az endogén aktív GA szintet megemelve hatnak, így külső GA kezeléssel ezek a környezeti hatások helyettesíthetők. Gabonanövények és kukorica esetében a gibberellinek serkentik az endospermiumban tárolt tartaléktápanyagok lebontásáért felelős enzimek (pl. α -amiláz) szintézisét, ezzel is elősegítve az embrió fejlődését és a csírázást. A magvak csírázását és a rügyek nyugalmi, illetve aktív állapotát is a nyugalmi

állapotot fenntartó abszcizinsav és a növekedést serkentő gibberellinek és citokininek aránya szabja meg.

A gibberellinek virágzást is szabályozzák. Befolyásolják a növények juvenilis (fiatal vagy éretlen) életfázisának hosszát, és meggyorsíthatják/serkenthetik a virágrügyek kialakulását. Gibberellin hiányos mutánsok virágzása késheket vagy elmaradhat. Külső gibberellin alkalmazásával a virágzás kiváltásához szükséges környezeti hatások (nappalhossz és/vagy hideg kezelés) helyettesíthetők. Egyivarú virágok esetében a gibberellinek túlsúlya az auxinhoz és/vagy etilénhez képest a hím ivar irányába tolja el a fejlődést (és fordítva).

A sikeres terméskötés során a pollinációt követően a termő szöveteiben megemelkedik a gibberellin és az auxin szint. Alma, körte, és citrusfélék esetében a sikeres terméskötések aránya auxinnal nem, de gibberellinnel javítható. Lokális gibberellin kezeléssel a termés mérete is fokozható. A természetes partenokarpiát mutató növények (pl. banán) ált. a magház eltérő gibberellin és/vagy auxin tartalmával/szabályozásával jellemezhetők. Gibberellin kezelés hatására más növények esetében is partenokarp termések képződhetnek.

Összefoglalás

1. A gibberellinek az izoprenoidok közé tartozó tetraciklikus diterpének. Egy nagy molekula családot alkotnak, közülük azonban csak néhány rendelkezik biológiai aktivitással.
 - a. Jelük GA_{1...136}.
2. A szintézis útvonal három fázisra tagolható, melyek három különböző sejt kompartmentumban (prolasztiszok, mikroszomális sejt-kompartimentum, citoszol) zajlanak le. Közvetlen prekursoruknak a geranilgeranil-pirofoszfát tekinthető. A bioszintézis meghatározó lépései, amelyek a gibberellin szint szabályozásában fontos szerepet játszanak: az ent-kopalil-difoszfát szintáz (CPS) által katalizált ciklizációs reakció, valamint a 20-as szénatom lépcsőzetes oxidációja (C19-es gibberellinek szintézise), amit a GA20ox enzimek katalizálnak.
3. A gibberellinek is előfordulhatnak szabad, valamint kötött (glükózil észter) formában. A gibberellinek inaktivációja elsősorban 2β-hidroxilációval történik.
4. A bioszintézis főbb helyei magasabbrendű növényekben a a hajtáscsúcs levélkezdemenyei, fiatal levelei, a gyökércsúcs, a fejlődő gyümölcs, valamint a magvak.
5. A gibberellinek hosszútávú transzportja a xilémben és a floémában zajlik. A sejtről-sejtre történő rövidtávú terjedésük transzporterek segítségével valósul meg.
6. A bioaktív gibberellinek a sejtmagi DELLA transzkripciós represszorok lebontását serkentik, lehetővé téve a DELLA fehérjék által gátolt transzkripciós faktorok működését. A GA-jelet a citoszolikus GIBBERELLIN INSENSITIVE DWARF1 (GID1) fehérje érzékeli, amely a GA hatására konformáció változáson esik át és köti a DELLA represszort lehetővé téve annak degradációját.
7. A gibberellinek főbb biológiai funkciói
 - a szár növekedésének, és a levél fejlődésének fokozása
 - (sejtmegnyúlás, sejtosztódás serkentése)
 - csírázás serkentése, csírázás elindítása nem-induktív körülmények között,
 - gabonafélék magjaiban a hidrolitikus enzimek szintézisének indukciója
 - magvak és rügyek nyugalmi állapotának megtörése
 - virágzás siettetése, virágzás kiváltása nem-induktív körülmények között
 - terméskötés elősegítése, partenokarpia indukciója

Ellenőrző kérdések

1. A gibberellinek melyik fiziológiai hatása vezetett el a felfedezésükhöz?
2. Miben hasonlítanak és miben különböznek a gibberellinek és az auxinok hatásai?
3. Miben hasonlít és miben különbözik a gibberellinek és az auxinok érzékelése és jelátvittele?
4. Hol helyezkedik el a gibberellinek receptora?
5. Mik azok a DELLA fehérjék?
6. Hol szintetizálódnak a gibberellinek?
7. Miért van olyan sokféle gibberellin molekula?
8. Minden gibberellin rendelkezik biológiai aktivitással?
9. Milyen folyamatokat serkentenek a gibberellinek?

Megvitatandó kérdések

1. Mely hormonokkal vannak funkcionális kölcsönhatásban a gibberellinek?
2. Hol és hogyan alkalmazható a gyakorlatban a gibberellin hormonnal történő kezelés?

Javasolt irodalom

1. Erdei László (szerk.). Növényélettan – Növekedés - és fejlődésélettan. JATEPress Szeged, Magyarország, 2011.
2. Li J, Li C, Smith SM. (szerk.) Hormone Metabolism and Signaling in Plants. Academic Press; 2017.

Felhasznált irodalom

1. B. B. Stowe és T. Yamaki, „The History and Physiological Action of the Gibberellins”, *Annu. Rev. Plant. Physiol.*, köt. 8, sz. 1, o. 181–216, jún. 1957.
2. E. KUROSAWA, „Experimental studies on the nature of the substance secreted by the”, *Nat. Hist. Soc. Formosa*, köt. 16, o. 213–227, 1926.
3. T. Yabuta és T. Hayasi, „Biochemical studies of »bakanae« fungus of Rice.”, *Journal of the Imperial Agricultural Experimental Station, Nisigahara, Tokyo*, köt. 3, sz. 3, 1940.
4. J. MacMillan, J. Seaton, és P. Suter, „A new plant growth promoting acid—gibberellin A5 from the seed of *Phaseolus multiflorus*.”, *Proceedings of the Chemical Society, London*, köt. 1959, o. 325–326, 1959.
5. P. Hedden és V. Sponsel, „A Century of Gibberellin Research”, *J Plant Growth Regul*, köt. 34, o. 740–760, 2015.
6. X. Gao, Y. Zhang, Z. He, és X. Fu, „Gibberellins”, in *Hormone Metabolism and Signaling in Plants*, Elsevier, 2017, o. 107–160.

7. P. Hedden és S. G. Thomas, „Gibberellin biosynthesis and its regulation”, *Biochemical Journal*, köt. 444, sz. 1, o. 11–25, máj. 2012.
8. J.-M. Davière és P. Achard, „Gibberellin signaling in plants”, *Development*, köt. 140, sz. 6, o. 1147–1151, márc. 2013.
9. L. Alvey és N. P. Harberd, „DELLA proteins: integrators of multiple plant growth regulatory inputs?”, *Physiologia Plantarum*, köt. 123, sz. 2, o. 153–160, febr. 2005.
10. T. Sun, „Gibberellin Signal Transduction in Stem Elongation & Leaf Growth”, in *Plant Hormones: Biosynthesis, Signal Transduction, Action!*, P. J. Davies, Szerk. Dordrecht: Springer Netherlands, 2010, o. 308–328.
11. R. Dixit, „Plant Cytoskeleton: DELLA Connects Gibberellins to Microtubules”, *Current Biology*, köt. 23, sz. 11, o. R479–R481, jún. 2013.

3.5. Fejezet. Brasszinoszteroidok

Írta: Prof. Dr. Fehér Attila

Tanulási célkitűzések:

Tudás

- ismeri a „brasszinoszteroid” fogalmat
- ismeri a brasszinoszteroidok bioszintézisének jellemzőit, meghatározó folyamatait
- tudja, hogy mely folyamatok határozzák meg a brasszinoszteroidok lokális szintjét
- ismeri a brasszinoszteroid érzékelés és jelátvitel általános jellemzőit
- fel tudja sorolni a brasszinoszteroidok legfontosabb fiziológiai funkcióit

Képesség

- képes a brasszinoszteroidok hatását felismerni és vizsgálni

Attitűd

- nyitott a brasszinoszteroid, mint növényi hormon, mélyebb tanulmányozására,
- nyitott a brasszinoszteroid, mint növényi hormon, fiziológia hatásainak kísérletes vizsgálatára

Autonómia/felelősség

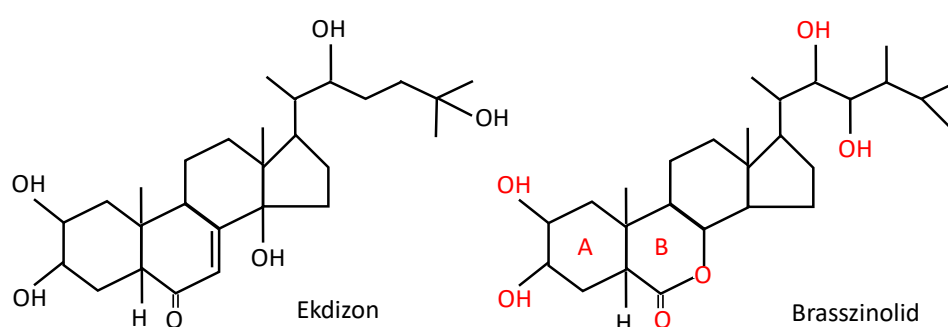
- önállóan érvel amellett, hogy a brasszinoszteroidok olyan fontos növényi hormonok, melyek felhasználhatóak a növényi növekedés és fejlődés befolyásolására

3.5.1. A brasszinoszteroidok felfedezése

A múlt század első felében folyó növényélettani kutatások eredményeként öt fontos növényi növekedést szabályozó anyagot fedeztek fel: az auxinokat, citokinineket, gibberellineket, az abszcizinsavat és az etilént. Sokáig úgy vélték, hogy csupán ez az öt vegyület tekinthető növényi hormonnak. A növényi hormonok azonosítását célzó kutatások azonban nem álltak le teljesen. Mivel a virágpor (pollen) növekedést serkentő hatását régóta ismerték, az amerikai John W. Mitchell és kollégái kukorica pollen extraktumok hatását vizsgálták borsó csíranövényeken és 1941-ben arról számoltak be, hogy ez az extraktum hatékonyabban serkenti az internódiumok növekedését, mint az auxin (1). Ezt közel harmincéves további kutatásuk követte, melyben közel 60 növényfaj pollen különböző pollen kivonatait tesztelték. A repce (*Brassica napus*) pollen kivonatát találták a leghatékonyabbnak és a részlegesen tisztított hatóanyagot „brassin”-nak nevezték el, és egy új növényi hormonnaként publikálták 1970-ben (2). Sokan azonban kétségbe vonták, hogy egy új hormonról lenne szó és feltételezték, hogy a kivonat gibberellin tartalma okozza a hatást. Az USA Mezőgazdasági Minisztériuma (USDA) azonban fantáziát látott ebben az új növényi növekedést szabályozó anyagban, mivel a brasszin pozitív hatással volt a növények növekedésére és terméshozamára, anélkül, hogy a növények morfológiáját jelentősen megváltoztatta volna. Így nem kis energiát és pénzt (10 év és kb. egy millió dollár) fektettek a hatóanyag azonosításába. 1979-ben 227 kg méhecskék által összegyűjtött repce pollenből 4 mg tiszta kristályos hatóanyagot sikerült tisztítani, majd később a szerkezetét meghatározni. Az anyag egy polihidroxi-szterol molekulának bizonyult, amit brasszinolidnak neveztek el (3). Ma már több, mint 70 hasonló vegyületet ismerünk növényekből, ezek összefoglaló neve a brasszinoszteroid. A brasszinolid csak akkor került végleges besorolásra a növényi hormonok közé, miután molekuláris genetikai vizsgálatok igazolták, hogy a bioszintézisét gátló mutációk jelentős hatással vannak a növények növekedésére és fejlődésére (lásd alább).

3.5.2. A brassinoszteroidok szerkezete

Valamennyi brassinoszteroid 5α -kolesztán vázú hidroxilált szteroid (4). Szerkezetükben hasonlóak az állati szteroid hormonokhoz, amilyen pl. a rovarok és rákok vedlési hormona, az ecdizon (3.5.1. ábra), illetve az ösztrogén vagy a kortikoszteroid stb. Az egyes brassinoszteroid származékok a szteroid oldallánc 24-es szénatomjának alkilációs állapotában, valamint az oxigén tartalmú szubsztituensek számában és helyzetében különböznek egymástól (3.5.1. ábra). Ezekről a szerkezeti elemektől függ a biológiai aktivitásuk. A brassinolid kémiai neve: 22R,23R,24S- $2\alpha,3\alpha,22,23$ -tetrahidroxi-24-metil-B-4-homo-7-oxa- 5α -kolesztán-6-on. A többi ismert brassinoszteroid közül sok a brassinolid prekursora, anyagcsere terméke, származéka.



3.5.1. ábra Az ecdizon állati és a brassinolid növényi szteroid hormonok szerkezete. A pirossal jelzett szerkezeti elemek szükségesek a brassinolid biológiai aktivitáshoz. (Fehér Attila ábrája)

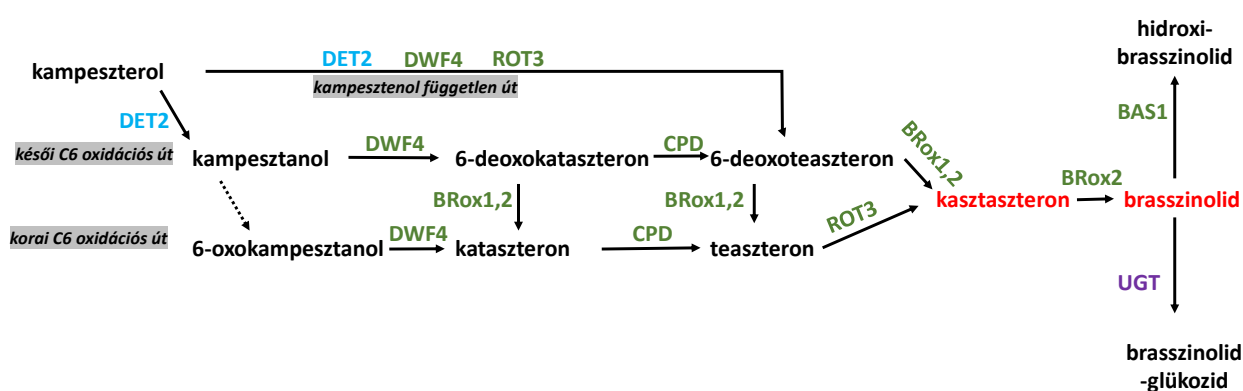
3.5.3. A brassinoszteroidok szintjét meghatározó folyamatok

A brassinoszteroidok bioszintézise a növények sejtmembránjaiban nagy mennyiségben előforduló fitoszterolokból kiindulva számos, főként oxidatív lépésen át jut el a végtermékig (3.5.2. ábra) (5). Helye az endoplazmatikus retikulum. Mára az *Arabidopsis* brassinoszteroid-bioszintetikus génjeinek túlnyomó része ismertté vált. Ezek a szteroid- 5α -reduktáz funkciójú DE-ETIOLATED 2 (DET2) génjétől eltekintve valamennyien citokróm P450 monooxygenázokat kódolnak. Jelenlegi ismereteink szerint ezek az enzimek többféle szubsztrátot is elfogadnak, így a brassinolid szintézis nem egyetlen jól definiált út, hanem többféle lehetséges út hálózata (3.5.2. ábra). Ennek feltárásához japán kutatók mellett a Szegedi Biológiai Kutatóközpont munkatársa Dr. Szekeres Miklós is hozzájárult (6).

A közvetlen szintézis út a kampszterolból indul ki, amely több lépésben 5α -kampszstanollá alakul. A bioszintézis fontos lépése a C6 szénatom hidroxilációja, ami később keton csoporttá alakul. Ez a lépés megtörténhet a szintézis út elején vagy végén is. Így két bioszintézis útvonalat különböztetünk meg a korai és a késői C6 oxidációs utat, melyek a kasztaszteronnál kapcsolódnak össze, ami a brassinolid közvetlen prekursora.

Máig nem tisztázott kérdés, hogy a kasztaszteronénál erősebb élettani hatású brassinolid mennyire tekinthető általánosan elterjedtnek a magasabb rendű növények körében. Számos fajból mindeddig nem sikerült kimutatni ezt a vegyületet, és feltételezik, hogy ezekben a szervezetekben a kasztaszteron

lehet az egyedüli bioaktív brasszinoszteroid. Ugyanakkor a brassinolid igen alacsony (ng/kg nagyságrendű) fiziológiás szintje miatt elképzelhető, hogy detektálása esetenként csupán a felhasznált analitikai módszerek érzékenységének korlátai miatt nem volt lehetséges. A korábban brassinolidot nem termelő növényekként számontartott *Arabidopsis*-ban és a paradicsomban (*Solanum lycopersicum*) is csak nemrég sikerült kimutatni ennek a brasszinoszteroid formának a jelenlétét. Viszont mindeddig egyetlen egyszikű fajban sem detektáltak brassinolidot, még a rendszerint hormont felhalmozó brasszinoszteroid-inszenzitív mutánsaik esetében sem. Ennek alapján pl. rizsben (*Oryza sativa*) bizonyítottanak látszik, hogy a brasszinoszteroid bioszintézisének végterméke a kasztaszeron.



3.5.2. ábra A brasszinolid metabolizmusa. A bioszintézis hálózatos, két fő útvonala a korai és a késői C6 oxidációs út. A különböző enzim aktivitásokat különböző szín jelezi: késsel jelöltük a szteroid reduktazt, zölddel a citokróm P450 monooxygenázokat, lilával a glikozil transzferázt. DET2 = DE-ETIOLATED 2; DWF4 = DWARF 4; CPD = CONSTITUTIVE PHOTOMORPHOGENIC DWARF; ROT3 = ROTUNDIFOLIA3; BRox = BRASSZINOSZTEROID OXIDASE; BAS1 = PHYB ACTIVATION-TAGGED SUPPRESSOR 1; UGT = UDP GLIKOZILTRANSZFERÁZ. Pirossal jelöltük a hormon aktivitással rendelkező brasszinoszteroidokat. A hidrox-brasszinolid és a brasszinolid-glükozid inaktív formák. (Fehér Attila ábrája)

A brassinoszteroid bioszintézis triazol származékokkal, mint pl. brassinazol (BRZ) vagy propikonazol (Pcz) gátolható (7).

A brasszinoszteroid hormon nem rendelkezik hosszútávú transzport mechanizmusokkal, a hormon a szintézise helyénél fejt ki hatását (8). A transzport hiányát rádioaktív brasszinolid kezelés és nyomon követés mellett átoltásos kísérlettel is igazolni lehetett: borsó vad típusú és brasszinolidhiányos mutánsának gyökerét, illetve hajtását kombinálva átoltásokkal, a szövetekben a brasszinolid tartalom nem változott meg, megőrizte a vad, illetve a mutáns növényre jellemző értékét. A paradicsom *dwarf* mutánsának vizsgálata is hasonló eredményre vezetett. A mutációt egy brasszinolid bioszintézis génbe beépült transzpozon idézte elő. A növény fejlődése során egyes sejtekben a transzpozon kivágódott a helyéről, a mutáció revertálódott, ezekben a sejtekben és utódaikban a brasszinolid szintézis helyre állt: a mutáns növényen vad típusú szövetek, régiók alakultak ki. Ezek brasszinolid szintézise azonban

nem volt képes a szomszédos mutáns szervek, szektorok mutáns fenotípusát megszüntetni, ami a brassinolid transzport hiányára utal.

Az utóbbi évek során Arabidopsisban több olyan enzimet is azonosítottak, melyek a bioaktív brassinoszteroidok inaktiválásáért felelős (9). Ezen reakciók egy részét a brassinoszteroid bioszintézisét katalizáló enzimekkel közelebbi rokonságot nem mutató citokróm P450 monooxygenázok végzik. Ilyen a PHYB4 ACTIVATION-TAGGED SUPPRESSOR 1 (BAS1) gén által kódolt enzim. A BAS1 gént túltermeltetve Arabidopsis növényekben brassinolid-hiányos állapot idézhető elő, hasonló fenotípust eredményezve, mint a bioszintetikus génekben történt mutációk.

Repcéből és Arabidopsisból olyan szulfotranszferáz és glikoziltranszferáz enzimeket is leírtak, amelyek *in vitro* reakcióban a brassinoszteroid bioszintézis számos intermedierét képesek szulfonálni, ill. glikozilálni. Ezek a formák korlátozott aktivitásúak vagy inaktívak, a prekursorok ill. a hormon raktározására szolgálnak, főleg olyan szervekben, melyekben nagy mennyiségben lehet a hormonra szükség (pl. reproduktív szervek).

Mivel sem a brassinolidok transzportja, és alapállapotban az inaktivációja sem jelentős, az aktív hormon lokális szintje elsősorban a bioszintézisétől függ. Arabidopsisban a brassinoszteroid szintézis valamennyi citokróm P450 oxigenáz génjének expressziója végtermékgátlás révén kontrollált, ami az aktív hormon szintjét alacsonyan tartja.

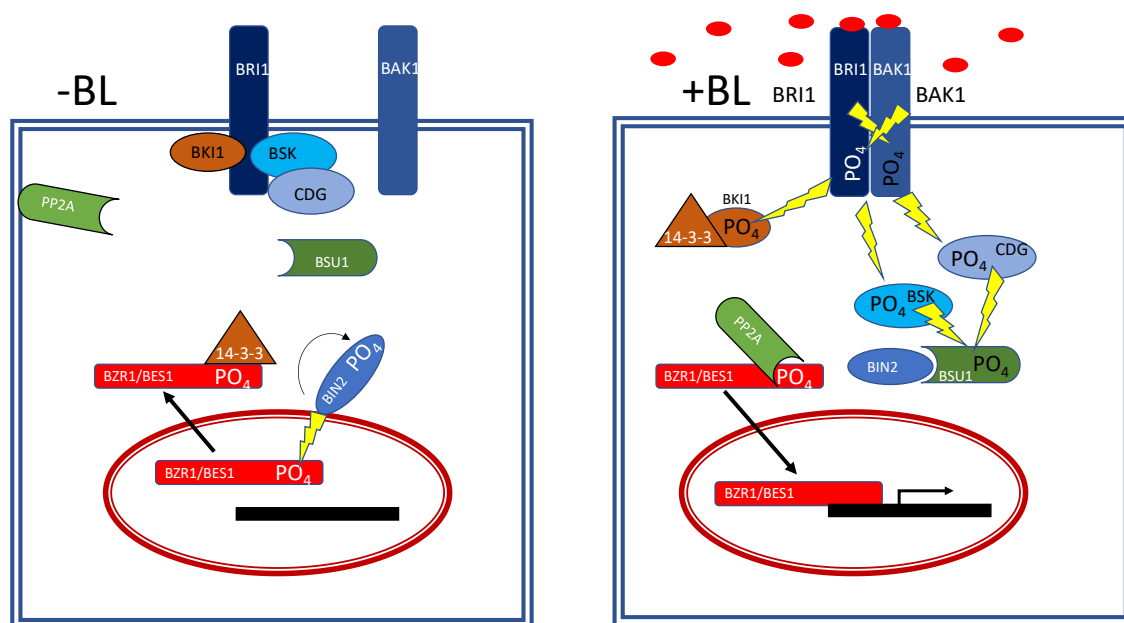
A brassinoszteroid-bioszintetikus gének expressziós vizsgálatai azt is feltárták, hogy ezek jellegzetes, fejlődési stádiumtól függő kifejeződési mintázatot mutatnak (5). Ez összhangban van azzal, hogy a brassinoszteroid-oknak fontos szerepük van az egyes fejlődési szakaszok elindításában, illetve szabályozásában. Arabidopsisban valamennyi brassinoszteroid-bioszintetikus P450 gén nagymértékben indukálódik a csírázás első hetében, majd visszaesik egy alapszintre. Az összehangoltan érvényesülő végtermékgátlásos és korai fejlődési szabályozással ellentétben az egyes brassinoszteroid bioszintézis gének jellegzetes szervspecifikus kifejeződési mintázatot mutatnak. Arabidopsisban a potenciális sebesség-meghatározó lépéseket katalizáló enzimek génjei (CPD, DWF4 és BRox) már csíranövény korban elsősorban a hajtáscúcsban és a differenciálódó levélkezdeményekben expresszálódnak, míg más bioszintetikus gén transzkriptumok szintje a gyökérben a legmagasabb. A reproduktív szervek kialakulása során a bioaktív brassinoszteroid szintéziséhez szükséges gének erős átmeneti aktiválódást mutatnak. A génaktivitások szervspecifitásának feltehetően fontos szerepe van a lokális brassinoszteroid-szintek beállításában, koncentráció-grádiensek kialakulásában, és ezáltal - más fitohormonok hatásával összhangban - differenciációs folyamatok elindításában.

A brassinoszteroidok a fentieknek megfelelően az éretlen és a csírázó magban, a fiatal hajtásban és gyökérben, valamint a reproduktív szervekben és a pollenben vannak jelen nagyobb mennyiségben.

3.5.4. A brassinoszteroidok érzékelése és jelátvittele

Szemben számos állati szteroid hormonnal, a brassinoszteroidok érzékelése a sejtmembrán külső felszínén és nem intracellulárisan történik (3.5.3. ábra) (10). A brassinoszteroid receptora a BRI1 (BRASSINOSTEROID INSENSITIVE 1) leucinban gazdag ismétlődéseket tartalmazó transzmembrán receptor kináz (LRRK). BRI1 működéséhez szükség van egy ko-receptorra is, ez a BAK1 (BRASSINOSTEROID INSENSITIVE 1-associated kinase 1), ami szintén egy transzmembrán kináz (11). A brassinolid kötődése után a BRI1 gyenge kináz aktivitással rendelkezik. Ez ahhoz elegendő, hogy foszforilálja az inhibitor fehérjéjét (BRI1-KINASE INHIBITOR 1; BKI1), ami leválik róla és így képessé válik a ko-receptorával való heterodimerizációra. BRI1 és BAK1 kölcsönösen foszforilálják egymást. Így

BRI1 aktivitása lényegesen megnövekszik. Az aktív BRI1 több citoplazmatikus szubsztrátot is foszforilál és elindít egy kinázokat és foszfatázokat magában foglaló foszforilációs/defoszforilációs jelátviteli kaszkádot (9), (12). Ennek a végén a BRASSINOSTEROID-INSENSITIVE 2 (BIN2) citoplazmatikus kináz áll, ami egy negatív regulátor: BL hiányában foszforilálja a BRI1-EMS-SUPPRESSOR 1 (BES1) és BRASSINAZOLE-RESISTANT 1 (BZR1) transzkripciós faktorokat, amelyek így a citoplazmába kerülnek és degradálódnak. BES1 és BZR1 proteinek pozitív regulátorok, defoszforiláltak, amit egy PP2A típusú foszfatáz végez, a sejtmagba jutnak és génaktivációt indítanak el.



3.5.3. ábra A brassinoszteroid hormon érzékelése és jelátvittele. Hormon hiányában (-BL) a jelátvitel számos ponton gátolt. A BRI1 receptor kináz aktivitását saját C-terminális doménje gátolja (autoinhibíció), míg a BKI1 fehérje meggátolja, hogy BRI1 kapcsolódjon a ko-receptor BAK1 kinázzal. A BIN2 citoplazmatikus kináz foszforilálja a BES1 és BZR1 transzkripciós faktorokat, melyek így a citoplazmába kerülnek, ahol egy 14-3-3 fehérje megakadályozza, hogy visszajussanak a sejtmagba, vagy lebomlanak. Hormon jelenlétében (+BL) BRI1 konformáció változás következtében gyenge aktivitásra tesz szert. Foszforilálja BKI1-et, amely így leválik és egy 14-3-3 fehérje a citoplazmában tartja. BRI1 és BAK1 heterodimerizálódik és kölcsönösen foszforilálják egymást, aminek eredményeként BRI1 kinázaktivitása megnövekszik és több citoplazmatikus szubsztrátot is foszforilál, köztük a BSK és CDG protein kinázokat. BSK és CDG aktívvá válva foszforilálják a BSU foszfatázt, ami ezután defoszforilálja a BIN2 kinázt. BIN2 inaktívvá válik, így BES1 és BZR1 nem foszforilálódik, a foszforilált formáik pedig egy PP2A foszfatáz által defoszforilálódnak. BES1 és BZR1 felhalmozódik a sejtmagban és beindítja a brassinoszteroid-regulált génkifejeződést. A kinázaktivitású elemeket kék, a foszfatázokat zöld, az inhibitorokat barna, a transzkripciós faktorokat piros szín jelzi.

BRI1 - BRASSINOSTEROID INSENSITIVE 1, BAK1- BRASSINOSTEROID INSENSITIVE 1-associated kinase 1; BKI1 - BRI1-KINASE INHIBITOR 1; BSK - BR SIGNALING KINASE; CDG - CONSTITUTIVE DIFFERENTIAL GROWTH; BIN2 - BRASSINOSTEROID-INSENSITIVE 2; BSU - BRI1 SUPPRESSOR 1; BES1 - BRI1-EMS-SUPPRESSOR 1; BZR1 - BRASSINAZOLE-RESISTANT 1 (Fehér Attila ábrája)

3.5.5. A brassinoszteroidok főbb biológiai funkció

A többi növényi hormonhoz hasonlóan, a brassinoszteroid hormonok funkciója is szerteágazó (4). Felfedezésük alapja a hajtás növekedését serkentő hatásuk volt. A sejtek, illetve szervek megnyúlására kifejtett hatásuk mellett a sejtek osztódását is serkentik, akárcsak az auxin. A brassinoszteroid hormonok is sokrétűen befolyásolják a sejtek megnyúlását: fokozzák a plazmamembrán ATPáz aktivitását, ezzel savanyítva az apoplast pH-ját, fokozzák az expansinok és xiloglükán endotranszferázok génjeinek átíródását, megváltoztatják a mikrotubulusok lefutását ezzel meghatározva a megnyúlás irányát (lásd 2.2.4.). A sejtosztódást serkentő hatását auxin és citokinin jelenlétében fejt ki, fokozva több sejtciklus szabályozó gén aktivitását, köztük a citokinin által is regulált CiklinD3 génjét. Míg a brassinolid kezelt növények fokozott növekedésűek, addig a brassinoszteroid hiányos vagy brassinoszteroid érzéketlen mutánsok, illetve a brassinoszteroid szintézis gátlóval kezelt növények törpe növekedésűek.

A brassinoszteroidokról számos növényfaj esetében kimutatták, hogy serkentik a magok csírázását. Speciális hatása a brassinoszteroid hiányának, hogy a csíranövények sötétben is úgy fejlődnek, mintha fényen növekednének, azaz konstitutív fotomorfogenezist mutatnak (lásd 2.3.). Ez azt jelenti, hogy sötétben sem nyúlik meg a hipokotil, kiegyenesedik a hipokotil kampó, kiterülnek és megzöldülnek a sziklevelek. Ez a fenotípus nagyban hozzájárult a brassinoszteroid bioszintézis út feltárásához, ugyanis ez alapján sikerült a bioszintézisben résztvevő fontos enzimeket azonosítani, melyek a nevüket is így kapták: DE-ETIOLATED 2 (DET2) illetve CONSTITUTIVE PHOTOMORPHOGENIC DWARF (CPD) (utóbbi mutációt Dr. Szekeres Miklós jellemezte, (13)).

A hajtás növekedése mellett a gyökér növekedését is befolyásolják, de ez a hatásuk koncentráció függő: alacsony koncentrációban fokozzák, magas koncentrációban gátolják azt.

A brassinoszteroid hormonok fontos szerepet játszanak a xilém differenciálódásában (lásd 4.3.3.), amit több kísérleti adat is alátámaszt. A prokambium sejtekben a xilém differenciálódását megelőzően jelentősen megemelkedik a brassinolid szint és az *in vitro* Zinnia modellrendszerben a brassinolid fokozza a tracheida képződést. Az Arabidopsis *cpd* mutánsban a floém túlfejlődik a xilém rovására. A brassinolid a differenciálódás befejezéseként indukálja a trachea elemek programozott sejthalálát is.

De nemcsak ebben a speciális esetben serkentik a brassinoszteroid hormonok a programozott sejthalált: a szenescencia (öregedési) folyamatok serkentése ezeknek a hormonoknak egy jellegzetes hatása. A brassinoszteroid hiányos mutánsok hosszabb életűek, öregedésük késik.

Fontos szerepet játszanak a brassinoszteroidok a növények szaporodási folyamataiban is. A hormonhiányos vagy érzéketlen mutánsok virágzása késik, a brassinoszteroidok ugyanis a FLOWERING LOCUS C (FLC) virágzási represszor (lásd 4.4.2.) kifejeződését gátolva serkentik a virágzást. A brassinoszteroid hiányos mutánsok sterilek, ami összefügg azzal, hogy a hormon nagy mennyiségben fordul elő a pollenben, amiből az első tisztítása sikerült. Brassinoszteroidok hiányában a pollen csírázása, illetve a pollencső növekedése gátolt. A hormon hiánya a pollen és a porzó morfológiáját is befolyásolja.

A brassinoszteroid hormon fokozza az etilén prekursorának az 1-aminociklopropán-1-karbonsavnak (ACC), és így az etilénnek, a szintézisét (lásd 3.8.3.) és az etilénnel együtt szabályozza a levél epinasztiáját (szárral bezárt szögét). A rizslevél szártól való elhajlási szöge brassinoszteroid érzékeny. Ez egyben a brassinoszteroid kimutatására alkalmas bioesszé, amely differenciális sejtmegnyúláson alapul. Egy brassinoszteroid bioszintézis mutáns rizsben kevesebb brassinoszteroid képződik, így a leveleinek a szártól való elhajlása kisebb. Ez azt eredményezte, hogy az egymás közelébe ültetett

növények kevésbé árnyékolják egymást, így ez a fajta sűrűn ültethető és így lényegesen nagyobb terméshozam (+17-20%) érhető el egységnyi területen (14).

A brassinoszteroidok részt vesznek a növények védekező mechanizmusában is. Fokozzák a toleranciát számos abiotikus stresszel szemben, mint pl. az alacsony vagy magas hőmérséklet, illetve a sóstressz. Károkozókkal szembeni védekezési mechanizmusokat aktiválhat, de akár gátolhat is. Egyes feltételezések szerint a növekedés és a védekezési válaszok koordinálásában, a két folyamat optimális viszonyának kialakításában, játszik szerepet (15).

Összefoglalás

1. Valamennyi brassinoszteroid az állati szteroid hormonokhoz szerkezetében hasonló polihidroxilált szteroid.
2. A brassinoszteroidok bioszintézise a növények sejtmembránjaiban nagy mennyiségben előforduló fitoszterolokból kiindulva számos, főként oxidatív lépésen át jut el a végtermékig. Biológiai aktív brassinoszteroidok a brassinolid és közvetlen prekürzora a kasztaszeron.
3. A brassinoszteroid hormon nem rendelkezik hosszútávú transzport mechanizmusokkal, a hormon a szintézise helyénél fejti ki hatását. Az aktív hormon lokális szintje elsősorban a bioszintézistől függ. A hormon a saját szintézisét negatívan szabályozza.
4. A brassinoszteroidok érzékelése a sejtmembrán külső felszínén történik; a brassinoszteroid receptora egy leucinban gazdag ismétlődéseket tartalmazó transzmembrán receptor kináz (BRI1). Az aktivált receptor egy kinázokat és foszfatázokat magában foglaló foszforilációs/defoszforilációs jelátviteli kaszkádot indít el, aminek a hatására megváltozik a brassinoszteroid regulált gének szabályozó transzkripció faktorok foszforilációs állapota, intracelluláris lokalizációja és aktivitása.
5. A brassinoszteroidok fiziológiai hatásai:
 - Auxin-szerű hatások
 - növekedés serkentés hajtásban (sejtmegnyúlás; sejtosztódás)
 - koncentráció-függő növekedés szabályozás gyökérben
 - az etilénprodukciónak serkentése
 - epinasztia szabályozása (etilénnel együtt)
 - a xilém differenciálódás szabályozása
 - További hatások:
 - sötétben gátolják a fotomorfogenezist
 - szükségesek a pollencső növekedéséhez
 - serkentik a virágzást
 - javítják a terméskötést
 - serkentik az öregedést és a programozott sejthalált
 - növelik az abiotikus hatásokkal szembeni toleranciát
 - koordinálják a növekedést és a károkozókkal szembeni védekezést

Ellenőrző kérdések

1. Milyen növényi anyagból sikerült a brassinoszteroidokat elsőként tisztítani?
2. Mi a „brassin”, a „brassinolid” és a „brassinoszteroid” között a különbség?
3. Mi a brassinoszteroid bioszintézis jellegzetessége?
4. Hol szintetizálódnak a brassinoszteroidok?
5. Hogyan történik a brassinoszteroidok hosszútávú transzportja?
6. Hol található a brassinoszteroid hormon receptora?
7. Milyen biokémiai reakciók jellemzik a brassinoszteroid jelátvitelt?
8. Milyen a fenotípusa a brassinoszteroid hiányos növényeknek?
9. Serkenti vagy gátolja a gyökér növekedését a brassinolid?
10. A sejtmegnyúlást vagy a sejtosztódást szabályozza ez a hormon?
11. A xilém vagy floém differenciációját gátolja a brassinoszteroid hiány?
12. Melyik folyamat(oka)t serkenti a brassinoszteroid hormon: a csírázást, a hajtás növekedést, a virágzást vagy az öregedést?

Megvitatandó kérdések

1. A brassinoszteroidok mezőgazdasági alkalmazásának lehetőségei.
2. A brassinoszteroidok kölcsönhatásai más növényi hormonokkal.

Javasolt irodalom

1. Erdei László (szerk.). Növényélettan – Növekedés - és fejlődésélettan. JATEPress Szeged, Magyarország, 2011.
2. Li J, Li C, Smith SM. (szerk.) Hormone Metabolism and Signaling in Plants. Academic Press; 2017.
3. Davies PJ, (szerk.) Plant Hormones: Biosynthesis, Signal Transduction, Action! 3. kiad. Springer Netherlands; 2010.

Felhasznált irodalom

1. S. D. Clouse, „A History of Brassinosteroid Research from 1970 through 2005: Thirty-Five Years of Phytochemistry, Physiology, Genes, and Mutants”, *J Plant Growth Regul*, köt. 34, sz. 4, o. 828–844, dec. 2015.
2. J. W. Mitchell, N. Mandava, és J. F. Worley, „Brassins-a new family of plant hormones from rape pollen”, *Nature*, köt. 225, o. 1065–1066, 1970.
3. M. D. Grove és mtsai., „Brassinolide, a plant growth-promoting steroid isolated from Brassica napus pollen”, *Nature*, köt. 281, o. 216–217, 1979.
4. S. D. Clouse, „Brassinosteroids”, *Arabidopsis Book*, köt. 9, nov. 2011.
5. S. Fujioka és T. Yokota, „Biosynthesis and metabolism of brassinosteroids”, *Annu. Rev. Plant Biol*, köt. 54, o. 137–164, 2003.

6. T. Ohnishi és mtsai., „C-23 Hydroxylation by Arabidopsis CYP90C1 and CYP90D1 Reveals a Novel Shortcut in Brassinosteroid Biosynthesis”, *The Plant Cell*, köt. 18, sz. 11, o. 3275–3288, nov. 2006.
7. T. Asami és S. Yoshida, „Brassinosteroid biosynthesis inhibitors”, *Trends Plant Sci*, köt. 4, o. 348–353, 1999.
8. G. M. Symons, J. J. Ross, C. E. Jager, és J. B. Reid, „Brassinosteroid transport”, *J. Exp. Bot.*, köt. 59, sz. 1, o. 17–24, 2008.
9. H. Wang, Z. Wei, J. Li, és X. Wang, „Brassinosteroids”, in *Hormone Metabolism and Signaling in Plants*, Elsevier, 2017, o. 291–326.
10. Y. Belkhadir és J. Chory, „Brassinosteroid signaling: A paradigm for steroid hormone signaling from the cell surface”, *Science*, köt. 314, o. 1410–1411, 2006.
11. K. H. Nam és J. Li, „BRI1/BAK1, a receptor kinase pair mediating brassinosteroid signaling”, *Cell*, köt. 110, o. 203–212, 2002.
12. S. D. Clouse, „Brassinosteroid Signal Transduction: From Receptor Kinase Activation to Transcriptional Networks Regulating Plant Development”, *Plant Cell*, köt. 23, o. 1219–1230, 2011.
13. M. Szekeres, K. Nemeth, és Z. Koncz-Kalman, „Brassinosteroids rescue the deficiency of CYP90, a cytochrome P450, controlling cell elongation and de-etiolation in Arabidopsis”, *Cell*, köt. 85, o. 171–182, 1996.
14. U. K. Divi és P. Krishna, „Brassinosteroid: a biotechnological target for enhancing crop yield and stress tolerance”, *N Biotechnol*, köt. 26, sz. 3–4, o. 131–136, okt. 2009.
15. J. Tang, Z. Han, és J. Chai, „Q&A: what are brassinosteroids and how do they act in plants?”, *BMC Biology*, köt. 14, sz. 1, o. 113, dec. 2016.

3.6. Fejezet. A strigolakton, mint növényi hormon

Írta: Prof. Dr. Fehér Attila

Tanulási célkitűzések:

Tudás

- ismeri ismerje a strigolaktont, mint növényi hormont
- tudja, hogy milyen típusú vegyület a strigolakton
- tudja összehasonlítani a strigolakton érzékelését és jelátvitelét a többi növényi hormonéval
- érti a strigolaktonok szerepét a hajtás/gyökér elágazódás szabályozásában

Képesség

- képes a strigolakton-szerű vegyületek hormon hatásainak felismerésére és azok vizsgálatára

Attitűd

- nyitott a strigolakton, mint növényi hormon, mélyebb tanulmányozására,
- nyitott a strigolakton, mint növényi hormon, fiziológia hatásainak kísérletes vizsgálatára

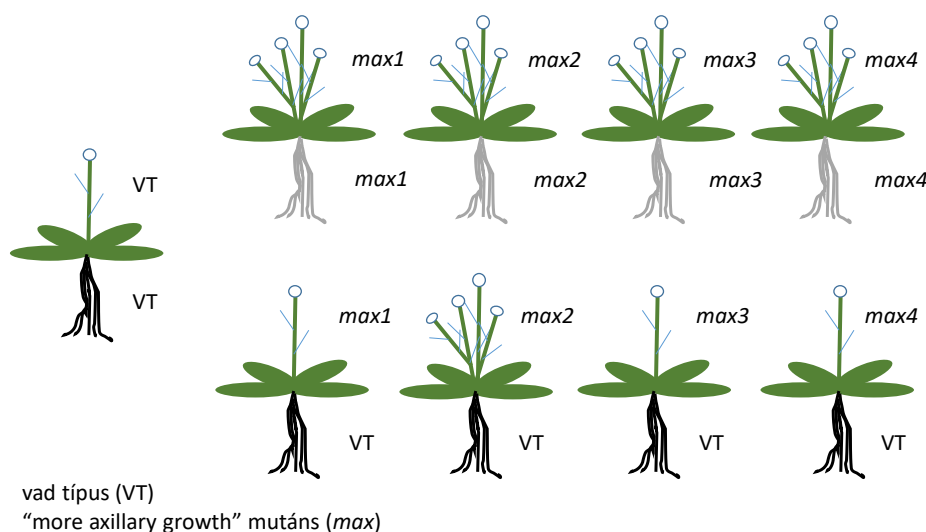
Autonómia/felelősség

- önállóan érvel amellett, hogy a strigolaktonok fontos növényi hormonok, melyek gyakorlati alkalmazási lehetőséggel is bírnak

3.6.1. A strigolaktonok felfedezése

A strigolakton a „legfiatalabb” növényi hormon, 2008 óta soroljuk csak ebbe a csoportba. Magát a vegyületet azonban sokkal régebb óta ismerjük (1). A strigolakton, mint a növények gyökere által a talajba kiválasztott vegyület felfedezéséhez az obligát gyökérparazita növények vizsgálata vezetett el. Ezek a növények csak akkor tudnak a csírázásukat követően életben maradni, ha egy gazdanövény gyökeréhez kapcsolódva azon élősködnek. Már 1823-ban felvetették kutatók, hogy ezeknek a parazita növényeknek a magjai a gazdanövény gyökere által kiválasztott kémiai anyag hatására csíráznak ki. Így a gazdanövény gyökere mindig megfelelő közelségben van a parazita csíranövény számára. Számos növény gyökér exudátuma esetében kimutatták ezt a gyökérparaziták csírázását serkentő hatást. A múlt század közepe táján a részlegesen tisztított exudátum frakciók alapján feltételezték, hogy a vegyület lakton gyűrűt tartalmaz, mert gyenge savban stabilnak, lúgos közegben instabilnak bizonyult. 1966-ban sikerült a vegyületet tiszta formában előállítani gyapot gyökér exudátumból a gyökérparazita borsorkánygyom (*Striga lutea*) magjának csírázást serkentő hatása alapján (2). A borsorkánygyom latin neve után kapta a két tisztított vegyület a strigol, illetve strigilacetát nevet. Később több hasonló vegyületet is azonosítottak egyéb növények gyökér exudátumaiból és a vegyületcsoport neve a strigolakton lett. A gyapot azonban nem gazdanövénye a *Striga* fajoknak, azaz, nem csak a parazita növények gazdanövényeinek gyökerei választják ki a strigolaktonokat. Az is nyilvánvaló, hogy a gazdanövények nem azzal a céllal bocsájtják ki ezt az anyagot, hogy a parazitáik csírázását elősegítsék. Vagyis a strigolaktonok szerepe a tisztításukkor még nem vált ismertté. 2006-ban számoltak be kutatók arról, hogy a strigolaktonok a növények gyökereivel szimbiózisban élő gombák, az arbuszkuláris mikorrhiza gombák, hifáinak elágazódását serkenti (3). A mikorrhiza gombák rendkívül fontosak a növények többsége számára, mert segítik a gyökerek víz és tápanyagfelvételét a talajból. A növények tehát a strigolakton jelet a mikorrhiza gombákkal való szimbiózisuk serkentése miatt bocsájtják a talajba, a gyökérparazita növények pedig kihasználják ezt a jelet saját csíranövényeik életbenmaradási esélyeinek javítására. De a strigolaktonok funkciójára ez a felfedezés sem adott teljes magyarázatot: a mohák és szövetes növények mintegy 80%-a él mikorrhizákkal szimbiotikus kapcsolatban. De a

maradék 20%, ide tartozik az *Arabidopsis*, is termel strigolaktont. Mi a szerepe a strigolaktonoknak ezekben a növényekben? Erre a kérdésre a molekuláris genetika szolgáltat választ: számos növényfaj esetében azonosítottak olyan mutációkat, melynek eredményeként a hajtások elágazódásának a száma jelentősen megnövekedett. *Arabidopsis* esetében ilyenek a *max* („more axillary growth”) mutációk (3.6.1. ábra). A mutációk molekuláris hátterének feltárása során kiderült, hogy ezek a növények a strigolakton bioszintézisében vagy jelátvitelében hibásak. A strigolaktonok tehát a növények hajtás- illetve gyökérelágazódás szabályozóiként kerültek be a növényi hormonok nagy családjába, 2008-ban (4), (5). Azóta számos egyéb biológiai funkciót is tulajdonítanak nekik (lásd alább).



3.6.1. ábra Az *Arabidopsis* „more axillary growth” (*max*) mutánsok fenotípusa, amelynek vizsgálata elvezetett a strigolaktonok növényi hormonnként való azonosításához. A vad típusú *Arabidopsis* növény (VT) kevés virágzatihajtást hoz, a *max* mutánsok (felső sor) többet. Amennyiben a *max* mutáns hajtásokat átoltották vad típusú gyökérzetre (alsó sor), azt figyelték meg, hogy a *max1,3,4* mutánsok esetében a fenotípus nem alakult ki, a *max2* esetében igen. Mivel a vad típusú gyökér által termelt anyag képes a hajtásban a *max1,3,4* mutációk hatását megszüntetni (komplementálni), ezek a mutációk egy a gyökérben termelődő és a hajtásba transzportálódó anyag (később kiderült, hogy ez a strigolakton) bioszintézisében hibásak. A *max2* mutáció esetében nincs komplementáció, tehát itt jelérzékelési vagy jelátviteli mutációról lehet szó. (Fehér Attila ábrája)

3.6.2. A strigolaktonok szerkezete és bioszintézise

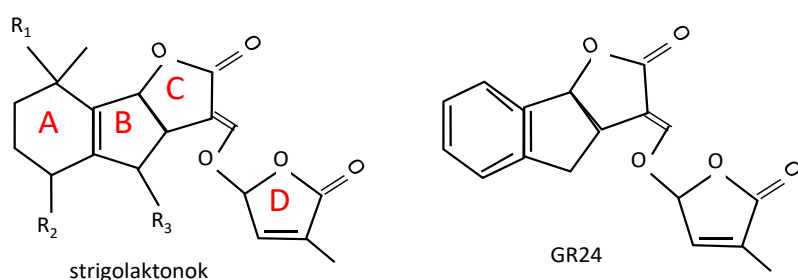
A laktonok gyűrűs észterek, egy alkohol és egy karbonsav csoport kondenzációjával (egy víz molekula kilépése) jönnek létre ugyanazon molekulán belül. Az általános szerkezet alapja egy triciklusos lakton (ABC gyűrűk) amit egy enol éter híd kapcsol egy második butenolid lakton gyűrűhöz (D gyűrű) (3.6.2. ábra). Az egyes strigolaktonok az alapszerkezet kémiai módosításainak, illetve sztereokémiai változatainak köszönhetően különböznek egymástól. Közös közvetlen prekursoruk az egyszerű szerkezetű 5-deoxystrigol (3.6.2. ábra). Az ehhez hasonló GR24 jelű szintetikus strigolakton vegyületet (3.6.2. ábra) elterjedten használják a strigolaktonok funkciójának feltárását célzó kutatásokban és a gyakorlatban.

A strigolaktonok a karotenoidok nagy családjába tartoznak (lásd 3.1.1.) (6). A karotenoid bioszintézist gátló fluridon a strigolakton szintézist is gátolja. Prekursoruk a β -karotén (3.6.3. ábra). A szintézis a β -karotén izomerizációjával kezdődik, majd a molekulában oxidatív hasítások sorozata történik, végül

citokróm p450 enzimek által katalizált oxidációk vezetnek el a strigolakton molekula képződéséhez. Az *Arabidopsis max3* és *max4* mutációja az oxidatív hasításokat gátolja, a *max1* mutáció pedig egy ezt követő oxidációs lépést (3.6.3. ábra).

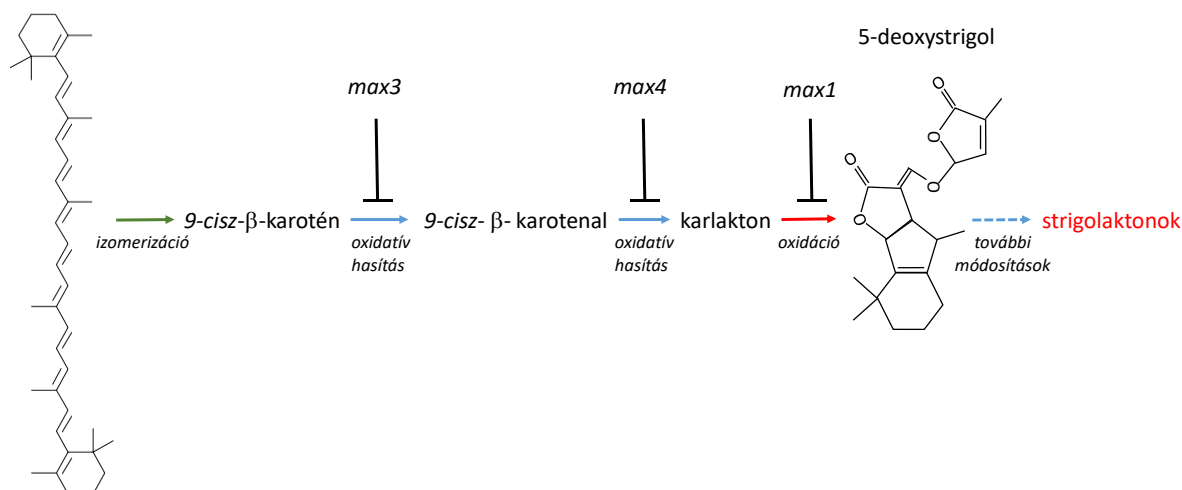
A strigolaktonok bioszintézise negatív feedback reguláció alatt áll, azaz a hormon egy szinten túl gátolja a saját szintézisét.

Strigolaktonok a gyökéren kívül a hajtásban is szintetizálódnak, de a gyökérből a hajtás felé irányuló transzportjuk is jelentős. A sejtről-sejtre történő transzportjuk mechanizmusa még nem tisztázott.



3.6.2. ábra A strigolaktonok általános szerkezete, és a szintetikus strigolakton, a GR24. (Fehér Attila ábrája)

(all)-*transz*- β -karotén

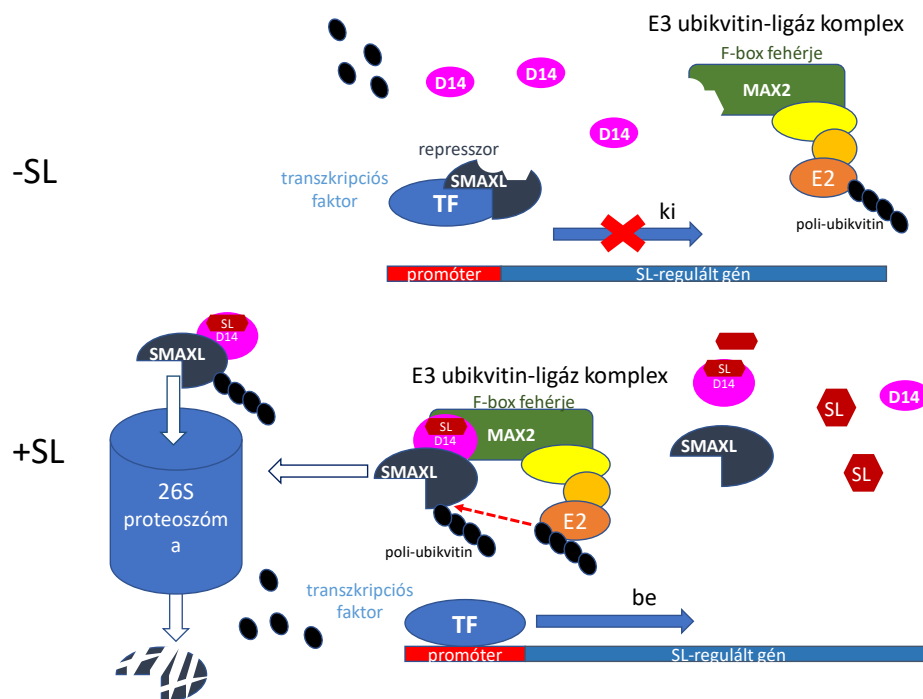


3.6.3. ábra A strigolakton bioszintézis főbb lépései. (Fehér Attila ábrája)

3.6.3. A strigolakton érzékelése és jelátvittele

Az *Arabidopsis max2* mutációja a strigolakton jelátvitelében okoz hibát (3.6.1. ábra). A mutáció hátterének azonosítása során kiderült, hogy a MAX2 gén terméke egy F-boksz fehérje, azaz a jelátvitel itt is fehérje ubikvitináció és lebontáson alapul, azaz de-repressziós mechanizmusú. A strigolaktonok érzékelése és jelátvittele a leginkább a gibberellinek jelátviteléhez hasonlít. A strigolaktont egy hidroláz fehérje, az *Arabidopsis D14* (illetve más növényekben ennek homológjai) köti, ami a strigolaktont hidrolizálva konformáció változáson megy keresztül és kapcsolódik a MAX2

fehérjéhez. Az így aktiválódó MAX2 a SUPPRESSOR OF MAX2 1-LIKE (SMAXL) jelű represszor fehérje degradációját indítja el egy E3 ubikvitin-ligáz komplex és a proteoszóma közreműködésével. Ez lehetővé teszi a strigolakton-regulált gének kifejeződését.



3.6.4. ábra. A strigolaktonok jelátvitelének vázlata. Strigolakton (SL) hiányában a SMAXL represszorok gátolják a SL-regulált gének átíródását, az azokat szabályozó transzkripció faktorokhoz kötődve. A SL hormon intracelluláris receptora a szolubilis D14 hidroláz. SL jelenlétében a D14 köti, majd hidrolizálja a SL molekulát, és közben konformáció változáson megy át. A hidrolizált SL-t kötő D14 komplexet képez a MAX2 F-boks fehérjével, ami az E3 ubikvitin ligáz komplex szubsztát felismerő komponense. A D14-MAX2 komplex szubsztátként ismeri fel a SMAXL represszort, ami így ubikvitinálódik és lebontódik, lehetővé téve a transzkripció faktorok kötődését a SL-regulált gének promóteréhez. (Fehér Attila ábrája)

3.6.4. A strigolakton, mint növényi hormon főbb funkció

A strigolaktonoknak már három fontos funkciójáról esett szó. Az egyik, hogy serkentik a gyökerparazita növények magjainak csírázását. Érdekes módon, ez a csírázás serkentő hatásuk meglehetősen specifikus. Más növények magjainak csírázást csak olyan speciális körülmények között serkentik, melyek egyébként hosszú ideig gátolnák a folyamatot. Arabidopsis esetében ilyen a magvak hőkezelése, aminek a csírázás gátló hatása strigolakton kezeléssel csökkenthető. A gyökerparaziták magjainak speciális strigolakton érzékenységét a receptor génjének megsokszorozódása eredményezte. Érdekes módon az erdőtüzek füstjében egy a strigolaktonokhoz hasonló molekulacsoport, a karrikinek, tagjai vannak jelen, melyek általánosan serkentik a növények magjainak csírázását. A karrikinek specifikus receptora a D14 homológja (D14L/KAI2), a MAX2 F-boks fehérje mindkét jelátvitelben közös, míg az Arabidopsisban a nyolc SMAXL/SMAXL represszor közül néhány specifikusan a strigolakton, néhány a karrikin jelátvitelben vesz részt.

A második már tárgyalt funkció az arbuszkuláris mikorrhiza gombákkal való kommunikáció, a harmadik pedig a hajtás és a gyökér elágazódásának gátlása. A hajtáselágazódás gátlásában (apikális dominancia) betöltött szerepükről részletesebben a 4.3.4. fejezetben lesz szó. Ebben a folyamatban az auxin és a citokinin hormonokkal, valamint a fotoreceptor fitokrómB-vel működnek együtt. Mint a gyökérben termelődő és a hajtásba transzportálódó hormonok, a citokininekhez hasonlóan, részt vesznek a

gyökér és hajtás közötti kommunikációban, és ezen szervek fejlődésének (elágazásának) a talajban rendelkezésre álló tápanyagokhoz (nitrogén, foszfor) való igazításában.

Az elmúlt években derült fény a strigolaktonoknak a növények abiotikus stresszválaszaiban betöltött szerepére. A strigolakton hiányos vagy jelátviteli mutánsok túlérzékenyek a só- és szárazság stresszre, ugyanakkor alacsony az abszcizinsavval szembeni érzékenységük, ami a két hormon kapcsolatára utal ezekben a folyamatokban.

Összefoglalás

1. A strigolaktonok karotenoid származékok, egy triciklusos és egy butenolid laktongyűrűvel rendelkező molekula család tagjai.
2. A gyökérben és a hajtásban is szintetizálódnak, de jelentős a gyökérből a hajtásba irányuló transzportjuk is. A gyökér a talajba is kiválasztja a strigolaktonokat.
3. A gazdanövény által a talajba kiválasztott strigolaktonok jelként szolgálnak a gyökérparazita növények magjai, valamint a szimbiotikus mikorrhiza gombák hifái számára is.
4. A strigolaktonok jelátvitelére a gibberellinekéhez hasonló típusú, a receptoruk egy intracelluláris hidroláz, a jelátvitel transzkripciós represszor fehérjék lebontásán alapul.
5. A strigolaktonokkal szerkezetileg rokon vegyületek a karrikinek, melyek erdőtüzek füstjében való jelenlétüknek köszönhetően segítik a magok kicsírázását az erdőtüzet követően. Jelátvitelük hasonló és részben átfed a strigolaktonokéval.
6. A strigolakton hormonok főbb biológiai funkciói:
 - arbuszkuláris mikorrhiza gombákkal való kommunikáció, hifa fonalak elágazódásának serkentése
 - gyökérparazita növények magjainak csírázását serkentik
 - gátolják a hajtás elágazódását (apikális dominancia fenntartása)
 - gátolják az oldalgyökerek fejlődését
 - az elérhető tápanyag (nitrogén, foszfor, fény) mennyiségnek megfelelően koordinálják a hajtás fejlődését, elágazódását
 - részt vesznek a növények abiotikus stresszekre adott válaszaiban (pl. só, szárazság)

Ellenőrző kérdések

1. Milyen folyamatok vizsgálata vezetett el a strigolaktonok felfedezéséhez?
2. Miért serkentik egyes növények a saját gyökérparazitáik magjainak csírázását?
3. Mi jellemző a strigolakton molekulákra?
4. Melyik másik növényi hormonra hasonlít a strigolaktonok érzékelése és jelátvitelére?
5. Hol szintetizálódnak a strigolaktonok?
6. Milyen kommunikációs folyamatokban vesznek részt a strigolaktonok?
7. Milyen folyamatokban van gátló és milyenekben van serkentő szerepe a strigolaktonoknak?
8. Mik azok a karrikinek?

Megvitatandó kérdések

1. Miért tekintjük a strigolaktonokat hormonoknak?
2. Milyen gyakorlati alkalmazása lehet a strigolakton kutatás eredményeinek?

Javasolt irodalom

1. Smith SM. What are strigolactones and why are they important to plants and soil microbes? *BMC Biol.* 2014;12(19).
2. Flematti GR, Dixon KW, Smith SM. What are karrikins and how were they 'discovered' by plants? *BMC Biol.* 2015; 13:108.

Felhasznált irodalom

1. X. Xie, K. Yoneyama, és K. Yoneyama, „The strigolactone story”, *Annu Rev Phytopathol*, köt. 48, o. 93–117, 2010.
2. C. E. Cook, L. P. Whichard, B. Turner, M. E. Wall, és G. H. Egley, „Germination of Witchweed (*Striga lutea* Lour.): Isolation and Properties of a Potent Stimulant”, *Science*, köt. 154, sz. 3753, o. 1189–1190, dec. 1966.
3. K. Akiyama és H. Hayashi, „Strigolactones: chemical signals for fungal symbionts and parasitic weeds in plant roots”, o. 925–931, 2006.
4. V. Gomez-Roldan, S. Fermas, és P. B. Brewer, „Strigolactone inhibition of shoot branching”, *Nature*, köt. 455, o. 189–194, 2008.
5. M. Umehara, A. Hanada, és S. Yoshida, „Inhibition of shoot branching by new terpenoid plant hormones”, *Nature*, köt. 455, o. 195–200, 2008.
6. R. Matusova, K. Rani, és F. W. Verstappen, „The strigolactone germination stimulants of the plant-parasitic *Striga* and *Orobanch* spp. are derived from the carotenoid pathway”, *Plant Physiol*, köt. 139, o. 920–934, 2005.

3.7. Fejezet Abszcizinsav

Írta: Dr. Csiszár Jolán

Az abszcizinsavat az ún. stresszhormonok közé sorolják. Kulcsszerepet játszik környezeti tényezők értékeinek szélsőséges változásai, többek között vízhiány, alacsony hőmérséklet vagy magas sókoncentráció esetén, és igen jelentős a növények növekedését és fejlődését befolyásoló hatása is. A növekedés negatív regulátorának tekintik, de a kép sokkal összetettebb. Meghatározó szereppel bír a növények teljes életciklusában a csírázástól a vegetatív növekedésen át a mag- és termésképzésig, öregedési folyamatokig. Az abszcizinsav - jelentőségénél fogva - több évtizede intenzív kutatások tárgya. A hatásmechanizmusáról, jelátviteléről rendelkezésre álló információk folyamatosan bővülnek. A fejezetben a jelenleg leginkább elfogadott mechanizmusok kerülnek ismertetésre.

Tanulási célkitűzések:

Tudás

- tisztában van vele, hogy az abszcizinsav olyan fejlődést is befolyásoló hormon, amely az abiotikus stresszválaszokban központi szereppel bír
- ismeri az abszcizinsav metabolizmusának meghatározó lépéseit
- tudja ismertetni az abszcizinsav főbb fiziológiai funkcióit
- érti az abszcizinsav érzékelésének és jelátvitelének lényegét

Képesség

- képes az abszcizinsav, mint növényi hormon, hatásainak felismerésére és kísérletes vizsgálatára

Attitűd

- nyitott az abszcizinsav, mint növényi hormon, mélyebb tanulmányozására,
- nyitott az abszcizinsav, mint növényi hormon, fiziológia hatásainak kísérletes vizsgálatára

Autonómia/felelősség

- önállóan érvel amellett, hogy az abszcizinsav olyan fontos növényi hormon, amelynek ismerete felhasználható a növények stressztoleranciájának fokozására

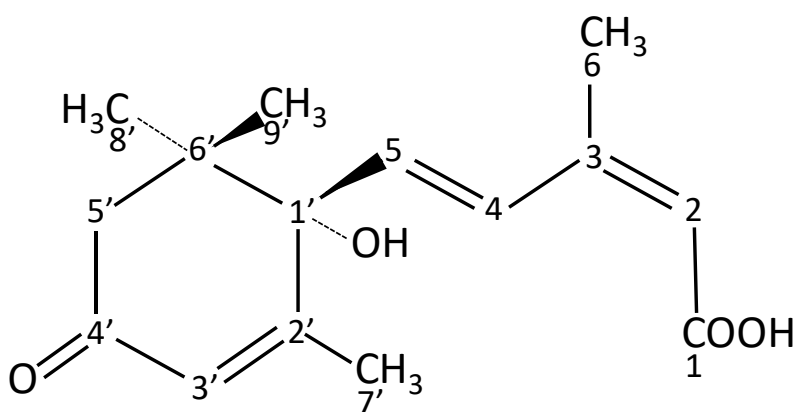
3.7.1. Az abszcizinsav felfedezése

Az auxin növekedés-serkentő hatásának vizsgálata során már a múlt század első felében kiderült, hogy az auxin-indukálta sejtmegnyúlás-, rügyfejlődés-, csírázás-serkentés gátlói is megtalálhatók a növényekben (1). Papírkromatográfiával elválasztott kivonatok növekedés-szabályozó hatását vizsgálva az 1950-es években megállapították, hogy egyes savas jellegű komponensek gátolják pl. a koleoptilok megnyúlását. Az abszcizinsavat több kutatócsoport is izolálta különböző növények növekedésgátló, öregedésszabályozó anyagainak azonosítása során az 1960-as években. (2). Az igen erős növekedésgátló anyagot β -inhibitornak, a platánból kivont, öregedést, nyugalmi állapotot elősegítő anyagot dorminnak, a csillagfürt hüvelyek leválását előidéző *Lupinus* inhibitorának, a gyapot terméslevélást (abszcissziót) indukálót abszcizin II-nek nevezték el. Kémiai szerkezetét 1965-ben azonosította Ohkuma és Addicott (1) és az abszcizinsav (ABS) nevet kapta, mivel úgy tartották, hogy elsődleges szerepe a levélleválás serkentésében van. Ma már tudjuk, hogy a felfedezésénél használt kísérleti elrendezésben a gyapot leveleket zárt térben tartották és a levélleválás serkentése elsődlegesen az adott körülmények között indukálódott etilén hatásának tulajdonítható (3). Mivel az ABS levélleválást közvetlenül nem idéz elő, funkcióját tekintve a dormin elnevezés pontosabb lehetne,

bár az elsőbbség alapján az abszcizinsav is elfogadható (1). Hamarosan kiderült, hogy bár a növekedést és fejlődést több módon is befolyásolja, az ABS központi regulátora az abiotikus stressz válaszoknak és stressz toleranciának, ideértve a szárazságot, alacsony hőmérsékletet és magas sókoncentrációt is (4, 5).

3.7.2 Az abszcizinsav előfordulása, kémiai szerkezete

Az ABS 15 C-atomos, szeszkviterpén szerkezetű molekula, a karotinoidok terminális részére emlékeztet (3.7.1. ábra). Az 1' pozícióban lévő aszimmetrikus C-atom S és R enantiomereket eredményez; a növényekben a természetes forma S. A 2. C-atom karboxil csoportjának orientációja szerint lehetnek *cisz*- és *transz* izomerek; a *cisz* a természetes és aktív izoforma. A természetben előforduló, fiziológiailag aktív forma tehát az (*S*)-*cisz*-abszcizinsav. A szerkezet-hatás összefüggés vizsgálatok azt mutatják, hogy a biológiai aktivitáshoz elengedhetetlen a –COOH, az –OH, a 2' pozícióban lévő –CH₃ csoport, valamint a gyűrűben lévő telítetlen kötés (3.7.1. ábra) (4).



3.7.1. ábra. A *cisz*-abszcizinsav képlete (Csizsár Jolán ábrája)

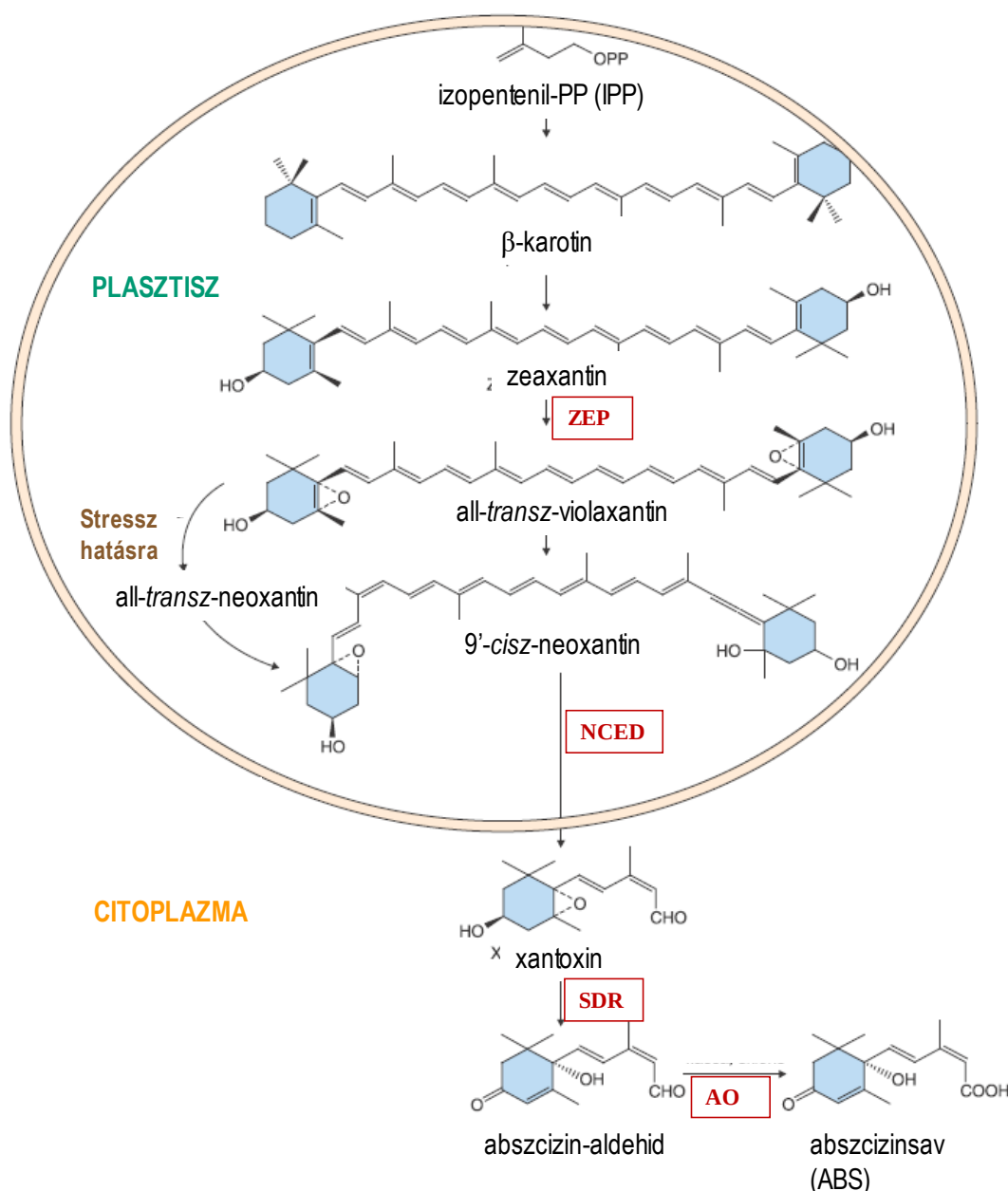
3.7.3 Az abszcizinsav metabolizmusa

3.7.3.1. Az ABS bioszintézise

Az abszcizinsav minden magasabbrendű növényi szövetben, különböző fejlődési állapotban előfordul. Koncentrációja általában alacsony, de gyorsan akkumulálódik pl. környezeti stresszek hatására (4, 5). Bioszintézisének érdekessége, hogy a terpenoid/karotinoid bioszintézissel részben közös útvonalon valósul meg 40 C-atomos (C40) vegyületekből. (Az ABS számos gombában is előfordul másodlagos anyagcsere-termékként. Mivel ott a mevalonsavból képződő 15 C-atomos termék átalakulásával keletkezik, azt a bioszintézis utat direkt útnak nevezik, a növényekben működött indirekt útvonalnak.) A bioszintézis a plasztiszban és a citoplazmában játszódik le. Minden sejtben szintetizálódhat, ahol van kloroplasztisz vagy amiloplasztisz, de pl. vízhiány esetén fokozott szintézis az edénynyalábokban és a zárósejtekben folyik (5).

A plasztiszokban glicerinaldehid-3-foszfátból és piroszőlősavból képződik az 5 C-atomos izopentenil pirofoszfát (IPP), majd többlépéses folyamatban a β-karotin (C40), amit 40 C-atomos molekula-átalakulások követnek (3.7.2. ábra). Ezek során végbemegy a zeaxantin kétlépéses epoxidációja, amit a zeaxantin epoxidáz (ZEP) enzim katalizál. A 9-*cisz*-violaxantin vagy a 9'-*cisz*-neoxantin oxidatív hasításával, a 9-*cisz*-epoxikarotinoid dioxigenáz (NCED) enzim közreműködésével keletkezik a 15 C-atomos xantoxin. A xantoxin a citoszolban több úton alakulhat abszcizinsavvá. A legáltalánosabb az abszcizin aldehiden keresztüli útvonal, amelynek első lépését egy rövidláncú aldehid

dehidrogenáz/reduktáz (SDR) enzim, a másodikat egy szulfurilált molibdén kofaktort (MoCo) tartalmazó aldehyd oxidáz (AO) katalizálja (3.7.2. ábra).



3.7.2. ábra. Az abszcizinsav bioszintézisének főbb lépései növényekben. Rövidítések: IPP= izopentenil pirofoszfát, ZEP = zeaxantin epoxidáz, NCED = 9'-*cisz*-epoxikarotinoid dioxigenáz, SDR = rövidláncú dehidrogenáz/reduktáz, AO = aldehyd oxidáz (3 alapján módosítva, a kiadó engedélyével).

A bioszintézis út felderítését és szabályozásának megismerését különböző mutánsok és az adott fehérjéket kódoló gének izolálása segítette. Pl. az *Arabidopsis aba1* és a dohány *aba2* mutánsok a ZEP génben, a kukorica *vp14* és paradicsom *notabilis* mutánsok az NCED, az *Arabidopsis abi2* az SDR családba tartozó génben szenvedtek mutációt (2). Az NCED által katalizált reakció a legtöbb esetben az ABS bioszintézis sebességhatározó lépése (6). Az *Arabidopsis* genom 9 NCED gént kódol. Expressziós mintázatuk stresszhatástól és fejlődési állapottól függően eltér; míg pl. az *AtNCED3* szárazságstressz hatására indukálódik, az *AtNCED6* és -9 expressziójának növekedése a magvakban idéz elő ABS-tartalom emelkedést (3, 5). Hasonlóan, az *Arabidopsis aba3* és *aao3*, valamint a

paradicsom flacca és sitiens mutánsok segítségével sikerült az AO enzim és a MoCo szintézis jelentőségét az ABS bioszintézisben megismerni és szabályozásukat tanulmányozni (2). Az ABS bioszintézis mutánsok közös jellemzője a hervadékonny fenotípus és sok esetben a magnyugalom elmaradása, a magok idő előtti csírázása a termésben (4, 7). A bioszintézis enzimeinek növekvő expressziója pár óra alatt 50-szeres ABS-szint emelkedést okozhat a szövetekben. Míg az NCED minden szövetben indukálódhat stressz hatására, a ZEP a magban, illetve víz-stressz esetén a gyökérben indukálódik.

Az ABS mind a xilémben mind a floémában kimutatható, hosszú távú transzportja mindkét szállítószövetben lehetséges. Rövid távú transzportjában mind diffúzió mind különböző transzporterek szerepet játszanak. Mivel az ABS gyenge sav, protonált formája membrán-permeábilis. Az apoplastban nagyrészt protonált, a citoplazmában anionos formában van jelen. Az ABS sejtmembránon való átjutását, az edénynyaláb sejtekből, illetve a sztóma zárósejtekből való kijutást, illetve bejutást különböző efflux és import transzporterek segítik.

3.7.3.2. Az ABS inaktiválódása

Az endogén ABS-szint szabályozásában a szintézisen kívül fontos az inaktiválódás mértéke (konjugáció glükózzal, aminosavakkal), illetve az oxidatív degradáció inaktív anyagokká (8'-hidroxi-ABS, fazeinsav, dihidrofazeinsav) (4, 6), sőt ezeket tartják az ABS-szint legfontosabb in vivo szabályozóinak (5). Ezek a mechanizmusok biztosítják, hogy pl. a stressz megszűnése után az ABS mennyisége gyorsan csökkenjen, és így jelátviteli szerepet tölthessen be (2). Az ABS oxidatív degradációjának első lépését katalizáló enzimek közül a legfontosabb a 8'-hidroxiláz, amely egy membránhoz kötött citokróm P450 mono-oxigenáz. Expressziója, aktivitása az abiotikus stressz megszűnése után gyorsan nő. A szabad ABS mennyiségének emelkedését biztosító egyik leggyorsabb folyamat az ABS- β -D-glükozil észter hidrolízise (2).

3.7.4. Az abszcizinsav érzékelése és jelátvitel

Bár sokáig feltételezték, hogy az ABS-nek sejt felszíni receptora is van, az ABS membránon való gyors átjutása ezt nem is teszi indokolttá (5). A mai álláspont szerint a növényi sejtekben csak intracelluláris ABS receptor van (lásd 3.1.3.). 2009-ben két kutatócsoport egymástól függetlenül számolt be szolubilis, intracelluláris ABS receptorokról, ami a PYR/PYL/RCAR elnevezést kapta (8, 9). (Park és mtsai az ABS-hez hasonlóan csírázásgátló hatású pirobaktin vegyülettel szemben rezisztens Arabidopsis mutánsokban azonosították a PYR1, PYROBACTIN-RESISTANCE 1 fehérjét, és további 13 homológ fehérjét, amelyek rövidítése PYL. Ma és mtsai az ABA jelátvitelben résztvevő ABI2 foszfatázal végzett élesztő kéthibrid kísérlet során azonosították ugyanezeket a fehérjéket és nevezték el „REGULATORY COMPONENTS OF ABA RECEPTOR”, RCAR-nak.)

A PYR/PYL/RCAR fehérjék egy központi hidrofób ligand-kötő hellyel rendelkeznek (5). A 3. ábrán látható egyszerűsített modell bemutatja az ABS jelátvitel korai lépéseinek legfontosabb fehérjéit, az ABA receptort, ko-receptorokat, kinázokat és a főbb mechanizmusokat. Az ABS jelátvitel további komponenseit elsősorban Arabidopsis mutánsok segítségével sikerült megismerni. Az ABI1 és ABI2 (ABA INSENSITIVE1 és -2) fehérjék a PP2C foszfoprotein foszfatázok közé tartoznak, az ABS jelátvitel negatív szabályozói. ABS jelenléte nélkül aktívak és különböző kinázokat gátolnak, így befolyásolva a további jelátviteli folyamatokat. A kinázok közül kulcsszerepet töltenek be az SnRK protein kinázok (SUCROSE NON-FERMENTATION RELATED KINASE = SnRK). Arabidopsisban 3 SnRK2 családba tartozó kináz játszik pozitív regulátorként központi szerepet az ABS jelátvitelben (5).

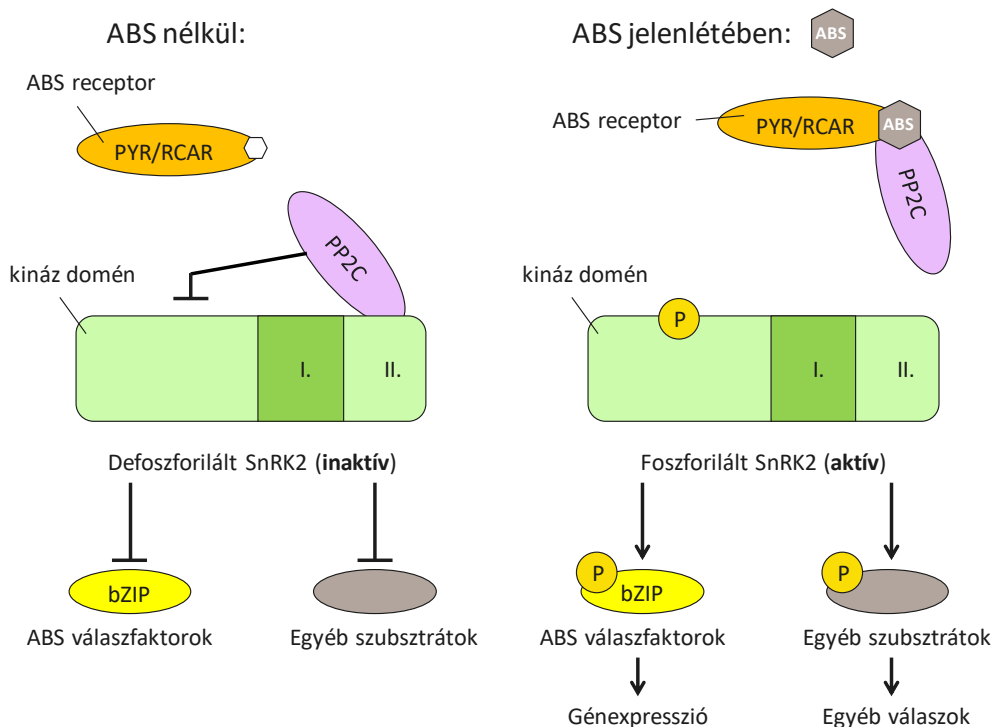
ABS jelenlétében az ABS-kötött PYR/PYL/RCAR fehérjék kölcsönhatnak a PP2C enzimekkel és gátolják azok aktivitását, így az SnRK2 kinázok aktiválódnak és specifikusan foszforilálnak fehérjéket (3.7.3. ábra). A célfehérjék közül ismertek pl. az ABI5 és ABF/AREB (ABRE binding factor, az ABRE

válaszelemmel kölcsönható fehérje) transzkripció faktorok, a SLAC1 (SLOW ANION CHANNEL-ASSOCIATED1) és KAT1 (K⁺ CHANNEL IN ARABIDOPSIS THALIANA, inward-rectifying K⁺ channel) ioncsatornák, a reaktív oxigénformák (reactive oxygen species, ROS) képződésében fontos NADPH oxidáz (RESPIRATORY BURST OXIDASE HOMOLOG F, RbohF) (5). Ezeknek a célfehérjéknek a foszforilálása közvetíti az ABS hatását gének expressziójának, ioncsatornák működésének szabályozásán vagy másodlagos jelátvivőkön (mint pl. ROS) keresztül (5).

3.7.5. Az abszcizinsav biológiai funkciói

3.7.5.1. Az ABS szerepe a magvak és rügyek nyugalmi állapotának kialakításában

Az ABS szabályozza az embriófejlődést, a magok érését, a fejlődő magok tápanyag-felhalmozását, elősegíti a kiszáradás elleni tolerancia kialakulását, gátolja a GS-indukált enzim-termelődést, megakadályozza az idő előtti csírázást.



3.7.3. ábra. Az abszcizinsav (ABS) jelátvitel egyszerűsített modellje. ABS nélkül a PP2C foszfatázok gátolják az SnRK2 kinázokat, így blokkolják a további jelátviteli folyamatokat. ABS jelenlétében a PYR/PYL/RCAR receptorok kölcsönhatnak a PP2C ko-receptorokkal és gátolják azok aktivitását, így az SnRK2 kinázok foszforilálással aktiválhatják az ABS jelátvitel további elemeit. Használt rövidítések: PYR/PYL/RCAR = ABS receptor, PP2C = ABS ko-receptor protein foszfatáz 2C, SnRK2 = protein kináz (sucrose non-fermentation related kinase2). (Pécsvárad Attila ábrája)

Néhány trópuson élő növényfaj kivételével megfigyelhető a növekedés szünetelésének periódusa, amit nyugalmi állapotnak nevezünk (4). A nyugalmi állapotra való képesség a törzsfejlődés során a környezethez való alkalmazkodás eredményeként alakult ki. Egyes esetekben a nyugalmi állapot csak a növény bizonyos részeire, akár egy szervre korlátozódik, azonban a többéves fajoknál kiterjedhet az egész növényre, az egyéveseknél pedig a nyugalmi állapot a magra vonatkozik. Az ABS elősegíti a rügyek nyugalmi állapotának kialakulását és gátolja növekedésüket, hatása azonban függ más hormonok jelenlététől. Rügyek esetében elsősorban a növekedést indukáló citokininnek és gibberellinek

menyisége, illetve az ABS-hez viszonyított arányuk a meghatározó (4, 5). A magok esetében a nyugalmi állapot meghatározza a csírázás időpontját is. Bár ezt a folyamatot is több hormon kölcsönhatása befolyásolja, a magnyugalmi állapot kialakulásában/megszűnésében gyakran az ABS/gibberellin arány a legfontosabb (lásd még 4.2.1.). A magok ABS tartalma az embriogenezis korai szakaszában általában alacsony, de az embrió fejlődésével fokozatosan nő kb. közepes magfejlettségig. Az ABS szintje az érés során csökken, azonban a kiszáradás során ismét megemelkedik. Általános hatása az embrionikus szövetekben a növekedés lassítása vagy teljes gátlása, a nem-embrionikus szövetekben a csírázáshoz szükséges enzimek szintézisének a gátlása (például az árpa aleuron rétegében a hidrolázok, a saláta magvak endospermiumában a sejtfal mannóz alkotórészeit bontó mannáz szintézisének gátlása) (4, 5). A legmagasabb ABS koncentráció a magokban a legintenzívebb tápanyag felhalmozódás idején van. Az ABS a fejlődő embrióban, éretlen magokban specifikusan serkenti a raktározott fehérjék génjeinek expresszióját. Emellett az ABS gátolja az érés előtti csírázást, az embriókultúrákban az embriogén állapot fenntartását segíti (4).

3.7.5.2. Az ABS az abiotikus stresszválasz fontos szabályozója

Az ABS gyökérnövekedést indukál és szármegnyúlást gátol alacsony vízpotenciál esetén, serkenti a járulékos gyökérképzést, zárja a sztómákat a víz-stresszre adott válaszban. Vegetatív szövetekben antioxidáns védekezési mechanizmusokat aktivál.

Az abszcizinsavat gyakran stresszhormonnak is nevezik a szárazság-, só- és hidegstressz tűrésében játszott szerepe miatt (4, 5). Mindhárom környezeti tényező hat az ozmotikus viszonyokra és reaktív oxigénformák mennyiségének emelkedéséhez vezet, azonban specifikus hatásuk is van, így a kialakult válasz is részben eltér (5). Az ABS víz-stressz hatására rendkívül gyorsan akkumulálódik és a stressz megszűnésekor szintje gyorsan csökken (10). Szárazság hatására az ABS koncentrációja akár 50-szeresére is megnövekedhet, ami a környezeti tényezők által kiváltott hormonszint növekedések közül a legmagasabb (5).

Az ABS talán legismertebb hatása a sztómazárás előidézése, amellyel a további párologtatást, vízvesztést igyekszik elkerülni a növény. Az ABS Ca^{2+} -függő és Ca^{2+} -független jelátviteli útvonalakon, komplex módon szabályozza a sztóma zárósejtek turgorváltozását (11). ABS hatására a citoszolikus Ca^{2+} koncentráció megemelkedik, amit több mechanizmus is elősegít (emelkedett foszfatidsav-, ROS- és NO képződés, a további folyamatokban, másodlagosan megemelkedett inozitol trifoszfát és ciklikus ADP-ribóz közreműködésével újabb, Ca^{2+} -aktivált Ca^{2+} -felszabadulás). Az akár extracelluláris, akár sejten belüli Ca^{2+} -raktárakból (ER, vakuólum) származó Ca^{2+} anion efflux csatornákat aktivál. A Cl^- és malát anionok kiáramlása mind tranziens gyors, mind elhúzódó membrán depolarizációt eredményez. A membrán depolarizációhoz a plazmamembrán H^+ -ATP-áz gátlása is hozzájárul. A megemelkedett pH és Ca^{2+} szint gátolja a befelé irányító K^+ csatornákat, míg a kifelé irányuló K^+ csatornák a membrán depolarizáció hatására nyitódnak. A K^+ kiáramlik, a sztóma zárul (4, 11).

A sztóma nyitódásához a zárósejtek plazmamembrán H^+ -ATP-ázainak aktiválására van szükség. Ilyen hatása a kék fénynek van, amely foszforilálás indukálásával aktiválja a H^+ -ATP-ázokat és membrán hiperpolarizációt idéz elő. A membrán hiperpolarizáció a befelé irányuló K^+ csatornákon keresztül a K^+ beáramlását eredményezi, amit anionok (Cl^- , NO_3^-) felvétele követ, és a keletkező maláttal együtt a zárósejt turgorának, térfogatának növekedését idézi elő. Az ABS azonban a befelé irányuló K^+ csatornák és a plazmamembrán H^+ -ATP-áz gátlásával akadályozza a sztómák nyitódását is (11).

Bár az ABS a sztóma zárósejtekben is szintetizálódik, a gyökérben szintetizálódó ABS a xilémbe felfelé áramolva eljut a levelekbe is. Vízstressz esetén a lúgosodó xilémnedv (pH 6,3 $\rightarrow$ pH 7,2) is hozzájárul, hogy a levélben az ABS eloszlása a disszociált forma arányának eltolódása miatt megváltozik: kevesebb ABS lép be a mezofillum sejtekbe, több jut el a zárósejtekig. Az ABS azonban nemcsak a transzspiráció

csökkentésével szabályozza a turgort, hanem a gyökérszövetek vízfelvételének fokozásával is (4). Növeli a gyökér hidraulikus konduktivitását és fokozza az ionok felvételét, így nő a talaj és a gyökerek közötti vízpotenciál különbség. Ezen kívül az ABS a főgyökér növekedését elősegíti, az oldalgyökerek képződését serkenti, ugyanakkor gátolja a hajtás növekedését. Ezáltal segíti a növényt a vízstressz, az aszály elviselésében (4).

Az ABS szerepét a stressztűrés fokozásában bizonyították különböző abiotikus stresszek, mint alacsony- és magas hőmérséklet, só-, nehézfémek és UV stressz esetén is (7). Az ABS bioszintézisének kulcs enzimeit kódoló gének expressziójára az egyes faktorok különbözőképpen hatnak (lásd 3.7.3.1.), de a hormon szintje stressz hatására általában nő. Az ABS a vegetatív szövetekben aktiválja a növények védekező mechanizmusait. Számos *cisz*- és *transz*-ható regulációs elem közvetíti az ABS-indukálta génexpressziós változásokat (pl. ilyen ABS válaszelem az ABRE = abscisic acid response element, a transzkripció faktorok közül ismert az ABF, ABI5 vagy WRKY család több tagja). Az ABS másodlagos jelátvivőkön keresztül is szabályozza a stresszválaszt. A NADPH oxidázra hatva a ROS (H_2O_2) mennyiségét emeli, és részben ez által, illetve az ABS jelátviteli mechanizmuson keresztül fokozza az antioxidáns enzimek expresszióját, aktiválja a nem-enzimatisz védelmi rendszereket (7). Arabidopsis csíranövényekben a gének kb. 10%-a bizonyult ABS által reguláltnak (az ABS-indukált és -represszált gének aránya közel azonos volt) (12).

3.7.5.3. Az ABS befolyásolja az öregedést, virágzást indukálhat

Az ABS elősegíti a levélöregedést az etiléntől függetlenül is. Néhány faj esetében kiváltja a szervek leválását; az etilén bioszintézis fokozása mellett a fehérjék és nukleinsavak lebontását végző hidrolázok mennyiségét is emeli. Néhány esetben helyettesíti a rövid nappal hatását, például virágzást indukál nem induktív feltételek között (4).

3.7.6. Az abszcizinsav kimutatása

A növények abszcizinsav tartalmának meghatározására - megfelelő tisztítás után – használható gázkromatográfia, HPLC, tömegspektrometria, spektropolarimetria és immunológiai teszteljárások (4). A biológiai hatáson alapuló tesztek: koleoptil növekedésgátlási teszt, csírázásgátlási teszt, gibberellin-indukált α -amiláz szintézis gátlási teszt, sztómazárási (*Commelina*) teszt, levélleválást serkentő teszt és specifikus génexpressziós tesztek.

Összefoglalás

1. Az abszcizinsav egy 15 C-atomos szeszkviterpén vegyület, fiziológiailag aktív formája az (S)-*cisz*-abszcizinsav. Biológiai aktivitásához szükséges a $-COOH$, az $-OH$, a 2' pozícióban lévő $-CH_3$ csoport és a gyűrűben lévő telítetlen kötés.
2. Az ABS bioszintézis a plasztiszban kezdődik, ahol az 5 C-atomos izopentenil pirofoszfátból (IPP) a karotinoid bioszintézis utat követve, 40 C-atomos vegyületek keletkezésén keresztül több lépésben alakul a 15 C-atomos xantoxinná. A xantoxin a citoplazmába jutva további oxidációs átalakulásokon megy át; legáltalánosabb az abszcizin aldehid köztiterméken keresztüli útvonal. Különböző abiotikus stresszek specifikusan indukálnak egyes bioszintézis enzimeket.
3. *In vivo* az ABS-szint nagyon fontos szabályozási mechanizmusai a glükózzal vagy aminosavakkal történő konjugációja, és oxidatív degradációja inaktív anyagokká.

4. Bár az ABS szintézis minden plasztiszt tartalmazó sejtben történhet, szárazság esetén elsődlegesen az edénynyalábokban és a zárósejtekben képződik.
5. Hosszú távú transzportja mindkét szállítószövetben lehetséges. Víz-stressz esetén a xilémén keresztül eljuthat a gyökérből a sztóma zárósejtekig. Rövid távú transzportja történhet diffúzióval, efflux és import transzporterek segítségével.
6. Az ABS receptora az intracelluláris, szolubilis PYR/PYL/RCAR fehérje, ko-receptora PP2C foszfatáz. A PP2C foszfoprotein foszfatázok az ABS jelátvitel negatív szabályozói. ABS nélkül a gátolják az SnRK2 kinázokat, így blokkolják a további jelátviteli folyamatokat. Ha a PYR/PYL/RCAR receptorok központi hidrofób ligand-kötő helyére ABS kötődik, a receptorok kölcsönhatnak a PP2C koreceptorokkal és gátolják azok aktivitását. Az SnRK2 kinázok foszforilálással aktiválhatják az ABS jelátvitel további elemeit. Az SnRK2 kinázok célfehérjéi között vannak transzkripció faktorok, ioncsatornák, ROS keletkezéséhez vezető enzimek.
7. Az abszcizinsav legfontosabb fiziológiai funkciói:
 - szabályozza az embriófejlődést, a magok érését
 - serkenti a fejlődő magok tápanyag-felhalmozását
 - szerepe van a mag és a rügyek nyugalmi állapotának kialakításában
 - elősegíti a kiszáradás elleni tolerancia kialakulását
 - gátolja a GS-indukált enzim-termelődést
 - megakadályozza az idő előtti csírázást
 - zárja a sztómákat és akadályozza a sztómák nyitódását (szabályozza a sztómazárósejtek turgorváltozását, a K^+ és H^+ , Cl^- és NO_3^- mozgását, a malát szintézisét és mozgását)
 - alacsony vízpotenciál esetén gyökérnövekedést indukál és szármegnyúlást gátol
 - serkenti a járulékos gyökérképzést
 - vegetatív szövetekben aktiválja a növények védekező mechanizmusait
 - elősegíti a levélöregedést (az etiléntől függetlenül)
 - kiváltja a szervek leválását (csak néhány faj esetén)
 - virágzást indukál néhány rövid nappalos növénynél nem-induktív feltételek között

Ellenőrző kérdések

1. Hol helyezkedik el az ABS receptora?
2. Melyek az ABS jelátvitel főbb lépései?
3. Hogyan alakul az ABS szintje a magvak fejlődése során?
4. Milyen hatása van az abszcizinsavnak a magfejlődésben?
5. Milyen szerepe van az ABS-nek a mag nyugalmi állapotának kialakulásában
6. Hogyan hat az ABS a sztómák működésére?
7. Mit jelent, hogy az ABS „stresszhormon”?
8. Hogyan befolyásolja az ABS a növekedést?

Megvitatandó kérdések

1. Milyen szempontból tekinthető az abszcizinsav konjugációja, illetve oxidációja a hormonszint kialakításában fontosabb mechanizmusnak, mint a bioszintézise?
2. Miért fontos, hogy az ABS-nek van gyors és hosszabb távú hatása is?
3. Ha az ABS az abiotikus stresszválasz központi szabályozója, miért nem alkalmazzák a mezőgazdaságban a stressztűrés növelése céljából?

Javasolt irodalom

1. Erdei László (szerk.). Növényélettan – Növekedés - és fejlődésélettan. JATEPress Szeged, Magyarország, 2011, o. 241-260.
2. B.B. Buchanan, W. Gruissem és R.L. Jones (Szerk.), Biochemistry and molecular biology of plants. 2. kiadás. American Society of Plant Biologists, 2015, o. 777-785.
3. R. Jones, H. Ougham, H. Thomas és S. Waaland (Szerk.), The molecular life of plants. Wiley-Blackwell, American Society of Plant Biologists, 2013, o. 356-359.

Felhasznált irodalom

1. K. Dörffling, The discovery of abscisic acid: A retrospect, *J. Plant Growth Regul.*, köt. 34, sz. 4, o. 795-808, 2015.
2. B.B. Buchanan, W. Gruissem és R.L. Jones (Szerk.), Biochemistry and molecular biology of plants. 2. kiadás. American Society of Plant Biologists, 2015, o. 777-785.
3. R. Jones, H. Ougham, H. Thomas és S. Waaland (Szerk.), The molecular life of plants. Wiley-Blackwell, American Society of Plant Biologists, 2013,
4. Erdei László (Szerk.), Növényélettan – Növekedés - és fejlődésélettan. JATEPress Szeged, Magyarország, 2011, o. 241-260.
5. J. Li, Y. Wu, Q.Xie és Z. Gong, Absciscic acid. In: S.M. Smith, C.Li, J. Li (Szerk.), Hormone metabolism and signalling in plants. Academic Press, U. S. A., 2017, o. 161-202.
6. E. Nambara és A. Marion-Poll, Absciscic acid biosynthesis and catabolism, *Ann. Rev. Plant Biol.*, köt. 56, o. 165-185, 2005.
7. K. Vishwakarma, N. Upadhyay, N. Kumar, G. Yadav, J. Singh, R.K. Mishra, V. Kumar, R. Verma, R.G. Upadhyay, M. Pandey és S. Sharma, Absciscic acid signaling and abiotic stress tolerance in plants: A review on current knowledge and future prospects, *Front. Plant Sci.*, köt. 20, sz. 8, o. 161, Feb 2017.
8. Y. Ma, I. Szostkiewicz, A. Korte, D. Moes, Y. Yang, A. Christmann és E. Grill, Regulators of PP2C phosphatase activity function as abscisic acid sensors, *Science*, köt. 22, sz. 324(5930), o. 1064-1068, 2009.
9. S.Y. Park, P. Fung, N. Nishimura, D.R. Jensen, H. Fujii, Y. Zhao, S. Lumba, J. Santiago, A. Rodrigues, T.F. Chow, S.E. Alfred, D. Bonetta, R. Finkelstein, N.J. Provart, D. Desveaux, P.L. Rodriguez, P. McCourt, J.K. Zhu, J.I. Schroeder, B.F. Volkman és S.R. Cutler, Absciscic acid inhibits type 2C protein phosphatases via the PYR/PYL family of START proteins, *Science*, köt. 22, sz. 324(5930), o. 1068-1071, 2009.
10. J.A. Zeevaart, Changes in the levels of abscisic acid and its metabolites in excised leaf blades of *Xanthium strumarium* during and after water stress, *Plant Physiol.*, köt. 66, sz. 4, o. 672–678, 1980.

11. T.H. Kim, M. Bohmer, H. Hu, N. Nishimura és J.I. Schroeder, Guard cell signal transduction network: advances in understanding abscisic acid, CO₂ and Ca²⁺ signaling, *Ann. Rev. Plant Biol.*, köt. 61, o.561-591, 2010.
12. J.L. Nemhauser, F. Hong és J. Chory, Different plant hormones regulate similar processes through largely nonoverlapping transcriptional responses, *Cell*, köt. 126, o. 467-475, 2006.

3.8. Fejezet Etilén

Írta: Dr. Csiszár Jolán

Az ebben a fejezetben tárgyalt etilén képződését, felhalmozódást és transzportját tekintve is eltér az eddig megismert növényi hormonoktól. A kétszénatomos, gáz-halmazállapotú vegyület is a növényi anyagcsere természetes terméke, amely növekedésüket és fejlődésüket sokrétűen befolyásolja. Mennyisége mind abiotikus mind biotikus stresszhatásokra megnő, központi szerepet tölt be a környezeti stresszhez történő alkalmazkodásban. A fejezetben a jelenleg leginkább elfogadott jelátviteli út és hatásmechanizmusok kerülnek bemutatásra. A növényekre gyakorolt élettani hatás mellett a fejezet betekintést nyújt az etilén mezőgazdasági, élelmiszeripari felhasználási területeire, jelentőségére is.

Tanulási célkitűzések:

Tudás

- tudja, hogy az etilén olyan fejlődést befolyásoló hormon, amely az abiotikus és biotikus stresszválaszokban is központi szereppel bír
- tisztában van az etilén metabolizmusának sajátosságaival
- ismeri az etilén bioszintézisének meghatározó lépéseit
- érti az etilén érzékelésének és jelátvitelének lényegét
- tudja ismertetni az etilén főbb fiziológiai funkcióit
- érti az etilén szerepét az öregedés és a termésérés szabályozásában

Képesség

- képes az etilén, mint növényi hormon, fiziológiai hatásainak felismerésére és vizsgálatára

Attitűd

- nyitott az etilén, mint növényi hormon, mélyebb tanulmányozására,
- nyitott az etilén, mint növényi hormon, fiziológia hatásainak kísérletes vizsgálatára

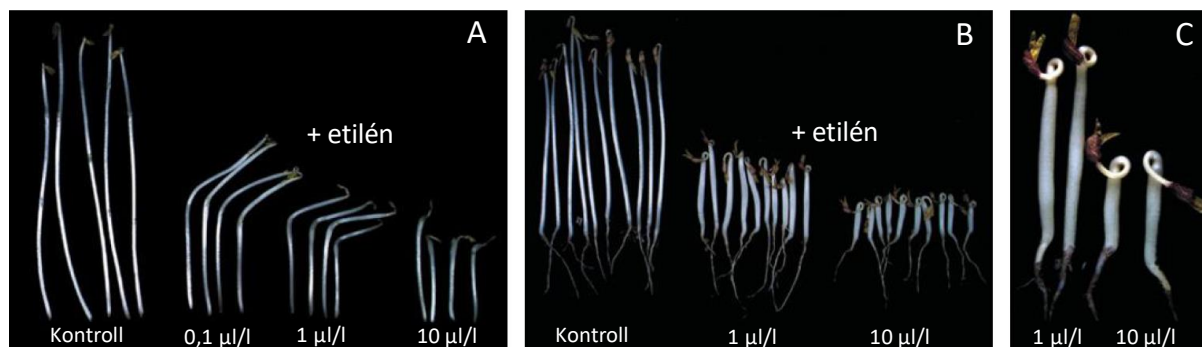
Autonómia/felelősség

- önállóan érvel amellett, hogy az etilén gáz miért tekinthető növényi hormonnak és hogyan használható fel ez a tudás a gyakorlatban

3.8.1. Az etilén felfedezése

Az etilén, mint növényi növekedésszabályozó felfedezése a környezetben véletlenül felhalmozódó etilénnek a növényekre gyakorolt hatásának köszönhető. Már az 1850-es években megfigyelték, hogy a világító gázzal működő utcai lámpák mellett a fák gyorsabban hullatták levelüket (1, 2). A világító gáz és a füst hatását számos növényen megfigyelték a 19. sz. második felében és a 20. sz. első évtizedében. Dmitrij Neljubov, egy szentpétervári fiatal botanikus bizonyította, hogy a világító gáz aktív komponense az etilén, amely a borsó csíranövények növekedésének jellegét megváltoztatja. Etilén-kezelés hatására az etiolált borsó csíranövények epikotiljának hossza csökken, viszont szélesebb lesz és az epikotil növekedésének iránya is módosul (3). Ezt a jelenséget (3.8.1. ábra) nevezték el később „hármasszövegnek” (1, 2). Herbert Cousins számolt be 1910-ben először arról, hogy gombafertőzött narancs terméséből felszabaduló gáz elősegíti a banán érését, de az etiléntermelést a gombafertőzés következményének tekintette. Azt, hogy a növényi szövetek képesek etilént termelni, 1934-ben mutatta ki Richard Gane almából, majd azt követően több gyümölcs esetén is bizonyította (2). Az ismert fiziológiai hatások alapján Crocker és munkatársai már 1935-ben arra következtettek, hogy az

etilén a növényekben hormonként funkcionál (4), így vált az elsőként leírt gáz halmazállapotú hormonná. Az etilén, mint általános növekedésszabályozó kutatása az alacsony koncentrációk kimutatását lehetővé tevő gázkromatográfiás eljárás alkalmazása után került ismét előtérbe (5). Mai ismereteink szerint az etilén szintézisére a magasabbrendű növények minden sejtje képes. Egyes baktériumok, gombák, mohák és alacsonyabbrendű hajtásos növények is szintetizálnak etilént (1).



3.8.1. ábra. Növekvő etilén koncentráció hatása etiolált borsó (A) és mungóbab (B, C) csíranövényekre. Sötétben nőtt hat napos borsó (*Pisum sativum*) és négy napos mungóbab (*Vigna radiata*) csíranövények 0,1-10 µl/l etilénnel kiegészített légtérbe helyezés után két nappal. Közepes etilén koncentráció esetén a borsó epikotilok a vízszinteshez közelítő irányba elhajlanak (diageotropizmus), a növények rövidebb, de szélesebb epikotillal rendelkeznek. Az etilén-kezelt mungóbab csíranövényeken megfigyelhető a tipikus „hármás válasz”: a hipokotil longitudinális növekedésgátlása, oldalirányú kiterjedésének növelése (laterális expanszió), a hipokotil kampó extra görbülete (6, a kiadó engedélyével).

3.8.2. Az etilén előfordulása, kémiai tulajdonságai

Az etilén gáz halmazállapotú, két szénatomos telítetlen szénhidrogén, összegképlete C_2H_4 . A levegőnél könnyebb, gyúlékony, gyorsan oxidálódó olefin. A membránokon képes átdiffundálni; a lipidfázisban oldódik, diffúziója folyadékban lassabb. Mivel diffúzióval kijut a környezetébe és más növényre is kifejtheti hatását, feromonnak is tekinthető (5). Szinte minden növényi szövetben termelődik. Mennyisége kifejlődött szervekben kevés, de szintézise megemelkedik sebzés és más stresszek (pl. árasztás, szárazság, sóstressz, hidegkezelés, ózon, nehézfémkezelés és biotikus stresszek) hatására, termésérés (különösen az ún. klimakterikus érésű = „utóérő” termésekben, lásd 4.2.2.), öregedés és abszcisszió során (5). A vegetatív szervekben az etilén gátolja saját szintézisét, az öregedő szervekben, termésérésnél autokatalitikus serkentés figyelhető meg. A stresszhormonok közé sorolható, de keletkezését más hormonok (pl. auxin, gibbrellin, abszcizinsav, brassinoszteroid) is jelentősen befolyásolják.

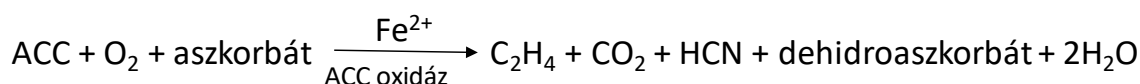
3.8.3. Az etilén metabolizmusa

Az etilén bioszintézise a metionin (Met) aminosavból származó S-adenozilmetioninból (SAM) történik 1-aminociklopropán-1-karbonsav (ACC) köztesterméken keresztül 2 enzimatis lépésben (3.8.2. ábra). Az etilén a metionin 3. és 4. C-atomjából származik. A növényi szövetek állandó, nem túl magas Met szinttel rendelkeznek, ezért rendkívül fontos a redukált kén metioninba történő újbóli beépülése. A bioszintézis lépéseit Adams és Yang tisztázta (7), a teljes ciklus a Yang-ciklus nevet kapta.

Az etilén szintézis sebességmeghatározó lépése az ACC S-adenozilmetioninból történő szintézise, amelyet az ACC szintáz katalizál. Ez az enzim tekinthető az etilén bioszintézis legfőbb regulátorának (6). Az enzim működése gátolható aminoetoxi-vinilglicin (AVG) és aminoetoxi-ecetsav (AOA) gátlószerekkel, melyek piridoxál-foszfát enzim inhibitorok (1). Az ACC szintáz fehérje rendkívül instabil, rövid félféltidővel (20 perc - 2 óra) rendelkező citoszolikus enzim. Az ACC szintázt serkenti a termésérés,

virágöregedés, IES, sérülés, fagyás, szárazságstressz, ársztás. Multigén géncsalád kódolja (az Arabidopsis genomában 12, paradicsomban 9 ACC szintáz gén található). A szabályozás mind transzkripció, mind fehérje- szinten igen hatékony és specifikus. Az egyes endogén és környezeti tényezők más-más gének, géncsoportok expresszióját indukálják. Transzkripció szabályozás a fő mechanizmus pl. az auxin esetében és a termésérésnél megfigyelhető autokatalitikus etilénhatásnál (6), más esetekben (pl. citokinin, brassinoszteroid és fény hatásánál) a protein turnover-en keresztül reguláció a jelentősebb. Arabidopsisban az ACS izoenzim 3 csoportja különíthető el a C-terminális szerkezetük ill. a protein turn-over alapján. Az 1-es típusba tartozók a C-terminálisukon három MAPK által foszforilálható konzervált Ser-t és egy CDPK által foszforilálható Ser-t tartalmaznak, a 2-es típusba tartozókban csak egy, CDPK által foszforilálható Ser található, míg a 3-as típusnál nincs konzervált Ser. Az 1-es típust a sebzés és patogén fertőzés az MKK (MAP kináz kináz) MAPK aktivitáson keresztül aktiválja, a nem foszforilált fehérje lebontódik (a C-terminális Ser foszforilálása növeli az ACS stabilitását). A 2-es típusú izoenzim degradációja más mechanizmuson keresztül történik (a RING E ligáz komplex ubiquitinál, 26S proteasómás lebontás), a CDPK által foszforilált Ser gátolja ezt a mechanizmust, vagyis növeli az ACS enzim stabilitását.

Az ACC-ből történő etilénképződést az ACC oxidáz (ACO) katalizálja az alábbi reakció szerint:



Az ACO enzim kofaktorként aszkorbinsavat és Fe^{2+} -t igényel, működését aktiválja a CO_2 (ami működésének egyik terméke is). Az ACO gének transzkripciója lehet konstitutív és indukálható, az izoenzim lokalizálódhatnak sejt falban és citoszolban. Az enzim expressziójának és ezen keresztül aktivitásának növekedése jelentős bizonyos fejlődési állapotban (termésérés, szíromlevelek öregedése) és különböző stressz hatásokra (1, 6). Az enzim gátolható EDTA-val (amely az Fe^{2+} ionnal kelátot képez), Co^{2+} ionnal, szabad gyök kioltókkal (pl. propilgallát), anaerob környezetben és 35°C felett.

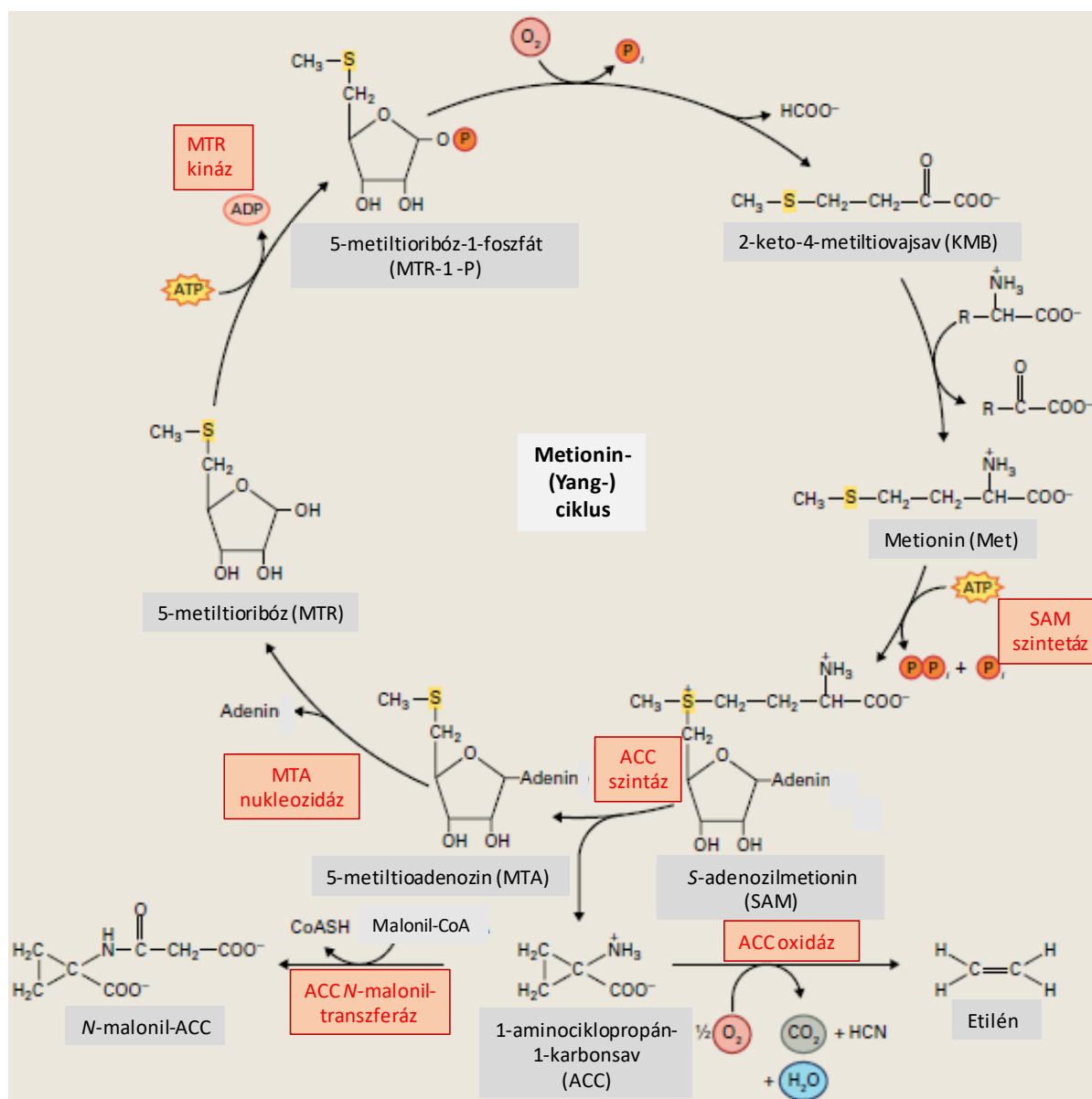
Az ACC $\rightarrow$ etilén átalakulás során az etilénnel sztoichiometrikus mennyiségben CN^- is keletkezik (3.8.2. ábra). A cianid fitotoxikus anyag, metalloenzimeket gátol (pl. nitrit/nitrát reduktáz, Cu/Zn szuperoxid dizmutáz, peroxidáz, kataláz, citokrom aa3) (1). A cianid detoxifikálásában a β -cianoalanin szintáz vesz részt, amely a HCN-ből és ciszteiből β -cianoalanint, valamint H_2S -t képez. Az ugyancsak mérgező H_2S -t a növények ciszteinbe építik be tiol csoport formájában, amely reakciót a cisztein szintáz katalizálja.

Az ACC szintáz katalizálta reakcióban a SAM-ból az ACC mellett metiltioadenozin keletkezik. A metionin CH_3 -S-csoportjának reciklizálódása nélkül vészesen csökkenne a Met és az etilén mennyisége is. Az adenin lehasadása után a metiltioribóz C-atomjaiból több lépésben regenerálódik a metionin (3.8.2. ábra). A SAM egy energiaigényes, ATP-t felhasználó reakcióban, pirofoszfát és anorganikus foszfát lehasadása után az S-adenozilmetionin szintetáz működésének eredményeképpen keletkezik (1, 7). A SAM nemcsak az etilén, hanem a poliaminok (spermin, spermidin) bioszintézisének is a prekürzora. Ha a SAM mennyisége kevés, az érte folyó kompetíció is csökkentheti az etilén- vagy poliamin szintézist (1).

Az etilén hosszútávú transzportja ACC formájában történik, mind a xilémben mind a floémában.

Az etilén metabolizmus érdekessége, hogy míg a többi fő növényi hormon esetében specifikus lebontási mechanizmus biztosítja az inaktiválásukat, az etilén esetében nincs ilyenre szükség. Mivel az etilén diffúzióval gyorsan kijut a keletkezés helyéről, a sejtekből az intercelluláris terekbe majd a környezetbe, ez az etilénszint csökkenésének legfőbb módja. Bár a legtöbb növényi szövetben az etilén

etilén-oxidon és oxálecetsavon keresztül szén-dioxiddá teljesen eloxidálódhat, továbbá az etilén-oxid hidrolizálódhat etilén-glikollá, ezeknek a reakcióknak a gátlása nem befolyásolja a szövetek etilénre adott válaszát (5), a növényekben fiziológiásan előforduló etilén koncentrációknál az etilénszint szabályozásában nincs jelentőségük (1, 6).

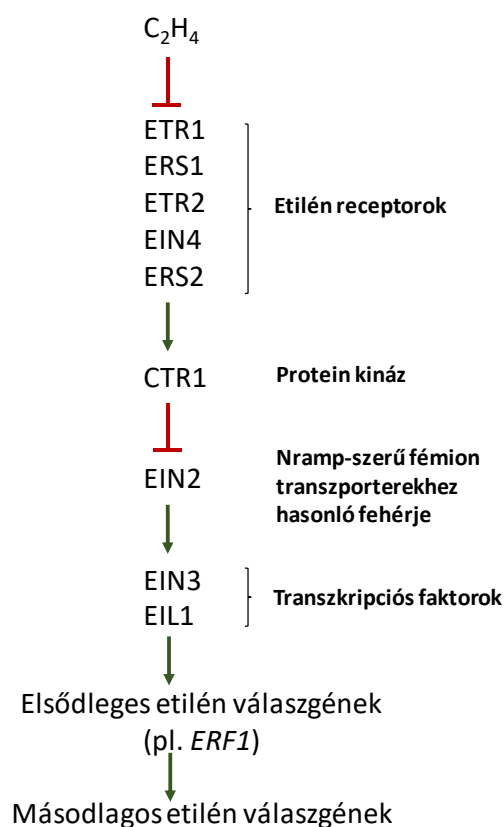


3.8.2. ábra. Az etilén bioszintézisének főbb lépései növényekben és a Yang ciklus. Rövidítések: ACC = 1-aminociklopropán-1-karbonsav, KMB = 2-keto-4-metiliovajsav, Met = metionin, MTA = 5-metiloadenozin, MTR = 5-metiltioribóz, MTR-1-P = 5-metiltioribóz-1-foszfát, SAM = S-adenozilmetionin (3 alapján, a kiadó engedélyével).

Konjugátumot az etilén prekuzora, az ACC képez, legfontosabb a malonil-CoA-val történő reakcióban keletkező malonil-ACC (3.8.2. ábra). A malonil-ACC azonban inaktív végtermék, nem raktározott ACC (illetve etilén) forma. Szintézise a citoplazmában történik, de a vakuólumba transzportálódik. Tehát az endogén etilénszint szabályozásában a konjugátum-képzés fontos mechanizmus, de maga a malonil-ACC nem játszik meghatározó szerepet (1).

3.8.4. Az etilén érzékelése és jelátvittele

Az etilén által indukált jelátviteli folyamatokat olyan Arabidopsis növényekben térképezték fel, amelyek nem reagáltak etilénre vagy állandó etilénválaszt mutattak. Az etilén érzékelése az ER-ben lokalizált, membrán-kötött receptor család által történik (8). A jel a CTR1 (CONSTITUTIVE TRIPLE RESPONSE 1 = ÁLLANDÓ HÁRMAS VÁLASZ 1) negatív regulátoron keresztül továbbítódik az EIN2 (ETHYLENE INSENSITIVE 2 = ETILÉN ÉRZÉKETLEN 2) pozitív regulátorhoz, majd az EIN3 és EIL1 (EIN3-LIKE1) által vezérelt transzkripciókaskád révén tovább erősödik és az etilén válaszgének aktiválását eredményezi (3.8.3. ábra).



3.8.3. ábra Az etilén jelátvitel főbb lépései Arabidopsisban. Zöld nyíl jelöli az aktiváló hatást, zárt végű piros a működés gátlását (negatív regulátor). Használt rövidítések: CTR1 = CONSTITUTIVE TRIPLE RESPONSE 1, EIN2-4 = ETHYLENE INSENSITIVE 2-4, EIL1 = EIN3-LIKE 1, ERF1 = ETHYLENE RESPONSE FACTOR 1, ERS1-2 = ETHYLENE RESPONSE SENSOR 1- 2 (Csiszár Jolán ábrája)

Arabidopsisban 5 etilén receptort azonosítottak az ER membránban: ETR1 és 2 (ETHYLENE RESPONSE 1 és 2 = ETILÉN VÁLASZ 1 és 2), ERS1 és 2 (ETHYLENE RESPONSE SENSOR 1 és 2, EIN4 (ETHYLENE INSENSITIVE 4). Ezeket a receptorokat egyszeres domináns mutációt hordozó etilén inszenzitív növényekben azonosították (etioltált csíranövényeik etilén jelenlétében nem mutatták a „hármass választ”) (6). Az etilént mindegyik receptor Cu^+ kofaktor jelenlétében köti, amelyet a RAN1 (RESPONSIVE TO ANTAGONIST 1) réztranszporter biztosít. A receptorok diszulfid hidakkal összekapcsolt homodimerek, amelyekben az etilén molekula kötésére alkalmas hidrofób „zseb” található. A legjobban ismert etilén receptor az elsőként felfedezett ETR1, amely a jelátvitel főbb lépéseit bemutató 4. ábrán egyedülként van feltüntetve. Az etilén receptorok az ER-ben azonban klasztereket alkotnak és nemcsak egymással, hanem a jelátviteli út más tagjaival (CTR1 és EIN2) is szoros kölcsönhatásban vannak; általában nagy protein komplexeket alkotnak. Az etilén receptorok szerkezete a bakteriális His kináz kétkomponensű receptorokéhoz hasonló. Egy molekulán belül

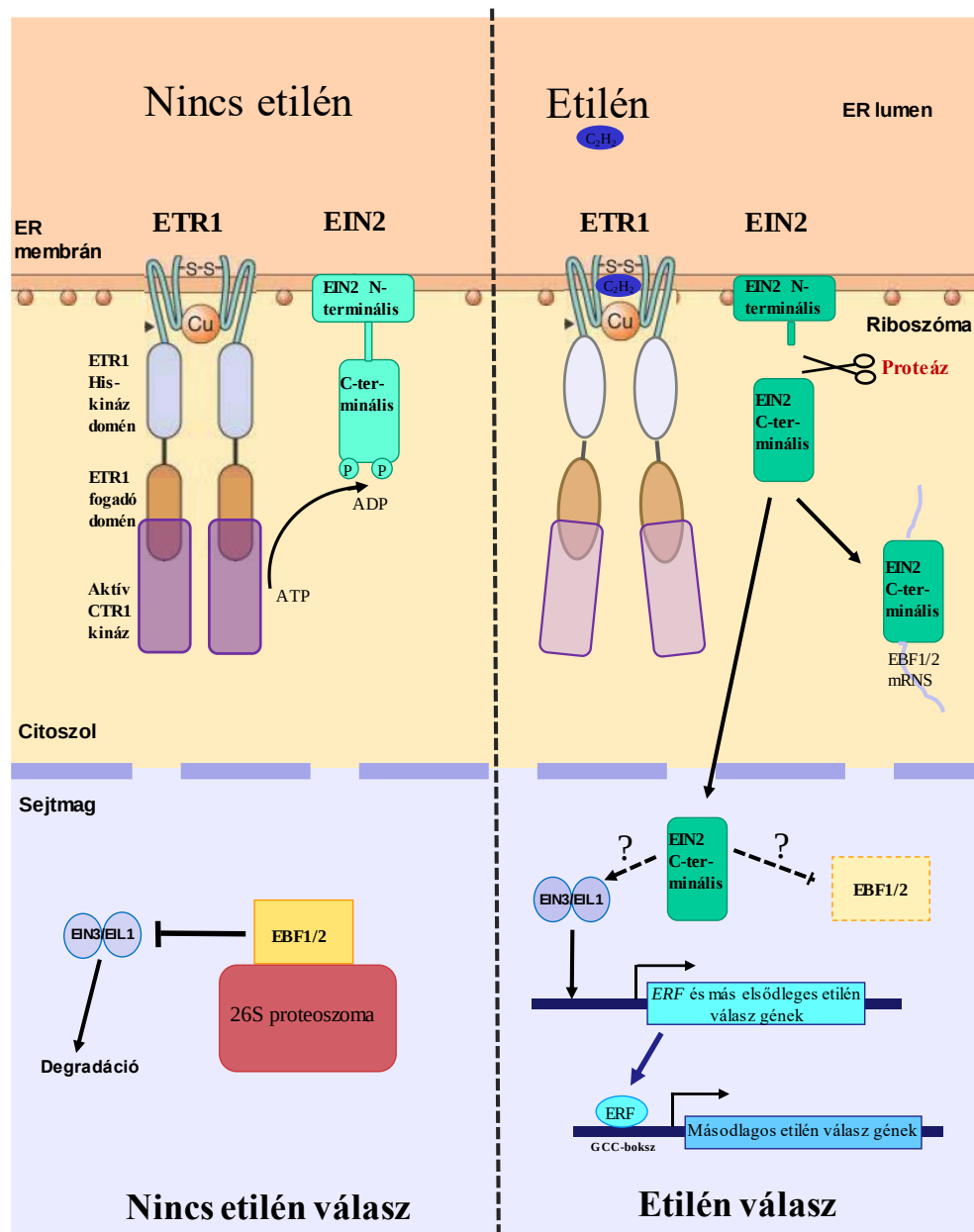
megtalálható mind a His kináz domén mind a fogadó domén, azonban a His kináz aktivitás nem feltétele a jelátvitelnek, és - típustól és növényfajtól függően - a fogadó domén hiányozhat (6).

Az etilén receptorok etilén hiányában funkcionálisan aktív His kinázok és aktiválják a jelátviteli út következő komponensét, ami a velük kapcsolódó CTR1 kináz. A CTR1 elnevezés eredete, hogy funkcióvesztéses mutációja (és a nem membránkötött enzimforma is) állandó „hármass válasz” hatást („van etilén” jelet) mutat. Ebből következik, hogy az ép, funkcióképes fehérje gátolja az etilén jelátvitelt: a CTR1 az etilén jelátvitel negatív regulátora. A CTR1 egy Raf-szerű Ser/Thr kináz (MAPKKK homológ), amely foszforilálja az EIN2 protein citoszolikus, C-terminális részét (3.8.4. ábra). Az EIN2 az etilénválasz pozitív regulátora, de foszforilálása akadályozza a további jelátviteli folyamatot és az EIN2 a 26S proteasomális rendszeren keresztül lebontódik (9).

Etilén jelenlétében mind az etilén receptorok mind a CTR1 inaktiválódnak, az EIN2 C-terminálisa defoszforilálódik és közvetíti a jelet az ER-ből a sejtmagba. Egy jelenleg pontosan nem ismert mechanizmus szerint az EIN2 C-terminális része lehasítódik és aktiválja az EIN3 és az EIN3-szerű (EIL1) transzkripciós faktorokat (3.8.4. ábra). Ezek a transzkripciós faktorok az etilén jelátvitelben fontos központi szabályozó szerepet töltenek be; hiányuk, mutációjuk esetén nem alakul ki az etilén válasz (etilén inszenzitívek). Az EIN2 C-terminális része az EIN3/EIL1 transzkripciós faktorok gyors akkumulálódását, stabilizálódását több módon idézi elő (8):

- 1) gátolja a proteolitikus lebontásukért felelős EIN3-BINDING F-BOX 1 és 2 (EBF1/2) F-boksz proteinek transzlációját a citoplazmában,
- 2) a sejtmagban az EBF1/2 F-boksz protein EIN2-függő degradációját eredményezi a 26S proteasoma rendszeren keresztül,
- 3) az EBF1/2 F-boksz mRNS mennyiségét a nukleuszban is csökkenti közvetve egy exoribonukleáz (XRN4 = EIN5) aktivitásának fokozásával,
- 4) transzkripciós szintű aktiválással: hiszton acetiláció elősegítésével fokozza az *EIN3/EIL1* gének transzkripcióját.

Az EIN3 és homológjai (EIL1 és EIL2) ún. „mester” transzkripciós faktorok, transzkripciós kaszkádokat aktiválnak. Míg az EIN3 jelentősége csíranövények etilén jelátvitelében nagyobb, az EIL1 szerepe kifejtett levelek, szárok esetén bizonyult fontosabbnak (8). Homodimerként kötődnek az elsődleges etilén válaszgének (*ERFs*, *ETHYLENE-RESPONSIVE ELEMENT BINDING FACTORS*) promóteréhez, így aktiválva pl. az *ERF1* transzkripciós faktor gént, amely további transzkripciós faktorok és egyéb fehérjék génjeit szabályozva az etilén hatásának gyors felerősítését biztosítja (3.8.4. ábra). Az EIN3/EIL1 által szabályozott gének száma a molekuláris vizsgálatok eredményei alapján ezernél több, a gének expressziója közel 50%-ban gátlódik. Aktiválják többek között a *miR164*-t (levélöregedést gyorsít), az apikális kampó görbületének kialakításában fontos *HLS1* és *HLH2*-t (*HOOKLESS 1* és *HLS1-LIKE HOMOLOG2*), a klorofill bioszintézis sebességhatározó enzimeinek a génjét (*PORA/B*), míg represszálják a hidegtűrésben fontos *CBF* és a citokinin jelátvitel részét is képező *ARR* (ARABIDOPSIS RESPONSE REGULATOR) géneket (8). Amellett, hogy transzkripciós aktivátor, az EIN3/EIL1 fizikai kölcsönhatásba léphet más hormonok transzkripciós aktivátoraival és represszoraival, így különböző jelátviteli utak kapcsolódásának, integrálásának központi eleme (10). Az etilén ezekkel kölcsönhatva, illetve az elsődleges etilén válaszgének, transzkripciós faktorok által kiváltott további génextpressziós változásokon keresztül fejti ki sokrétű hatását a növények fejlődésére és a környezeti tényezőkre adott válaszokban (8).



3.8.4. ábra. Az etilén jelátvitel egyszerűsített modellje. Etilén nélkül a receptorok (itt az ETR1) aktiválják a CTR1 protein kinázt, amely represszálja az EIN2 működését. A sejtmagban a legfőbb, ún „master” transzkripciós faktorok (EIN3/EIL1) degradálódnak. Etilén jelenlétében a receptorok nem aktiválják a CTR1-et, az EIN2 C-terminálisa lehasítódik és gátolja az EBF1/2 F-boksz protein transzlációját, valamint a sejtmagba transzportálódik. EIN2 C-terminálisa az EBF1/2 F-boksz protein proteozomális lebontásán és más mechanizmusokon keresztül akkumulálja és stabilizálja az EIN3/EIL1 transzkripciós faktorokat, amelyek homodimerként az *ERF* és más elsődleges etilén válaszgének expresszióját indukálják. Az *ERF* és további transzkripciós faktorok egy transzkripciós kaszkád részeként gyors etilén választ váltanak ki a növényben. Használt rövidítések: CTR1 = CONSTITUTIVE TRIPLE RESPONSE 1 protein kináz, EBF1/2 = EIN3-BINDING F-BOX 1 és 2 F-boksz proteinek, EIN2- = ETHYLENE INSENSITIVE 2 protein, EIN3/EIL1 = ETHYLENE INSENSITIVE 3 és homológ (EIN3-LIKE 1) transzkripciós faktorok, ER = endoplazmatikus retikulum, ERF1 = ETHYLENE-RESPONSIVE ELEMENT BINDING FACTOR 1. (3 alapján, a kiadó engedélyével).

3.8.5. Az etilén biológiai funkciói

Az etilén mind normál körülmények között mind stressz esetén befolyásolja a növények fejlődését más hormonokkal, jelátvivő molekulákkal kölcsönhatva. Az etilén legismertebb hatásai a gyümölcsök

klimakterikus érésének, termések és levelek leválásának serkentése, de befolyásolja a növény fejlődését a csírázástól a gyökér- és levél növekedésén át a virágfejlődésig, az ivari jelleg meghatározásáig (8).

Termelődése széles határok között mozog, függ a fejlődési állapottól is. Öregedő és fiatal szervezetben $0,04 - 1,0 \text{ nl g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ etilén termelődik (1). Mivel diffúzióval kijut a környezetébe és más növényre is kifejtheti hatását, feromonnak is tekinthető (5). A növekedésre és öregedésre gyakorolt hatása függ az adott növényi rész etilén koncentrációjától és -érzékenységétől is (11). Például paradicsomban a szár megnyúlásra képes sejtjeiben az etilén oldalirányú kiterjedést okoz és az IES a longitudinális megnyúlást serkenti, a leválási zóna sejtjeiben csak az etilén okoz megnyúlást, az IES nem, míg a levélnyel felső részében az etilén és az IES is (az etilén serkentésén keresztül) longitudinális megnyúlást okoz (12).

3.8.5.1. Az etilén szerepe a növekedési, fejlődési folyamatokban

Az etilén jelátvitel fontos szerepet játszik a fejlődési átmenetekben. Az etilén megtöri a rügyek, magvak nyugalmi állapotát, gyorsítja az α -amiláz szintézist. Szabályozza az apikális merisztéma aktivitását a magvak és rügyek nyugalmi állapotának kialakításában. Gyökerezést, gyökérszőr iniciációt indukál, akadályozza a hipokotil és epikotil kampó kiegyenesedését, serkenti a laterális expansziót, gátolja a hajtás megnyúlásos növekedését, befolyásolja a szár és levél növekedését, epinasztiát idéz elő.

Az apikális kampó görbületének alakításában az etilén serkenti a sejtosztódást a szubepidermális rétegekben az auxinnal együttműködve (1, 13). A gyökerekben a nyugvó centrum (QC) sejtosztódását serkenti és extra kolumella sejtsort hozhat létre a gyökérsüvegben, csökkenti a gyökér apikális merisztéma (RAM) méretét és sejtjeinek számát az auxinnal és citokininnel kölcsönhatva. Az etilén serkenti a gyökérszörképződést és módosítja fejlődési mintázatukat (6), viszont az auxinnal ellentétesen hatva gátolja az oldalgyökerek iniciációját és növekedését is (13). A levélnyelben is gátolja a sejtosztódást, ami hozzájárul a bizonyos esetekben megfigyelhető hiponasztia kialakulásához (14), vagyis amikor a levélnyel felső (adaxiális) oldala lassabban nő, mint az alsó (abaxiális) és emiatt a levelek a szárral kisebb szöget zárnak be. A levelek, rozetta növekedését általában gátolja (15).

Bár az etilén megnyúlásos növekedésre gyakorolt hatásánál a legismertebb az etiolált csíranövények megnyúlásának gátlása (a „hármass válasz” részeként), fény jelenlétében más mechanizmusok működnek. Bár a hajtás növekedését az etilén általában gátolja, bizonyos esetekben serkentheti is a sejtek megnyúlásos növekedését (13). A sejtek növekedési irányának módosulását az etilén legfőként a mikrotubulusok gyors (10 percen belüli) átrendezésével éri el, amit a cellulóz mikrofibrillumok átrendeződése követ. A folyamatban azonban szerepe lehet a sejtfal rigiditásért/lazításért felelős enzimek (expanszin, xiloglukan endotranszglükolázok/hidrolázok) expressziójára kifejtett etilén hatásnak is. A sejtmegnyúlás serkentésével segíti az etilén pl. árasztás esetén néhány mocsári növénynél a levélnyel megnyúlásával a levél felszínre emelkedését, más esetekben a levélnyel epinasztikus görbülését (Epinasztia akkor következik be, amikor a levelek lefelé hajlanak: a levélnyel felső oldala gyorsabban nő, mint az alsó és emiatt. Így csökken a levélfelszínre eső fotonok száma és a fénystressz mértéke (1)). Az elárasztott szövetben indukálja a cellulóz expresszióját, a sejtfalak feloldódása a programozott sejthalál része. Az aerenhima képződés mellett a xilém sejtek képződését is serkenti (13). Az aszimmetrikus növekedés, görbületek kialakítása általában az egyenlőtlen hormoneloszlás következménye, ahol az etilén (és ACC) mellett az auxin eloszlása is döntő szereppel bír (1, 11).

Arabidopsisban az etilén kedvezőtlen körülmények között serkenti az érett és éretlen magok csírázását is; ebben a folyamatban hatása az abszcizinsavval antagonista, a gibberellinnel szinergista (13).

3.8.5.2. Az etilén befolyásolja a levelek öregedését, a virágzás idejét, a virág- és termés fejlődését és - öregedését

A virágzás, mag- és termésképzés, öregedés folyamatai és szabályozásuk a későbbi fejezetekben kerül részletesebben bemutatásra. Az etilénnel kapcsolatban kiemelhető, hogy ezekben a folyamatokban az etilén az egyik legfontosabb hormon, a kulcsregulátor. Az etilén indukálja a programozott öregedési folyamatot, a szenescenciát, de a folyamatok etilénérzékenysége a növényfajokban különböző (13).

A levelek fejlődése során kezdetben az etilén bioszintézise magas szintű, majd a levél teljes kiterüléséig csökken, és a szenescencia kezdetekor ismét nő. Bár az egyes fejlődési állapotokban más - más bioszintézis gének aktiválódnak, az etilén termelődésében bekövetkező változások önmagukban nem magyarázzák a megfigyelt élettani hatásokat (levelek sárgulása, levélleválás). A levélleválás folyamatánál bizonyították, hogy a növények etilénre vonatkozó érzékenysége változik, és ez függ az auxintól. Míg a kifejllett levelek ún. fenntartási fázisában a sok auxin csökkenti az etilén-érzékenységet, a levélleválás indukciós fázisában a csökkenő auxinszint mellett nő az etilén-produkció és a leválási zóna sejtjeinek etilén-érzékenysége. Az etilén csökkenti az auxin szintézisét és transzportját, fokozza lebontását. A leválási fázisban az etilén indukálja a sejtfal poliszacharidokat és fehérjéket bontó specifikus hidroláz enzimek (pl. cellulázok, pektinázok) transzkripcióját. A sejtfal-hidrolizáló enzimek hatására létrejövő protoplasztok gömb alakja és térfogat-növekedése következtében a xilém tracheái szétfeszülnek, a levél elválik a szártól (1, 16).

Az etilén a virágok fejlődésére elsősorban az auxinnal és gibberellinnel interakcióban fejti ki hatását (16). Az etilén endogén tényezők és környezeti hatások függvényében befolyásolja a virágzás idejét, de ez fajonként eltérhet: amíg pl. Arabidopsisban késlelteti, rizsben siettet a vegetatív-generatív fázis közti átmenetet (16). Az etilén elősegíti a virágkezdemények kialakulását (pl. ananászban). Az ivari jelleget a nőivarúság felé tolja el. Faj- és fajtaspecifikus módon serkenti a virág öregedését, a szirmlevelek leválását is. Az etilén-érzékeny fajokban a megtermékenyítés után klimakterikus etilén termelődés következik be, amely autokatalitikussá válik és gyors szenescenciát eredményez (pl. hibiszkusznál)(16).

Az etilén serkenti a terméskötést, a termésnövekedést és termésérést. A termés érése az egyik legalaposabban tanulmányozott etilén által szabályozott fejlődési jelenség (1). Az érés az öregedés egy speciális formája, amely során a végbemenő irreverzibilis biokémiai és fejlődési folyamatok megváltoztathatják a termés színét, állagát, tápanyagtartalmát és aromáját (16). Lejátszódhat klorofill lebontás, puhulás (amit a sejtfalak enzimatisz lebontása eredményez), keményítő hidrolízise, karotinoidok vagy antocianinok és cukrok felhalmozódása, szerves savak és fenolszármazékok eltűnése. Az éretlen termések etilén termelése alacsony és nem érzékenyek etilén kezelésre. Az érés kezdetekor az etilén bioszintézis és az etilén-érzékenység is fokozódik. Az érés és az etiléntermelés, légzésfokozódás közötti kapcsolat alapján a termések lehetnek klimakterikusak (utóérők) és nem-klimakterikusak (nem-utóérők). A klimakterikus termésekben (pl. alma, banán, paradicsom) az etiléntermelés autokatalitikus bioszintézis miatt robbanásszerűen megnő, amit fokozódó O₂-fogyasztás követ. Az etilén szerepe az érést elősegítő mechanizmusok, enzimek transzkripció szintű aktiválásában bizonyított (1, 16). A légtér etiléntartalmának csökkentésével például alma raktározásakor a tárolhatósági idő lényegesen meghosszabbítható (1).

3.8.5.3. Az etilén szerepe az abiotikus és biotikus stressz válaszokban

A növekedésre- és fejlődésre gyakorolt hatása mellett az etilén stresszhormonnak tekinthető. Termelődése gyorsan megnövekszik abiotikus és biotikus stresszek esetén, így mechanikai hatás, sebzés, szárazság, árasztás, nehézfémek, hőmérsékleti stressz, magas sókoncentráció, alacsony tápanyagellátottság, kártevők és kórokozók hatására is (6, 15). A stressz-indukált etilén megváltoztathatja a növekedést, erősítheti a sejtfalakat és aktiválja a védekezés-kapcsolt gének

expresszióját. A környezeti stressz hatására megemelkedő etilén általában gátolja a levelek, a hajtás növekedését mind a sejtosztódásra mind a megnyúlásra hatva.

A növekedés gátlása, és a védekezési mechanizmusok aktiválása általánosan megfigyelhető válasz stressz esetén a növényeknél. Számos hormon szerepe bizonyított a növények stresszre adott válaszában (ABS, etilén, jázmonátok, szalicilsav, gibberellinek, citokininek, auxin, brasszinoszteroidok). A növekedési folyamatok módosításával transzkripció faktorokon keresztül segítik a megváltozott környezeti tényezőkhez történő adaptálódást (15). Az etilén elsősorban az AP2/ERF (APETALA2/Ethylene Response Factor) transzkripció faktor család segítségével kulcsfontosságú a stressz válaszokban mind abiotikus, mind biotikus stresszek esetén (17). (Az AP2/ERF szupercsaládnak *Arabidopsis* genomban 147, rizsben 180, *Brassica*-ban 291 tagját azonosították). A stresszválasz molekuláris szintű szabályozása során az ERF (elsődleges etilén válaszelem) GCC-bokszt vagy DRE (DEHYDRATION-RESPONSIVE ELEMENT) *cis*-elemet tartalmazó gének promóteréhez kötődve aktiválja és kordinálja a növények válaszreakciót különböző stresszek esetén (17).

3.8.6. Az etilén kimutatása

Az etilén mennyiségi kimutatása gázkromatográfiával történik, ez a legérzékenyebb, legpontosabb és leggyorsabb módszer (1). Biológiai kimutatására az etiolált borsó csíranövény hármas reakcióját használják specifikussága, érzékenysége és viszonylag kis időigénye miatt. Más biológiai tesztljárások, mint a paradicsomlevelek epinasztiáján vagy levélleváláson alapuló tesztek is ismertek, azonban kevésbé specifikusak és érzékenyek (1).

3.8.7. Az etilén gyakorlati felhasználása

A hajtás és gyökér arányára gyakorolt kedvező hatás, a virágkezdemények képződésére, a termésérésre, a levél- és terméslehullásra gyakorolt hatása miatt az etilént a mezőgazdaságban és kertészetben széles körben használják. Mivel az etilén gáz könnyen kidiffundál a környezetbe, olyan anyagot alkalmaznak, amelyből etilén szabadul fel: 2-klóretil-foszfonsav (Ethephon vagy Ethrel) vizes oldatát kipermetezve könnyen felszívódik és transzportálódik a növényben, majd lassan bomlik. Hatása mind a növekedésre, mind az öregedésre koncentrációtól függően lehet serkentés vagy gátlás (16). Felhasználják alma- és paradicsom termésérés serkentéshez, citrusfélék zöld színének eltüntetéséhez, termés- és levélhullatás felgyorsítására.

Vágott virágok öregedése lassítható az etilén receptort gátló ezüst ionnal, szagtalan 1-metilciklopropánnal (MCP, EthylBloc®). Raktárakban a gyümölcsök etilén termelését alacsony hőmérséklettel és O₂ koncentrációval, az etilén hatását magas CO₂ koncentrációval (3-5 %) védik ki. A tároló dobozokban vákuumot használnak az O₂- és etilén-mentesítés, az érési folyamat lassítása érdekében.

Géntechnológiai megoldásokat is sikerrel alkalmaztak az etilén termelődésének csökkentésére. Paradicsomban az ACC szintáz (ACS) és ACC oxidáz (ACO) antiszensz expressziójával a termésérés gátolható volt (szensz- és antiszensz mRNS hibridizációja után a kettősszállú RNS gyorsan lebomlik), petúniában antiszensz ACO-t kifejeztetve a szenescencia és a hervadás hetekkel eltolódott.

Összefoglalás

1. Az etilén egy két szénatomos gáz halmazállapotú vegyület, amely a növények növekedését fejlődését számos módon befolyásolja, többek között a sejtmegnyúlás gátlásával, a levélleválás és gyümölcsérés serkentésével.
2. Szintézise metioninból történik SAM és ACC köztestermékeken keresztül. A legfőbb regulációs, sebességhatározó lépés az ACC szintáz működése.
3. Az etilén könnyen átdiffundál a membránokon. A növényekben nincs szükség az etilén lebontására, diffúzióval kijut a környezetbe. Hosszabb távú transzportja ACC formában a xilém és floémában is történhet.
4. Bioszintézisére minden növényi sejt képes, de általában igen kis mennyiségben termelődik. A szintézis mértéke fiatal levelekben és öregedő szövetekben, valamint stressz esetén megnő, de a kifejtett hatás függ az adott sejt etilén-érzékenységétől és más hormonokkal való kölcsönhatástól is.
5. Az etilén receptorok a bakteriális His-kinázhoz hasonló kétkomponensű válasz regulátorok, legismertebb az ETR1. Etilén hiányában az ETR1 receptor aktiválja a Raf-szerű CTR1 kinázt, mely negatív regulátor, az etilén válasz represszáálásához vezet. Etilén jelenlétében az etilén receptorok és a CTR1 is inaktiválódnak, ami az EIN2 transzmembrán fehérje aktiválódását, az etilén jelátvitel indukcióját eredményezi. Az EIN2 C-terminális része defoszforilálódik és lehasadva a sejtmagba jut, aktiválja az EIN3 és homológ transzkripciós faktorokat. Az EIN3/EIL1 indukálják az elsődleges etilén válasz gének, köztük az *ERF1* transzkripciós faktor expresszióját. Egy transzkripciós kaskád aktivációja vezet a génexpressziós mintázat, a sejtműködés gyors megváltozásához.
6. Az etilén legfontosabb fiziológiai funkciói:
 - Gátolja a hajtás megnyúlásos növekedését, serkenti a laterális expanziót, akadályozza a hipokotil és epikotil kampó kiegyenesedését
 - Szabályozza az apikális merisztéma aktivitását
 - Gyökeresedést, gyökérszőr iniciációt indukál
 - Epinasztiát idéz elő
 - Fokozza a hajtás gibberellin-érzékenységét, így árasztott növényekben fokozódik a hajtás megnyúlása
 - Megtöri a rügyek, magvak nyugalmi állapotát, gyorsítja az α -amiláz szekréciót
 - Serkenti a virágkezdemények kialakulását, de késleltetheti a virágzást
 - Az ivari jelleget a nőivarúság felé tolja el
 - Serkenti a terméskötést, a termésnövekedést és termésérést
 - Serkenti a levél, a virág és a termés öregedését és abszcisszióját
 - Központi regulátora az abiotikus és biotikus stresszre adott válaszoknak, a megváltozott viszonyokhoz történő alkalmazkodásnak

Ellenőrző kérdések

1. Mi az etilén hormon különlegessége?
2. Hogyan szintetizálódik az etilén?
3. Hol helyezkedik el az etilén receptora?

4. Melyek az etilén jelátvitel főbb lépései?
5. Hogyan befolyásolja az etilén a hajtás és gyökér növekedését?
6. Hogyan alakul az etilén szintje a levelek és termések fejlődése során?
7. Mit jelent, hogy az etilén „stresszhormon”?
8. Milyen szerepe van az etilénnek a stresszválaszokban?
9. Milyen hatásait, hogyan használják ki a mezőgazdasági, kertészeti gyakorlatban?

Megvitatandó kérdések

1. Miben nyilvánul meg a gáznemű hormon és a nem gáz halmazállapotúak hatásmechanizmusa közötti különbség?
2. Hatással lehet-e a növények által termelt etilén az emberre?
3. Az etilén az EIN3/EIL2 transzkripció faktorokon keresztül aktiválja az *EBF2* gén transzkripcióját is. Az *EBF2* azonban az EIN3/EIL2 proteosomális lebontását eredményezi. Mi lehet ennek a „visszkapcsolásnak” a jelentősége?

Javasolt irodalom

1. Erdei László (Szerk.), Növényélettan – Növekedés - és fejlődésélettan. JATEPress Szeged, Magyarország, 2011, o. 261-281.
2. B.B. Buchanan, W. Gruissem és R.L. Jones (Szerk.), Biochemistry and molecular biology of plants. 2. kiadás. American Society of Plant Biologists, 2015, o. 806-810, 847-850.
3. R. Jones, H. Ougham, H. Thomas és S. Waaland (Szerk.), The molecular life of plants. Wiley-Blackwell, American Society of Plant Biologists, 2013, o. 348-352.

Felhasznált irodalom

1. Erdei László (Szerk.), Növényélettan – Növekedés - és fejlődésélettan. JATEPress Szeged, Magyarország, 2011, o. 261-281.
- A. Bakshi, J.M. Shemansky, C. Chang és B.M. Binder, History of research on the plant hormone ethylene. *J. Plant Growth Regul.*, köt. 34, o. 809–827, 2015.
2. D. Neljubow, Über die horizontale nutation der stengel von *Pisum sativum* und einiger anderen pflanzen, *Beih. Bot. Zentralb.*, köt. 10, o. 128–139, 1901.
3. W. Crocker, A.E. Hitchcock és P.W. Zimmerman, Similarities in the effects of ethylene and the plant auxins, *Cont. Boyce Thompson Inst.*, köt. 7, o. 231–238, 1935.
4. R. Jones, H. Ougham, H. Thomas és S. Waaland (Szerk.), The molecular life of plants. Wiley-Blackwell, American Society of Plant Biologists, 2013, o. 348-352.
5. B.B. Buchanan, W. Gruissem és R.L. Jones (Szerk.), Biochemistry and molecular biology of plants. 2. kiadás. American Society of Plant Biologists, 2015, o. 777-785.
6. D.O. Adams és S.F. Yang, Ethylene biosynthesis: Identification of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid as an intermediate in the conversion of methionine to ethylene, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, köt. 76, sz. 1, o. 170-174, 1979.
7. C. Ju és C. Chang, Mechanistic insights in ethylene perception and signal transduction, *Plant Physiol.*, köt. 169, sz. 1, o. 85-95, 2015.
8. L. Wang L és H. Qiao, New insights in transcriptional regulation of the ethylene response in *Arabidopsis*. *Front Plant Sci.*, köt. 10, sz. 790, o.1-6, 2019.

9. C. Chang, Q&A: How do plants respond to ethylene and what is its importance? *BMC Biol.*, köt. 14, sz. 7, 2016.
10. N.A. Khan, M.I.R Khan, A. Ferrante és P. Poór, Editorial: Ethylene: A key regulatory molecule in plants, *Front. Plant Sci.*, köt. 8, sz. 1782, Oct 16, 2017. doi: 10.3389/fpls.2017.01782.
11. D. Osborne, The ethylene regulation of cell growth in specific tissues of plants. In: P.F. Wareing (Szerk.) *Plant growth substances*. Academic Press, London, 1982. o.279-290.
12. B. Van de Poel, D. Smet és D Van Der Straeten, Ethylene and hormonal cross talk in vegetative growth and development, *Plant Physiol.*, köt. 169, sz. 1, o. 61–72, 2015. doi:10.1104/pp.15.00724
13. J.K. Polko, M. van Zanten, J.A. van Rooij, A.F. Marée, L.A. Voesenek, A.J. Peeters and R. Pierik, Ethylene-induced differential petiole growth in *Arabidopsis thaliana* involves local microtubule reorientation and cell expansion. *New Phytol.*, köt. 193, sz. 2, o.339-348, 2012. doi: 10.1111/j.1469-8137.2011.03920.
14. M. Dubois, L. Van den Broeck és D. Inzé, The pivotal role of ethylene in plant growth, *Trends Plant Sci.*, köt. 23, sz. 4, o. 311-323, 2018. doi: 10.1016/j.tplants.2018.01.003.
15. N. Iqbal, N.A. Khan, A. Ferrante, A. Trivellini, A. Francini and M.I. Khan, Ethylene role in plant growth, development and Senescence: Interaction with Other phytohormones, *Front. Plant Sci.*, köt. 8, sz. 475, Apr. 4 2017. doi: 10.3389/fpls.2017.00475
16. M. Müller és S. Munné-Bosch, Ethylene response factors: A key regulatory hub in hormone and stress signaling, *Plant Physiol.*, köt. 169, sz. 1, o. 32-41, 2015. doi: 10.1104/pp.15.00677.

3.9. Fejezet. A szalicilsav

Írta: Dr. Csiszár Jolán

A szalicilsav sokkal általánosabban ismert gyógyászati alkalmazásáról, mint növényi növekedésszabályozóként. A jelen fejezet bemutatja, hogy milyen fontos szerepe van a szalicilsavnak az abiotikus és biotikus stresszekkel szembeni általános rezisztencia kialakításában, ugyanakkor a növények életműködését, növekedését és fejlődését normál körülmények között is számos módon befolyásolja.

Tanulási célkitűzések:

Tudás

- tudja, hogy a szalicilsav a növényi biotikus és abiotikus stresszválaszokban is központi szereppel bír
- ismeri a szalicilsav metabolizmusának meghatározó lépéseit
- tudja ismertetni a szalicilsav növényekre gyakorolt főbb fiziológiai hatásait
- ismeri a patogén támadásra adott növényi válaszok alapvető típusait
- érti a kórokozókra adott növényi válaszokban a szalicilsav szerepét
- ismeri a szalicilsav érzékelésének és jelátvitelének lényegét

Képesség

- képes a szalicilsav, mint növényi hormon, fiziológiai hatásainak felismerésére és vizsgálatára

Attitűd

- nyitott a szalicilsav, mint növényi hormon, mélyebb tanulmányozására,
- nyitott a szalicilsav, mint növényi hormon, fiziológia hatásainak kísérletes vizsgálatára

Autonómia/felelősség

- önállóan érvel amellett, hogy szalicilsav a növények kórokozókkal szembeni védekezésében gyakorlati jelentőséggel bír

3.9.1. A szalicilsav felfedezése

Már az ókori görögök is tudták, és tőlük függetlenül az amerikai indiánok is felfedezték, hogy a fűzfa levelei és barkája jótékonyan hat a fejfájásra és általánosságban fájdalom- és lázcsillapító hatása van (1). 1828-ban Johann Buchner izolálta először az aktív frakciót fűzfa kéregből, egy szalicilalkohol-glükozid származékot, a szalicint. Tíz évvel később Raffaele Piria olasz vegyész alakította át a szalicint, és a cukor mellett keletkező savas komponenst szalicilsavnak nevezte el (*Salix* sp. = fűz) (2). A szalicilsavat 1859-ben szintetikus úton is előállították, de keserű íze és mellékhatásai miatt a módosított formája vált gyógyszer alapanyaggá. A német Bayer gyógyszergyárban állították elő 1898-ban az acetilszalicilsavat és hozták forgalomba aszpirin néven (az elnevezés az acetylszalicilsav rövidítésből és Piria nevéből származik). Az aszpirin volt az első iparilag gyártott szintetikus gyógyszer, és a mai napig is a legnagyobb mennyiségben előállított gyógyszerek közé tartozik. Széleskörűen alkalmazzák gyulladáscsökkentő, fájdalom- és lázcsillapító, véralvadásgátló hatása alapján különböző betegségek kezelésére. Azt, hogy a szalicilsavat növényi növekedésszabályozónak kellene tekinteni, először 1974-ben vetette fel Cleland és Ajami (3). 1979-ben fedezték fel, hogy a szalicilsavnak szerepe van a növények védekezésében. Dohány növények aszpirinnel történő kezelése fokozta a dohány mozaik vírussal szembeni ellenállóságát (4). Későbbi vizsgálatokban kimutatták, hogy patogén fertőzés

hatására a szalicilsav (SA) szintje megemelkedik és ún. patogenezis-kapcsolt gének transzkripció aktiválásával segíti elő a rezisztencia kialakulását (2).

3.9.2. A szalicilsav kémiai szerkezete, előfordulása

Az SA egy viszonylag egyszerű hidroxilált aromás vegyület (2-hidroxi-benzoészav), a fenolvegyületek közé tartozik (3.9.1. ábra), a másodlagos anyagcseretermékek közé sorolható. A szalicilsavat a prokariota és eukariota szervezetek széles köre elő tudja állítani. Koncentrációja a növényekben $1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ friss tömeg értéknél magasabb is lehet (1, 5). A növények képesek a szalicilsavat a talajba kiválasztani és ezzel befolyásolni, gátolni más növények csírázását és növekedését (allelópátia). Az SA az allelopátiás hatást elsődlegesen a membránok depolarizációjával éri el, ami a K^+ -felvétel gátlásán keresztül okoz vízpotenciál csökkenést (1). Mivel talajlakó mikroorganizmusok is képesek az előállítására, a rizoszférában is elérheti az $1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ talaj koncentrációt.

3.9.3. A szalicilsav bioszintézise és metabolizmusa

Növényekben az SA bioszintézisének két útvonala ismert, mindkét útvonal a korizimátból indul ki. Az ún. fenilpropanoid útvonal citoplazmatikus (5). Kulcsenzime a fenilalanin-ammónia-liáz (PAL), amely fenilalaninból képez transz-fahéjsavat, majd benzoészavon keresztül keletkezik a szalicilsav (3.9.1. ábra, (6)). A kloroplasztisban lejátszódó bioszintézis út izokorizimát köztes termékén keresztül, két lépésben eredményez SA-t, a kulcsenzim az izokorizimát szintáz (ICS). Arabidopsisban két ICS gén (más néven *SID2*, *SALICYLIC ACID INDUCTION DEFICIENT 2*) található. Az ICS1 enzim biotikus és abiotikus stressz esetén játszik fontos szerepet az izokorizimát-függő SA-bioszintézisben, míg az ICS2 inkább az alap szalicilsav bioszintéziséért felelős (2). Az *ics1 ics2* dupla mutáns növények SA szintje a vad típus 20%-a, stressz esetén 5-10%-a. A négy PAL génben mutáns *pal1-4* növények SA szintje a vad típus 25%-a, stressz esetén 50%-a. Arabidopsisban tehát mindkét útvonal hozzájárul mind az alap-, mind a stressz-indukált SA szintézishez, de jelentőségük növényfajtól és stresszhatásoktól függően eltérő lehet (2).

A növényekben az SA nagyobb része konjugátum formában fordul elő. Az SA legfőképp glükózilálódik és metilálódik (3.9.1. ábra). A citoplazmában keletkezett SA-glükozid a vakuólumba transzportálódik, ahol raktározódhat és szükség esetén visszaalakulhat SA-vá (5). A metil-szalicilát (MeSA) transzport forma, illékony inaktív prekursor (7). A MeSA (SA) a floémén keresztül transzportálódik és képes pl. a fertőzött szervből a nem fertőzött szervekbe eljutni. Az SA 2,3-dihidroxibenzoáttá történő hidroxilációja inaktiválódást eredményez.

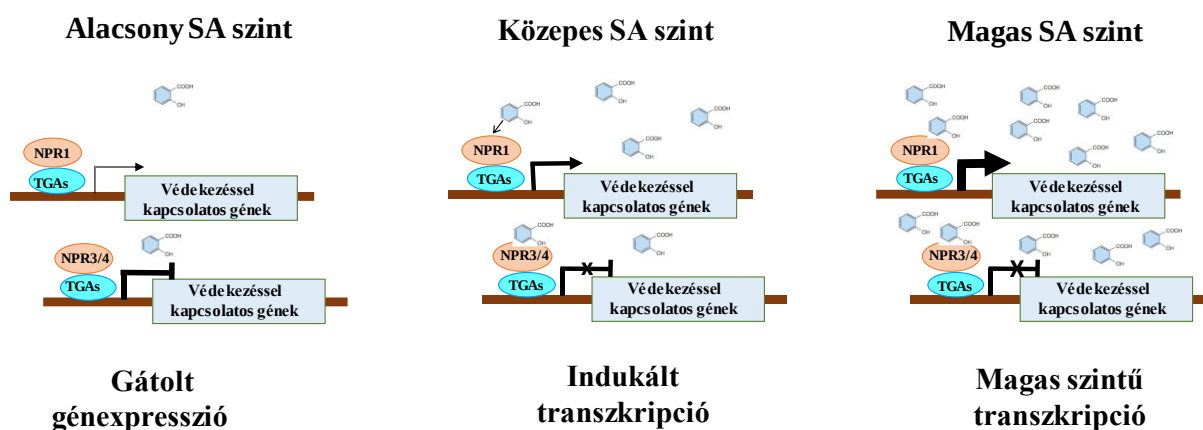
3.9.4. Az SA érzékelése és jelátvittele

3.9.4.1. Az SA receptorának és jelátvitelének megismerésében fontos alapvető növényi betegség-ellenállóság mechanizmusok

A kórokozókkal szembeni rezisztencia egyik formája, hogy a növények a vírusok, baktériumok és gombák terjedését a fertőzés helyét körülvevő sejtek nekrozisával (sejthalál) akadályozzák meg (1). Ez a gyors sejthalálhoz, nekrotikus foltok kialakulásához vezető folyamat a hiperszenzitív reakció (HR) nevet kapta. A nekrozist a reaktív oxigén- és nitrogénformák felhalmozódása (oxidatív robbanás) előzi meg. A rezisztencia azonban kiterjedhet az egész növényre is, vagyis a nem fertőzött növényrészek is rezisztenssé válhatnak a kórokozó fertőzésével szemben (immunitás). Ez a jelenség a szisztemikus (szerzett) rezisztencia (SAR). Érdekessége, hogy az első patogénfertőzés után hosszabb ideig, akár 1-2 hétig is fennmaradhat a fertőzéssel nem érintett szervekben (1).

(9). Az NPR1-ről ismert, hogy a citoplazmában oligomer formában van jelen, de monomerként képes a sejtmagba transzlokálódni és a TGA2, TGA5, TGA6 bZip transzkripciós faktorokkal együttműködve transzkripciós ko-aktivátorként aktiválja a védekezési gének átírását (9). A korai SA válaszgeének között szerepelnek pl. a *WRKY70*, *SARD1*, *CBP60g* transzkripciós faktor gének. Az újabb eredmények alapján az NPR3/NPR4 (redundáns) fehérjék ezzel ellentétesen befolyásolják a génexpressziót: transzkripciós korepresszorként hatva gátolják a védekezési gének átírását az NPR1-től függetlenül, de szintén a TGA2/TGA5/TGA6 transzkripciós faktorokkal kölcsönhatva (10). Az SA kötődése gátolja az NPR3/NPR4 transzkripciót represszálo aktivitását, de növeli az NPR1 transzkripciós koaktivátor aktivitását.

Az SA jelátvitel legújabb modelljét a 3.9.2. ábra szemlélteti. Az NPR1, NPR3 és NPR4 fehérjék szalicilsav receptorként is funkcionálnak. Mindhárom fehérje az SA-kötéstől függetlenül kapcsolódhat a sejtmagban a TGA transzkripciós faktorokkal (10). (Az NPR-TGA protein komplexek versengenek az SA válaszgeének promotereihez kötésért (11).) Patogén fertőzés nélkül az SA szintje alacsony és az NPR3/NPR4 a TGA2/TGA5/TGA6 transzkripciós faktorokkal kölcsönhatva gátolja a védekezéssel kapcsolatos gének expresszióját (így akadályozva az autoimmunitást). Patogén fertőzés esetén az SA szintje nő. Az SA kötődése az NPR3/NPR4 fehérjékhez felszabadítja a védekezési géneket a transzkripciós represszálas alól, miközben az NPR1-hez való kapcsolódása elősegíti a védekezési gének átírását. A kettős hatás robosztus választ eredményez fertőzés esetén és immunitás alakulhat ki (10).



3.9.2. ábra. A szalicilsav jelátviteli mechanizmusának modellje a stressz rezisztencia transzkripciós szintű szabályozásában. Az NPR1 és NPR3/NPR4 ugyanazokkal a TGA transzkripciós faktorokkal kölcsönhatva szabályozza a védekezési gének promóter régiójában azok expresszióját. Az NPR1 transzkripciós ko-aktivátorként pozitív regulátor, az NPR3/NPR4 korepresszorként negatív regulátor. SA hiányában a védekezési gének kifejeződése gátolt. Az SA kötődése az NPR3/NPR4 represszálo hatását csökkenti, az NPR1 aktivátor aktivitását fokozza, így elősegíti a védekezési gének transzkripcióját. Használt rövidítések: NPR1 = NONEXPRESSER OF PR GENES 1, NPR3/NPR4 = NONEXPRESSER OF PR GENES 3 és 4, SA = szalicilsav, TGAs = TGACG DNS-szekvencia-specifikus transzkripciós faktorok. (Csiszár Jolán ábrája)

Az SA jelátvitelében más mechanizmusok szerepe is ismert. Például a MAP kinázok közül Arabidopsisban az AtMPK3 és AtMPK6 az SA jelátvitel pozitív, míg az AtMPK4 negatív szabályozója. Emellett reaktív oxigén- és nitrogén formák, kénhidrogén és Ca^{2+} mint másodlagos jelátvivők szintén részt vehetnek az SA-válasz kialakításában (5, 12). Az SA hatását más hormonokkal kölcsönhatásban fejt ki, közülük kiemelhető az ABS, etilén, jázmonát, GS és IES (5).

3.9.5. A szalicilsav biológiai funkciói

3.9.5.1. Az SA részt vesz a biotikus és abiotikus stressz rezisztencia kialakításában

Az SA mind a helyi mind a szisztémikus szerzett rezisztencia kialakításában fontos szereplő mind biotikus mind abiotikus (szárazság, alacsony- és magas hőmérséklet, nehézfémek, só- és ozmotikus) stresszek esetén. Dohány mozaik vírussal fertőzött rezisztens dohány növényekben kimutatták, hogy az SA mennyisége a fertőzés helyén 40-szeresre nő, míg a távolabbi levelekben 10-szeres SA-szint emelkedés volt megfigyelhető, párhuzamosan a patogenezis-kapcsolt fehérje gének expressziója növekedett. A fertőzésre érzékeny fajtánál sem az SA szintje, sem a PR fehérjék expressziója nem emelkedett meg (6). Az SA specifikusan indukálja a *PR1*, *PR2* és *PR5* géneket mind a fertőzés helyén, mind attól távolabb (9). A fertőzés helyén keletkezett és távolabbra transzportálódó jel lehet a MeSA, de lipid-jellegű molekulák és kis RNS-ek szerepét is feltételezik. Exogén szalicilsav kezelés alacsony dózisban aktiválja a védekezési géneket és fokozza a stressz rezisztenciát; ebben az értelemben hasonló a hatás az emberi szervezetben alkalmazható gyógyszeres terápiához (5). Azonban az SA magasabb dózisban oxidatív stresszt indukál és káros. (A növények érzékenysége, a kiváltott hatás növényfajtól és fejlődési állapottól függően eltérő).

3.9.5.2. Az SA szerepe növekedési és fejlődési folyamatokban

A szalicilsav nemcsak stressz esetén fontos a növényekben, hanem szabályozza a növekedési és fejlődési folyamatok széles körét is. Szerepe van a csírázás, vegetatív növekedés, fotoszintézis, légzés, termogenezis, virágzás, termésképzés, öregedés és a HR-től eltérő sejthalál folyamataiban. Aktivál RNS-függő RNS polimerázt - ami a poszttranszkripció géncsendesítésben, a génexpresszió szabályozásában fontos mechanizmus -, indukálja az alternatív légzési útvonalat, sztómazárást idéz elő, befolyásolja a sejtek redox homeosztázisát (5). A fotoszintézisre gyakorolt SA hatásnál például kiemelhető, hogy igen összetett módon befolyásolja, hiszen hat a levél- és kloroplasztisz szerkezetre, klorofill- és karotinoid tartalomra, a RuBisCo aktivitásra, a fotoszintetikus hatékonyságra (5, 13). Mind a fotoszintézisre, mind a csírázásra, vegetatív növekedésre gyakorolt SA hatással kapcsolatban általánosan érvényes, hogy az endogén SA szint változtatásával (SA bioszintézis- vagy -jelátviteli mutánsok esetében csökkent vagy emelkedett SA szint esetén) vagy exogén SA kezelés alkalmazásával előfordulhat serkentés és gátlás is – növényfajtól, fejlődési állapottól és az alkalmazott SA koncentráció vagy kiváltott SA szint változás mértékétől függően (5).

Az SA virágzást indukáló hatása egyike volt azon legrégebbi megfigyeléseknek, amely alapján Cleland és Ajami felvetették, hogy a szalicilsav endogén növekedésszabályozó (3). A hosszúnappalos *Lemna gibba* növénykéek virágzását nem-induktív feltételek mellett az exogén SA serkentette, hasonló hatást írtak le néhány más növény (*Spirodela polyrrhiza*, *Wolffia microscopica*) esetében is (1). Az SA szerepét a folyamatban SA-hiányos és módosult SA jelátvitelű Arabidopsis mutánsokkal is igazolták (5).

A szalicilsav talán legérdekesebb fiziológiai hatása a termogén szövetek hőtermelésének szabályozása (1). Az egyik legjobban tanulmányozott hőtermelő folyamat a *Sauromatum guttatum* („csodagumó”) virágzatában figyelhető meg. A kifejlett virágban a torzsavirágzaton felül található a porzós virágok környezetében termelődik először hő, ami során a szövetek hőmérséklete akár 14 °C-kal is magasabb lehet a környezeténél (14). Ennek következtében bizonyos illékony anyagok gáz halmazállapotúvá válnak, így csalogatva a megporzó rovarokat a virághoz („dögszag”). Estefelé a torzsa alsó részében, a nővirágok környezetében is megemelkedik a hőmérséklet, és a virágzatba került rovarok a virágport a termős virágokhoz szállítva elvégzik a megtermékenyítést. A hőtermelést szabályozó anyagot „kalorigénnek” nevezték el, amely szalicilsavnak bizonyult (1). A szalicilsav szintje a hőtermelést megelőzően a torzsavirágzat központi részében akár 100-szorosára is növekedhet (5). Exogén SA kezelés is indukálja a termogenezist, és nem csak a termogén szövetekben (pl. dohánylevélben is). A hő termelődését a mitokondriumban lejátszódó alternatív légzési útvonalat jelentő alternatív oxidáz

(AOX) aktiválódása biztosítja. Ez a növény-specifikus enzim a mitokondriális elektrontranszportlánc II. komplexe után, az ubikinontól tudja az elektront átvenni és a molekuláris O_2 -re juttatni. Az itt felszabaduló energia nem épül be ATP makroerg kötésébe, hanem hő formájában szabadul fel. A szalicilsav szerepe az AOX génexpresszió fokozása (5).

Összefoglalás

1. A szalicilsavat először fűzfa kéregből izolálták, innen származik a neve.
2. Az SA hidroxilált fenolvegyület. Bioszintézise korizmisavból két útvonalon történhet fenilalaninon vagy izokorizmaton keresztül. Kulcsenzimei a PAL (citoplazmában) és ICS (kloroplasztisban).
3. Az SA gyakran képez glükózzal konjugátumot, ez a fő raktározott formája. A transzport formája a metilszalicilsav, ami a floémában szállítódik. Hidroxilált származéka (dihidroxibenzoát) inaktív vegyület.
4. A szalicilsavnak szerepe van a patogén fertőzések elleni rezisztencia kialakításában. Fertőzés nélkül az SA szint általában alacsony, de patogén hatásra megemelkedhet. Az SA elősegítheti a hiperszenzitív reakció (HR) kialakulását. A HR során ROS felszabadulást („oxidatív robbanást”) követően a sejtek elhalnak, nekrotikus foltok alakulnak ki – így gátolva a patogén terjedését. Az SA azonban a nem fertőzött részeken is fokozza a rezisztenciát: indukálja a védekezési mechanizmusokat, a patogenezis-kapcsolt (*PR*) gének transzkripcióját. A folyamat a szisztémikus szerzett rezisztencia (SAR).
5. Az SA receptora 3 homológ fehérje: az NPR1, NPR3 és NPR4. Az NPR1 transzkripciós ko-aktivátor, az NPR3/4 fehérjék ko-represszorok. Mindhárom fehérje kapcsolódhat a sejtmagban a TGA2/TGA5/TGA6 transzkripciós faktorokkal. Patogén fertőzés nélkül, alacsony SA szint esetén az NPR3/NPR4 a védekezéssel kapcsolatos gének expresszióját gátolja. Az SA az NPR1-en keresztül aktiválja a védekezési gének átírását, az NPR3/NPR4 fehérjékhez kötődve pedig oldja a transzkripciós represszálást. Az SA válaszgének között szerepel a *WRKY* transzkripciós faktor, *PR* gének, antioxidáns enzimek génjei.
6. A szalicilsav fiziológiai hatásai:
 - részt vesz a biotikus és abiotikus stressz rezisztencia kialakításában
 - szerepe van a csírázás, vegetatív növekedés, virágzás, termésképzés, öregedés és a HR-től eltérő sejthalál folyamataiban. Hatása növényfajtól, fejlődési állapottól és az SA koncentrációtól függően eltérő lehet
 - befolyásolja a fotoszintézist, légzést
 - elősegíti a termogén és nem-termogén szövetek hőtermelését, indukálja az alternatív légzési útvonalat, aktiválja az alternatív oxidázt
 - sztómazáródást idézhet elő
 - befolyásolja a sejtek redox homeosztázisát

Ellenőrző kérdések

1. Általában hol, milyen formában fordul elő a szalicilsav a növényekben?

2. Melyek a szalicilsav bioszintézisének főbb lépései?
3. Hol található az SA receptora?
4. Melyek az SA jelátvitel főbb lépései?
5. Melyek az SA főbb fiziológiai hatásai növényekben?
6. Hogyan befolyásolja a szalicilsav a biotikus stressz rezisztenciát?
7. Mit jelent a hiperszenzitív reakció? Mi az előnye a növény szempontjából?
8. Mi a szisztematikus szerzett rezisztencia jelentősége a növényekben?

Megvitatandó kérdések

1. Hogyan magyarázható, hogy az SA-bioszintézis kulcsenzimeinek mutációja mindkét fő útvonal esetében 75-80%-os „alap” SA-szint csökkenést eredményezett Arabidopsisban?
2. Mi lehet az oka, hogy a védekezéssel kapcsolatos gének nem fejeződnek ki állandóan magas szinten?

Javasolt irodalom

1. Erdei László (Szerk.). Növényélettan – Növekedés - és fejlődésélettan. JATEPress Szeged, Magyarország, 2011, o. 305-312.
2. J.B. Jin, B. Cai és J.-M. Zhou, Salicylic acid. In: S.M. Smith, C.Li, J. Li (Szerk.), Hormone metabolism and signalling in plants. Academic Press, U. S. A., 2017, o. 273-289.
3. R. Jones, H. Ougham, H. Thomas és S. Waaland (Szerk.), The molecular life of plants. Wiley-Blackwell, American Society of Plant Biologists, 2013, o. 367-369 .

Felhasznált irodalom

1. Erdei László (Szerk.), Növényélettan – Növekedés - és fejlődésélettan. JATEPress Szeged, Magyarország, 2011, o. 305-312.
2. J.B. Jin, B. Cai és J.-M. Zhou, Salicylic acid. In: S.M. Smith, C.Li, J. Li (Szerk.), Hormone metabolism and signalling in plants. Academic Press, U. S. A., 2017, o. 273-289.
3. C.F. Cleland és A. Ajami, Identification of the flower-inducing factor isolated from aphid honeydew as being salicylic acid. *Plant Physiol.*, köt. 54, sz.6, o. 904-906, 1974.
4. R.F. White, Acetylsalicylic-acid (aspirin) induces resistance to tobacco mosaic virus in tobacco, *Virology*, köt. 99., o. 410-412, 1979.
5. M. Rivas-San Vicente és J. Plasencia, Salicylic acid beyond defence: its role in plant growth and development, *J. Exp. Bot.*, köt. 62, sz. 10, o. 3321-3338, 2011. doi:10.1093/jxb/err031.
6. R. Jones, H. Ougham, H. Thomas és S. Waaland (Szerk.), The molecular life of plants. Wiley-Blackwell, American Society of Plant Biologists, 2013, o. 367-369.
7. S. Ali, B.A. Ganai, A.N. Kamili, A.A. Bhat, Z.A. Mir, J.A. Bhat, A. Tyagi, S.T. Islam, M. Mushtaq, P. Yadav, S. Rawat és A. Grover, Pathogenesis-related proteins and peptides as promising tools for engineering plants with multiple stress tolerance, *Microbiol. Res.*, köt. 212-213, o. 29-37, 2018. doi: 10.1016/j.micres.2018.04.008.

8. S. Yan és X. Dong, Perception of the plant immune signal salicylic acid, *Curr. Opin. Plant Biol.*, köt. 20, o. 64–68, 2014. doi:10.1016/j.pbi.2014.04.006
9. A.C. Vlot, D.A. Dempsey és D.F. Klessig, Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease. *Annu Rev Phytopathol.*, köt. 47, o. 177-206, 2009. doi: 10.1146/annurev.phyto.050908.135202.
10. Y. Ding, T. Sun, K. Ao, Y. Peng, Y. Zhang, X. Li és Y. Zhang, Opposite roles of salicylic acid receptors NPR1 and NPR3/NPR4 in transcriptional regulation of plant immunity, *Cell.*, köt. 173, sz. 6, o. 1454-1467, 2018. doi:10.1016/j.cell.2018.03.044.
11. R. Innes, The positives and negatives of NPR: A unifying model for salicylic acid signaling in plants, *Cell*, köt. 173, sz. 6, o. 1314-1315, 2018. doi:10.1016/j.cell.2018.05.034.
12. K. Gémes, P. Poór, E. Horváth, Z. Kolbert, D. Szopkó, Á. Szepesi és I. Tari, Cross-talk between salicylic acid and NaCl-generated reactive oxygen species and nitric oxide in tomato during acclimation to high salinity, *Physiol. Plant.*, köt. 142, sz. 2, o. 179-192, 2011. doi: 10.1111/j.1399-3054.2011.01461.x.
13. P. Poór, K. Gémes, F. Horváth, Á. Szepesi, M.L. Simon és I. Tari, Salicylic acid treatment via the rooting medium interferes with stomatal response, CO₂ fixation rate and carbohydrate metabolism in tomato, and decreases harmful effects of subsequent salt stress. *Plant Biol. (Stuttg.)*, köt. 13, sz. 1, o. 105-114, 2011. doi:10.1111/j.1438-8677.2010.00344.x.
14. B.B. Buchanan, W. Gruissem és R.L. Jones (Szerk.), *Biochemistry and molecular biology of plants*. 2. kiadás. American Society of Plant Biologists, 2015, o. 826-830.

3.10. Fejezet A jázmonátok

Írta: Dr. Csiszár Jolán

Bár a jázmonsavat kezdetben növekedésgátló és öregedés serkentő hormonként tartották nyilván, az elmúlt évtizedekben a mechanikai sérülésre, rovarragásra adott válaszban és az ún. nekrotróf patogénekkel szembeni védekezésben játszott szerepe került előtérbe. A legújabb kutatási eredmények gyökeresen megváltoztatták a jázmonsavnak és származékainak, összefoglaló néven a jázmonátoknak a funkciójáról, biológiai aktivitásáról alkotott képet. A következőkben ennek a vegyületcsoportnak a főbb tagjai, a növények életében játszott szerepük és hatásmechanizmusuk kerülnek ismertetésre.

Tanulási célkitűzések:

Tudás

- tudja, hogy a jázmonátok a növényi biotikus stresszválaszokban központi szereppel bírnak
- ismeri a jázmonátok metabolizmusának meghatározó lépéseit
- tudja ismertetni a jázmonátok növényekre gyakorolt főbb fiziológiai hatásait
- érti a jázmonsav-izoleucin érzékelésének és jelátvitelének lényegét
- érti a növényevő kártevőkre adott növényi válaszokban a szalicilsav szerepét

Képesség

- képes a jázmonsav, mint növényi hormon, fiziológiai hatásainak vizsgálatára, értékelésére

Attitűd

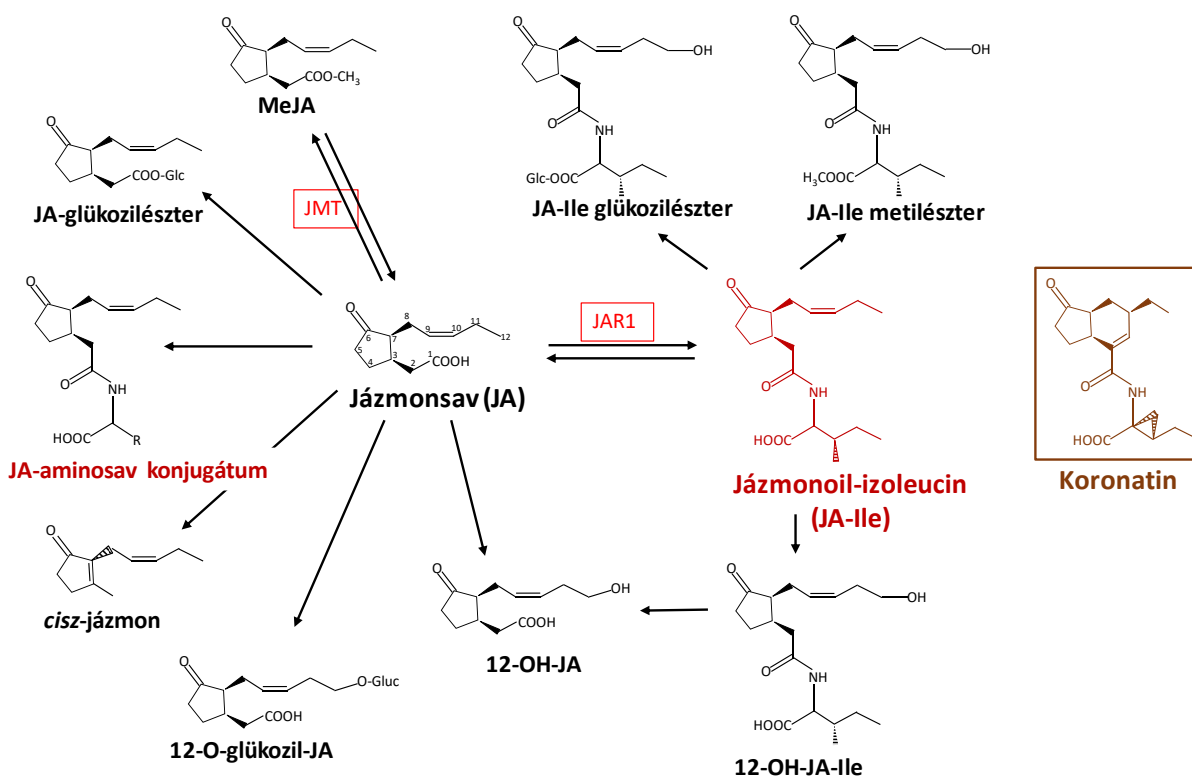
- nyitott a jázmonsav, mint növényi hormon, mélyebb tanulmányozására,
- nyitott a jázmonsav, mint növényi hormon, fiziológia hatásainak kísérletes vizsgálatára

Autonómia/felelősség

- önállóan érvel amellett, hogy jázmonsav a növényi kártevőkkel szembeni védekezésében gyakorlati jelentőséggel is bír

3.10.1. A jázmonátok felfedezése

A jázmonátok ciklopentanon gyűrűt tartalmazó zsírsav-származékok. Közéjük tartozik a jázmonsav (JA) és különböző származékai (3.10.1. ábra, (1)). A metil-jázmonát (MeJA) egyes növényfajok illóolaj tartalmának egyik komponense; a jázmin (*Jasminum grandifolium*) illatát is ez a vegyület okozza (2). A metil-jázmonátot 1962-ben izolálták jázmin virágból, a szabad savas formát (JA) pedig 1971-ben egy gomba (*Botryodiplodia theobromae*) tápközegének szűrletéből azonosították (1). Később a jázmonsav jelenlétét kimutatták különböző növényekben, és 1980-ban számoltak be a kémiai szintetizált jázmonsav és rokon vegyületeinek rizs növények növekedését befolyásoló hatásáról (3). Kezdetben a jázmonsav növekedésgátló és öregedés serkentő hatása vált ismertté, majd 1990-ben a MeJA proteináz inhibitor-indukáló hatásának megismerésével (4) a biotikus stressz elleni védekezésben és a növények közötti kommunikációban betöltött szerepük is előtérbe került.



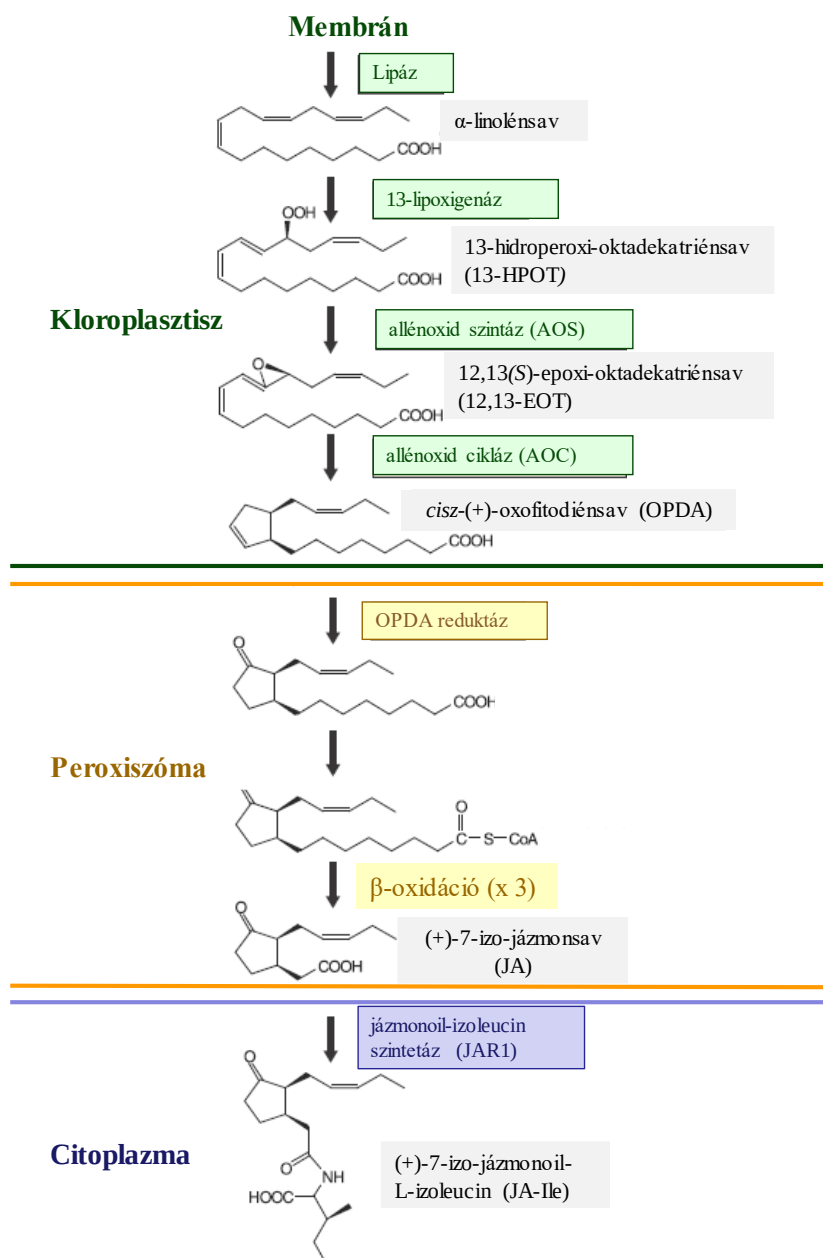
3.10.1. ábra. A jászmonsav és a növényekben előforduló fontosabb származékai, valamint a jászmonát-analóg koronatin (*Pseudomonas syringae* fitotoxinja). A biológiailag aktív forma (JA-Ile) pirossal kiemelve. Rövidítések: JA = jászmonsav, JA-Ile = jászmonsav-izoleucin konjugátum, JAR1 = „jászmonát rezisztens 1”, JA-izoleucin szintetáz, JMT = jászmonsav metiltranszferáz, MeJA = metil-jászmonát. (Csizsár Jolán ábrája)

3.10.2. A jászmonátok kémiai szerkezete, előfordulása

A jászmonátok, szerkezetileg az állati prosztoglandinokhoz hasonló oxidált zsírsav-származékok (oxilipinek). Csak gombákban, mohákban, harasztokban, nyitva- és zárvatermőkben találhatók meg. A magasabbrendű növények csaknem minden szervében kimutathatók (1). A jászmonsav koncentrációja ép szövetekben viszonylag alacsony ($30\text{--}100\text{ pmol g}^{-1}$ friss tömeg), de pl. csírázó szója magvakban $2\text{ }\mu\text{g g}^{-1}$ friss tömeg körüli értéket is elérhet. Csíranövényben a legnagyobb JA tartalmat a hipokotil kámpóban a sejtosztódás régiójában mérték. Koncentrációja sérülés esetén gyorsan megnő, de extrém nagy mennyiségben fordulhat elő a fejlődő virágokban és magképzés idején is (1).

A jászmonsavnak azonban önmagában alacsony a biológiai aktivitása. 2009-ben vált ismertté, hogy a biológiailag legaktívabb forma a jászmonsav-izoleucin konjugátum (Ja-Ile), továbbá nagyon nagy a jelentősége a ciklopentanon-gyűrűhöz kapcsolódó oldalláncok sztereokémiai elhelyezkedésének a receptorhoz való kötésben (5).

A jászmonsav két királis centrumot tartalmaz a C3-as és C7-es szénatomnál, amely négy sztereoizomer kialakulását teszi lehetővé. Az izomereket (+)- és (-)-7-jászmonátnak (*cis*- és *transz*-(*epi*)-JA), illetve (+)- és (-)-7-izo-jászmonátnak nevezzük. (A *cis*- elnevezés azt jelöli, hogy a funkciós csoportok a szénlánc azonos oldalán helyezkednek el, a *transz*- előtag arra utal, hogy a funkciós csoportok a szénlánc ellentétes oldalán találhatók.) A biológiailag aktív forma Arabidopsisban a (+)-7-izo-jazmonoil-L-izoleucin (5). A vegyületnek többféle rövidítése használatos: (+)-7-izo-JA-L-Ile vagy JA-Ile.



3.10.2. ábra. A jázmonátok bioszintézisének főbb lépései egyes résztvevő enzimek és köztes termékek feltüntetésével. A jázmonsav (JA) és jázmonsav-izoleucin konjugátum (Ja-Ile) képzésében három sejtkompartmentum vesz részt. A legfontosabb biológiailag aktív formát, a (+)-7-izo-jázmonoil-izoleucint (JA-Ileu), eredményező konjugációt a JASMONATE RESISTANT 1 (JAR1) jázmonoil-izoleucin szintetáz katalizálja. (7 alapján módosítva, a kiadó engedélyével).

3.10.3. A jázmonátok bioszintézise és metabolizmusa

A jázmonátok bioszintézise a plasztiszokban kezdődik, a peroxiszómában folytatódik, majd a citoplazmában fejeződik be (3.10.2. ábra). A kloroplasztisz membrán galakto- és foszfolipidjeiből lipáz enzimek szabadítják fel a kiindulási vegyületnek tekinthető többszörösen telítetlen zsírsavakat (6). Legáltalánosabb prekursor az α -linolénsav (18:3), amelyet lipoxigenáz, allénoxid szintáz és allénoxid cikláz alakítanak át *cisz*-(+)-oxofitodiénsavvá (*cisz*-OPDA). Sebességmeghatározó lépése az allénoxid szintáz (AOS) aktivitása. Az OPDA jut át a kloroplasztiszból a peroxiszómába, ahol egy OPDA reduktáz enzim által redukálódik és többszörös β -oxidációval rövidül a szénsavlánca, így keletkezik a jázmonsav (3.10.2. ábra). A (+)-7-izo-JA (*cisz*-izo-JA) további módosulásai a citoplazmában játszódnak le.

A jázmonsav módosulása, metabolizmusa legalább 12 különféle mechanizmus szerint megvalósulhat (6). Konjugálódhat aminosavakkal, glükózilálódhat, hidroxilálódhat, metilálódhat, karboxilálódhat, dekarboxilálódhat vagy szulfonálódhat (8). A fontosabb termékek a 1. ábrán láthatók. Hatásmechanizmusuk érdekessége, hogy a biológiailag aktív forma, a JA-Ile, egy konjugátum. Szintézisét Arabidopsisban a JAR1 (JASMONATE RESISTANT 1), jázmonoil-izoleucin szintetáz enzim végzi. A növényekben képződnek más JA-aminosav konjugátumok is, és nemrég kimutatták, hogy közülük több is (pl. JA-Leu, JA-Met, JA-Val) rendelkezik biológiai aktivitással (9). Számos más termék specifikus hatását is kimutatták, például burgonyában a 12-OH-JA (tuberonsav) és glükózil származéka serkenti a gumóképződést, azonban azt is bizonyították, hogy hatásuk indirekt (6).

A jázmonátok általános transzport formája az illékony metil-jázmonát (MeJA), amelyet a jázmonsav metil-transzferáz (JMT) enzim állít elő. Az átalakulás reverzibilis, a MeJA vissza tud alakulni jázmonsavvá, és tovább JA-Ile-ná (3.10.1. ábra, (6)). A MeJA szerepet játszhat a növények közötti kommunikációban is (7).

3.10.4. A jázmonátok érzékelése és jelátvitel

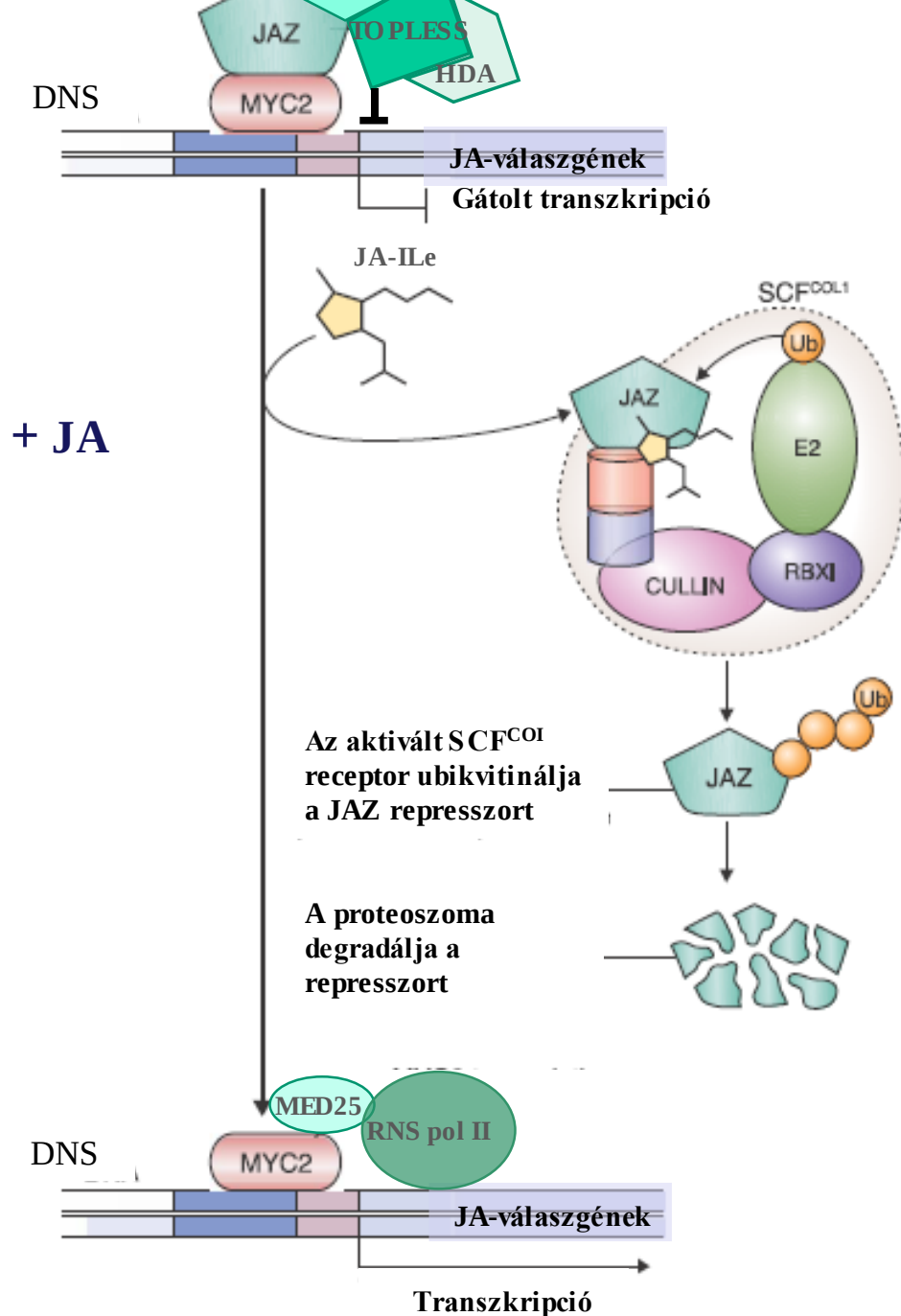
A jázmonátok érzékelési mechanizmusa analóg az auxinéval. A jelátvitel megismerését nagyban segítette különböző Arabidopsis mutánsok és a koronatin, mint jázmonát analóg használata. A vegyület a *Pseudomonas syringae* klorózist indukáló fitotoxinja és mind funkcionálisan mind szerkezetileg nagyon hasonló a JA-Ile-hoz (3.10.1. ábra). A JA-Ile receptora a CORONATINE INSENSITIVE 1 (COI1), egy F-boksz E3 ligáz fehérje, ko-receptora a JASMONATE ZIM DOMAIN (JAZ) protein, amely transzkripció represszorként funkcionál (3.10.3. ábra). A legtöbb JAZ fehérje két konzervált régiót tartalmaz. Az ún. Jas domén felelős a hormon érzékeléséért, a ZIM domén a fehérje-fehérje kölcsönhatásokért, amelyek részben dimerizációt idéznek elő (ami szükséges a működéséhez), illetve a transzkripció represszálat vagy aktiválást segítik elő (10).

Ha a sejtben alacsony a jázmonát szint, a JAZ gátolja azon transzkripció faktorok (pl. MYC2/JIN1) aktivitását, amelyek pozitívan regulálják a korai JA-válasz géneket. Ha a sejtben megnő a JA (JA-Ile) szint, a JAZ proteolízist szenved az SCF^{COI1} /ubikvitin/26S proteoszoma úton, így a transzkripció faktorok (pl. MYC2) elindíthatják a JA válaszgének expresszióját. A válasz igen gyorsan kialakul, pl. sérülések esetén 5 percen belül (10).

A jázmonátok jelátvitelének felderítése még számos újdonságot tartogat. Például az újabban leírt JA-aminosav konjugátumokkal kapcsolatban megállapították, hogy a JA-Ile-től eltérő kötőhelyen kapcsolódnak a COI receptor fehérjéhez, hatásmechanizmusuk és szerepük azonban még nem ismert. Továbbá bizonyos esetekben a DOPA (a JA bioszintézis plasztiszban keletkező stabil köztesterméke) is fejt ki biológiai aktivitást (pl. csírázásgátlás, sebzésre adott válasz, porzó- és pollen fejlődés folyamatokban), amely más jázmonáttal nem helyettesíthető (11).

- JA

Sejtmag



3.10.3. ábra. A jászmonátok jelátviteli mechanizmusának modellje. Az érzékelés és jelátvitel helyszíne a sejtmag. JA nélkül a JAZ fehérje egy represszor komplex részeként represszálja a JA jelátvitel pozitív regulátorait, mint pl. a MYC2 transzkripciós aktivátort, ekkor a JA válszágének nem fejeződnek ki. Ha JA-Ile jelen van, kapcsolódik a COI1 ko-receptorhoz és a JAZ proteinhez, ami a JAZ protein 26S proteoszomán keresztül degradációjához vezet. A represszor eltávolításával lehetővé válik a jászmonát válszágének transzkripciója. A folyamatot egy ún. mediátor komplex segíti. Főbb rövidítések: COI1 = CORONATIN INSENSITIVE 1, jászmonát ko-receptor, HDA = hiszton deacetiláz, JA = jászmonát, JAZ = JASMONATE ZIM DOMAIN, jászmonát ko-receptor, MED25 = MEDIATOR komplex alegység, MYC2 = bázikus hélix-loop-hélix (bHLHzip) transzkripciós faktor, NINJA = NOVEL INTERACTOR OF JAZ, a represszor komplexben azonosított fehérje, TOPLESS = TPL = ko-represszor. (6 és 7 alapján, módosítva, a kiadó engedélyével).

3.10.5. A jázmonátok fiziológiai hatásai

3.10.5.1. A jázmonátok nagyon fontos szerepet töltenek be a biotikus stressz elleni védekezésben, a rezisztencia kialakításában

A jázmonátok egyik legismertebb hatása a rovarkárosítókkal és az ún. nekrotróf patogénekkel szembeni védekezés elősegítésében van. A nekrotróf patogének a fertőzött növényi szöveteket erősen károsítják (pl. sejtfalbontó enzimek és/vagy toxinok szekréciójával), ellenük a JA - jelátviteli út aktiválódik (12). Akár nekrotróf patogének, akár rovarok, növényevők vagy mechanikai sérülés az okoz szöveti károsodást, a jázmonátok szintézise indukálódik, amelyek a növények stresszrezisztenciáját több módon fokozzák (10). A védekezési válaszreakciók megjelenhetnek (a szalicilsavhoz hasonlóan) lokálisan és szisztémikusan is. A lokális válaszra példa a patogenezissel kapcsolt (PR) fehérjék indukálása (a jázmonátok a MYC transzkripciós faktorokon keresztül a *PR3*, *PR4* és *PR12* transzkripcióját segítik elő) (12). A növényi sejtek elkezdnek szintetizálni védekező fehérjét (α -amiláz, proteináz inhibitorok, lektinek) és egyéb másodlagos anyagcseretermékeket (toxinok, repellensek, egyéb illóanyagok). A jázmonát-indukálta gének között példaként említhetők a fenilalanin-ammonia liáz (*PAL*), kalkon szintáz, proteináz inhibitorok génjei (8). A jázmonátok saját szintézisüket is serkentik (pozitív visszacsatolás).

A sebzési válasz egész szervezetre kiterjedő, szisztémikussá tételében fontos a transzportálódó és illékony MeJA forma is. A válasz elindításában, biotikus stressz esetén az immunitás kialakításában pedig polipeptid szignálok is fontos szerepet töltenek be. Az elsőként paradicsomban felfedezett szisztemin 18 aminosavból áll, Arabidopsisban egy 23 aminosav nagyságú peptidet (*AtPEP1*), dohányban más homológokat írtak le. Sebzés (pl. rovarrágás) hatására indukálódik a peptidhormon prekursorának (szisztemin esetében a prosziszteminnek) a szintézise, amelyből proteolitikus hasítással alakul ki a peptid hormon (2). A lokális sebzési választ szisztémikussá a szisztemin általi alakítja, hogy a floém kísérő sejtekben egy jelátviteli kaszkád aktiválásával JA szintézist vált ki. A jázmonátok (elsősorban JA és MeJA) a floémában transzportálódva eljutnak más szervekbe, levelekbe is, ahol a repellensek, inhibitorok, egyéb védekezésben fontos fehérjék génjeinek expresszióját fokozzák (10).

3.10.5.2. A jázmonátok szerepe növekedési és fejlődési folyamatokban

A jázmonsavat mint növekedésgátló és öregedés serkentő anyagot azonosították az 1980-as években (2). A jázmonátok egyéb fiziológiai hatásai is hasonlítanak az abszcizinsavhoz. Gátolják a magvak és pollenek csírázását, a hajtás és a gyökér növekedését, a kalluszk növekedését. Késleltetik a virágzást, serkentik a szenescenciát, a gyümölcsök érését és az abszcizsiót. Sztómazáródást segítenek elő, serkentik az indák, kacsok csavarodását. Fokozzák a gumóképződést, szabályozzák a másodlagos anyagcseretermékek szintézisét (nikotin, antocianin felhalmozódást indukálnak), elősegítik a raktározott fehérjék akkumulációját magvakban (13).

Összefoglalás

1. A jázmonátok oxidált zsírsavszármazékok. A legfontosabb biológiailag aktív forma a jázmonsav izoleucin konjugátuma, a (+)-7-izo-jázmonoil-izoleucin (JA-Ile)
2. A jázmonátok bioszintézise a kloroplasztiszok membránjának telítetlen zsírsavaiból származó α -linolénsavból indul ki. A kloroplasztiszban lipoxigenáz, allénoxid szintáz és allénoxid cikláz enzimek közreműködésével keletkezik a *cisz*(+)-oxofitodiénsav (*cisz*-OPDA). Az OPDA a

peroxiszmában redukálódik és a szénsavlánc rövidülésével kialakul a jázmonsav (JA). JA-Ileu és más metabolitok keletkezése a citoplazmában történik. A JA-Ile szintézisét a JAR1 (JASMONATE RESISTANT 1), jázmonoil-izoleucin szintetáz enzim katalizálja.

3. Szerkezetileg és funkcionálisan is a JA-Ile analógja a koronatin, amely a *Pseudomonas syringae* baktérium toxinja, de indukálja a jázmonát jelátvitelt.
4. A jázmonátok érzékelési mechanizmusa az auxinéhoz hasonló. A JA-Ile receptora a COI1 (CORONATINE INSENSITIVE 1), egy F-boksz E3 ligáz fehérje, ko-receptora a JAZ (JASMONATE ZIM DOMAIN) protein, amely transzkripció represszor. Jázmonát hiányában a JAZ egy represszáló komplex részeként gátolja a JA válaszgének átírását, elsősorban a MYC2 transzkripció faktor aktivitását gátolva. Ha a COI receptor JA-Ile-t köt, kapcsolódnak a JAZ ko-receptorral és ubikvitinálódását kiváltva a 26S proteoszoma rendszeren keresztül bekövetkezik a JAZ proteolízise. A MYC2 transzkripció faktor a gátlás alól felszabadulva indukálja a JA válaszgének expresszióját.
5. A jázmonátok fiziológiai hatásai:
 - a sebzési válasz közvetítői. Elősegítik a rovarkárosítókkal és az ún. nekrotróf patogénekkel szembeni védekezést lokálisan és szisztemikusan is.
 - a sebzési válasz kiterjesztése a szisztemin (és analóg peptidhormonok) közvetítésével
 - patogenezissel kapcsolatos fehérjék (*PR3*, *PR4* és *PR12*) transzkripciójának indukciója
 - másodlagos anyagcseretermékek (nikotin, antocianin) szintézisének szabályozása
 - a növények biotikus és abiotikus stresszrezisztenciájának fokozása
 - csírázásgátlás
 - a hajtás és a gyökér növekedésének gátlása
 - az indák, kacsok csavarodásának serkentése
 - sztómazáródás indukálása
 - a levelek öregedésének, a szenescenciának és abszcisszióknak serkentése
 - virágzás és termésérés késleltetése
 - raktározott fehérjék akkumulációjának elősegítése magvakban
 - gumóképződés fokozása

Ellenőrző kérdések

1. Kémiaiailag milyen típusú vegyületek közé sorolhatók a jázmonátok?
2. Melyik vegyületet azonosították *Arabidopsis*-ban biológiailag aktív formaként?
3. Milyen vegyület a koronatin? Mi a jelentősége a jázmonátokkal kapcsolatban?
4. Melyek a jázmonátok bioszintézisének főbb lépései?
5. Milyen főbb metabolikus átalakulásokon mehet keresztül a jázmonsav?
6. Hol található a JA-Ile receptora?
7. Melyek a JA-Ile jelátvitel főbb lépései?
8. Mik az jázmonátok főbb fiziológiai hatásai növényekben?

Megvitatandó kérdések

1. A növényi hormonok közé a jázmonsavat sorolták, de ma már inkább a jázmonátok elnevezést használjuk. Miért?
2. Mind a szalicilsavnak mind a jázmonátoknak fontos szerepe van a biotikus stresszválaszban. Helyettesíthetik-e egymást? Mennyire fed át illetve különbözik a funkciójuk?

Javasolt irodalom

1. Erdei László (Szerk.). Növényélettan – Növekedés - és fejlődésélettan. JATEPress Szeged, Magyarország, 2011, o. 291-298.
2. Q. Zhai, C. Yan, L. Li, D. Xie és C. Li, Jasmonates. In: S.M. Smith, C. Li, J. Li (Szerk.), Hormone metabolism and signalling in plants. Academic Press, U. S. A., 2017, o. 243-272.
3. R. Jones, H. Ougham, H. Thomas és S. Waaland (Szerk.), The molecular life of plants. Wiley-Blackwell, American Society of Plant Biologists, 2013, o. 362-364 .

Felhasznált irodalom

1. Q. Zhai, C. Yan, L. Li, D. Xie és C. Li, Jasmonates. In: S.M. Smith, C. Li, J. Li (Szerk.), Hormone metabolism and signalling in plants. Academic Press, U. S. A., 2017, o. 243-272.
2. Erdei László (Szerk.), Növényélettan – Növekedés - és fejlődésélettan. JATEPress Szeged, Magyarország, 2011, o. 291-298.
3. H. Yamane, J. Sugawara, Y. Suzuki, E. Shimamura és N. Takahashi, Syntheses of jasmonic acid related-compounds and their structure –activity-relationships on the growth of rice seedlings, *Agric. Biol. Chem.*, köt. 44, o. 2857-2864, 1980.
4. E.E. Farmer és C.A. Ryan, interplant communication: airborne methyl jasmonate induces synthesis of proteinase inhibitors in plant leaves, *Pro. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, köt. 87, o. 7713-7716, 1990.
5. S. Fonseca, A. Chini, M. Hamberg, B. Adie, A. Porzel, R. Kramell, O. Miersch, C. Wasternack és R. Solano, (+)-7-iso-Jasmonoyl-L-isoleucine is the endogenous bioactive jasmonate, *Nat. Chem. Biol.*, köt. 5, sz. 5, o. 344-350, 2009. doi:10.1038/nchembio.161.
6. C. Wasternack és M. Strnad, Jasmonates: News on occurrence, biosynthesis, metabolism and action of an ancient group of signaling compounds. *Int. J. Mol. Sci.*, köt. 19, sz. 9, pii, E2539, 2018. doi: 10.3390/ijms19092539.
7. R. Jones, H. Ougham, H. Thomas és S. Waaland (Szerk.), The molecular life of plants. Wiley-Blackwell, American Society of Plant Biologists, 2013, o. 362-364.
8. B.B. Buchanan, W. Gruissem és R.L. Jones (Szerk.), Biochemistry and molecular biology of plants. 2. kiadás. American Society of Plant Biologists, 2015, o. 821-825.
9. J. Yan, S. Li, M. Gu, R. Yao, Y. Li, J. Chen, M. Yang, J. Tong, L. Xiao, F. Nan és D. Xie, Endogenous bioactive jasmonate is composed of a set of (+)-7-iso-JA-amino acid conjugates. *Plant Physiol.*, köt. 172, sz. 4, o. 2154-2164, 2016.
- A. Larrieu és T. Vernoux, Q&A: How does jasmonate signaling enable plants to adapt and survive? *BMC Biol.*, köt. 14, sz. 1, o. 79, 2016. DOI: 10.1186/s12915-016-0308-8
10. G.Z. Han, Evolution of jasmonate biosynthesis and signaling mechanisms, *J. Exp. Bot.*, köt. 68, sz. 6, o.1323-1331, 2017. doi: 10.1093/jxb/erw470.
11. S. Ali, B.A. Ganai, A.N. Kamili, A.A. Bhat, Z.A. Mir, J.A. Bhat, A. Tyagi, S.T. Islam, M. Mushtaq, P. Yadav, S. Rawat és A. Grover, Pathogenesis-related proteins and peptides as promising tools for

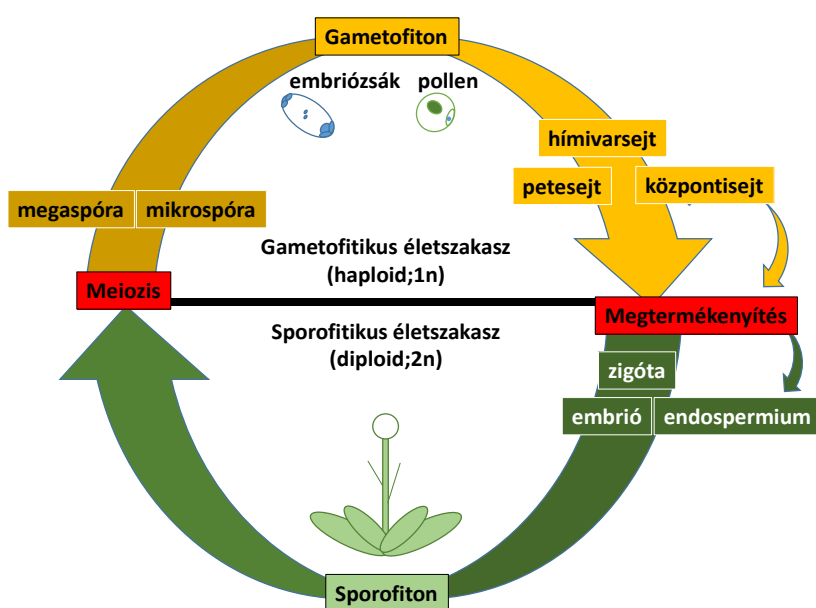
- engineering plants with multiple stress tolerance, *Microbiol. Res.*, köt. 212-213, o. 29-37, 2018. doi: 10.1016/j.micres.2018.04.008.
12. H. Huang, B. Liu, L. Liu és S. Song, Jasmonate action in plant growth and development. *J. Exp. Bot.*, köt. 68, sz. 6, o. 1349-1359, 2017. doi: 10.1093/jxb/erw495.

4. Rész A zárvatermő növények egyedfejlődésének szakaszai

A magvas növények életének két nagy szakasza különíthető el: a méretében és időtartamában domináns ivartalan (sporofitikus) és a méretében és élettartamában redukált ivaros (gametofitikus) életszakasz. Mivel a két életszakasz ciklikusan követi egymást (4.1. ábra), a jelenséget „nemzedékváltakozásnak” is szokták, helytelenül, nevezni, mivel nem nemzedékek, hanem ugyanazon nemzedék életszakaszai váltják egymást.

A sporofitikus életszakaszban a növény (a sporofiton) diploid sejtekből áll. A későbbiek során részletes tárgyalásra kerülő fejlődésének eredményeként egyes sejtjei meiotikusan osztódva haploid spórákat hoznak létre. Ezekből fejlődik mitotikus osztódások révén a haploid női (embriózsák) illetve hím (pollen) gametofiton. A gametofitonokban differenciálódnak az ivarsejtek (gaméták). A gaméták fúzióját (megtermékenyítés) követően létrejövő diploid zigóta az új egyed sporofiton életszakaszának kezdete. A sporofiton fejlődését négy szakaszra oszthatjuk: embriogenezis (a zigóta embrióvá fejlődésének szakasza), vegetatív fejlődés (növekedési szakasz), reprodukció (virágzás), valamint szenescencia (az öregedés fázisa). A reprodukció szakasz magába foglalja a spórák és a gametofiton kialakulását, valamint az ivarsejtképződést (sporogenezis illetve gametogenezis). A megtermékenyítéssel, az embriófejlődéssel, valamint a vegetatív fejlődés kezdetével (csírázás) szorosan összefügg a zárvatermő növények termés és mag fejlődése. Ebben a fejezetben ezek a növényi egyedfejlődési szakaszok kerülnek bemutatásra kiemelve a főbb morfogenetikus történéseket és a hozzájuk kapcsolódó hormonális és molekuláris szabályozó mechanizmusokat.

Elsőként az ivarsejtek kialakulásától a zigóta létrejöttéig tekintjük át a folyamatokat, amit az embrió, a mag, illetve a termés fejlődésének bemutatása követ. Ezek után a csírázástól a növény teljes kifejlődéséig tartó, a vegetatív szervek fejlődését magában foglaló, életszakaszt mutatjuk be, majd a vegetatív-reprodukció egyedfejlődési átmenet, a virágzás és a virágfejlődés tárgyalása következik. A fejezetet a szervek, illetve a szervezet öregedési folyamatainak ismertetésével zárjuk.



4.1. ábra A zárvatermők kétszakaszos egyedfejlődése, életszakasz-váltakozása. (Fehér Attila ábrája)

4.1. Fejezet Ivarsejtképződés, megporzás és megtermékenyítés

Írta: Prof. Dr. Fehér Attila

Tanulási célkitűzések:

Tudás:

- tudja mi az állati és növényi ivarsejtképződés folyamatai között a lényegi eltérés
- érti a sporogenezis és a gametogenezis fogalmakat, el tudja azokat különíteni
- tudja, hogy hogyan hívjuk és milyen sejtekből áll a női, illetve hím gametofiton
- tudja ismertetni a pollinációtól a megtermékenyítésig tartó folyamat fontosabb lépéseit
- ismeri a pollencső növekedésének sajátosságait
- érti a kettős megtermékenyítés lényegét

Képesség:

- képes felismerni a növények beporzásának sikerességét befolyásoló tényezőket
- képes növények beporzásának sikerességét pozitívan vagy negatívan befolyásolni

Attitűd:

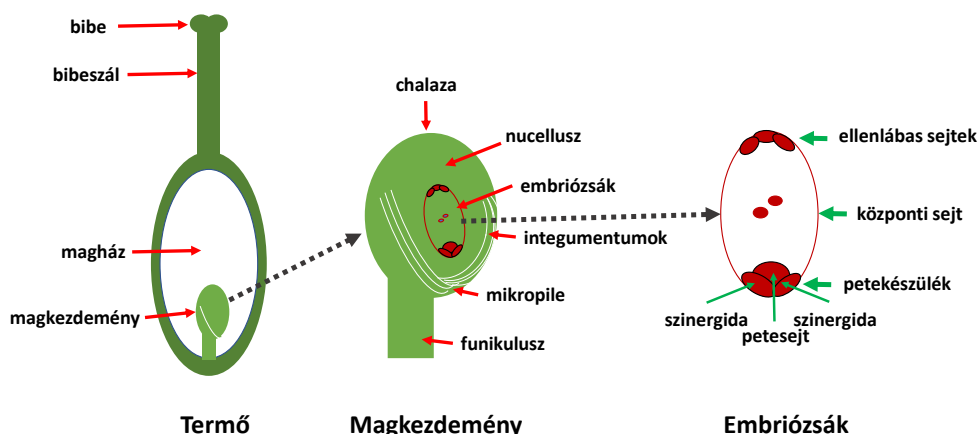
- nyitott a növények ivaros szaporodási folyamatainak mélyebb tanulmányozására

Autonómia/felelősség

- önállóan érvel a pollinációt végző rovarok (állatok) védelmének fontossága mellett
- önállóan nyilvánít véleményt az ivarsejtképződés, megtermékenyítés és beporzás jelentőségéről a növények nemesítése és az emberiség táplálék ellátása során

4.1.1. A gametofitikus egyedfejlődési szakasz

A növények és az állatok ivarsejtképződésének egyedfejlődési szabályozása alapvetően eltér (1). Állatokban a csíravonal, a kifejlett felnőtt organizmusban az ivarsejteket létrehozó speciális összejt populáció, már az embriogenezis korai szakaszában elkülönül a testi sejteket létrehozó sejtvonalaktól és genetikailag inaktív (nincs génaktivitása). Ez az elkülönülés biztosítja, hogy a testisejtekben bekövetkező esetleges mutációk (szomatikus mutációk) nem jelennek meg a csíravonalban és nem örökítődnek át a következő nemzedékre. Az állati organizmus élete során csak a csíravonal sejtjei osztódhatnak meiotikusan. Növényekben az élet egy késői szakaszában, a vegetatív-reproduktív egyedfejlődési átmenetet követően fejlődő szaporító szervekben (termő, illetve porzó) szomatikus sejtek spórásséjtté (archespóra) differenciálódnak melyek meiózison keresztül ivaros spórákat (makro- illetve mikrospóra) hoznak létre. A haploid spórák mitotikus osztódásokon keresztül női, illetve hím gametofitonná fejlődnek, melyben kifejlődnek az ivarsejtek. Ez azt jelenti, hogy egyes szomatikus mutációk megjelenhetnek a csíravonalban és öröklődhetnek. Azonban a haploid gametofiton sejtjei genetikailag aktívak, így az alapvető sejtfunkciókat érintő káros mutációk kisselektálód (az ilyen mutációkat hordozó sejtek nem képesek életképes ivarsejtté differenciálódni). Lehetőség van viszont arra is, hogy semleges vagy hasznos mutációk átöröklésre kerülve hozzájáruljanak a növényfaj genetikai variabilitásához, ami elősegítheti a környezeti feltételkehez való genetikai adaptációt.



4.1.1. ábra A termő, a megkezdemény, és az embriózsák felépítésének vázlata. (Fehér Attila ábrája)

4.1.1.1. A női gametofiton és a petesejt fejlődése

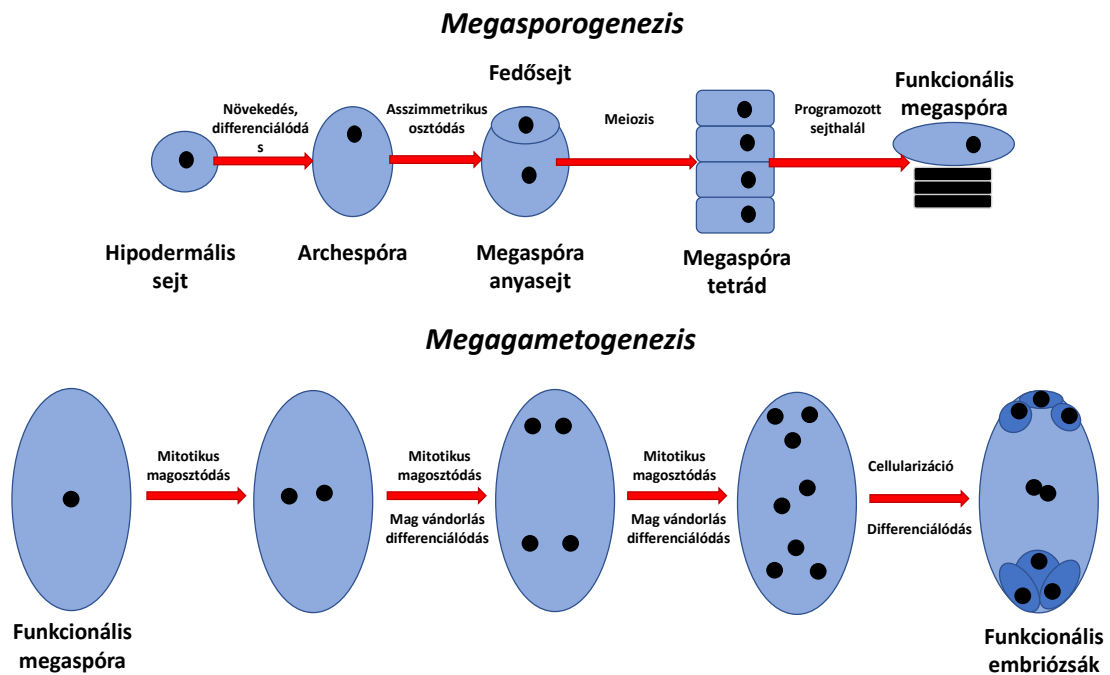
A női csírvonal a termőben fejlődik (4.1.1. ábra). A termő (gynoeceum) hozza létre és védi az ovulomot (a magkezdeményt) és szelektív gátat képez a pollináció során a pollennek. Zárvertermőkben a termőlevelek összenőve és üreget képezve hozzák létre a magházat (ovárium) és az abban elhelyezkedő magkezdeményeket (ovulum). A termőlevél belső felszínén helyezkednek el a placenták (maglécek) amelyeken a magkezdemények ülnek. A magház felfelé elkeskenyedve a bibeszálban folytatódik, amelynek a csúcsi része a bibe. A magkezdemény a maglécen differenciálódik. Részei a test (nucellusz) amiben az embriózsák (női gametofiton) fejlődik, és a peteburok (integumentum) ami körülveszi. Az integumentumok által szabadon hagyott nyílás a mikropile (peteszáj). A nucellusz „alsó” része a chalaza (köldökfolt), ahol az integumentumok és a nucellusz már nem különül el, és együttesen a funikuluszban (köldökszínór) folytatódnak, ami a magléchez kapcsolja a magkezdeményt.

4.1.1.1.1. Megasporogenezis

A megasporogenezis (4.1.2. ábra) azzal indul, hogy a termő fejlődésének korai szakaszában a nucellusz egy csúcsi elhelyezkedésű bőrszövet alatti (hipodermális) sejtjéből nagyméretű, plazmában gazdag archespóra sejt differenciálódik (2). Az archespóra mitotikusan osztódva egy fedősejtet és egy megaspóra anyasejtet hoz létre. Ez utóbbi számfelező osztódással (meiózis) négy utódsejtet (tetrád) hoz létre, amelyek egy vonalban helyezkednek el. A négy megaspóra közül csak egy, a chalazához legközelebbi marad meg, a többi programozott sejthalállal elpusztul (degradálódik). Az életben maradt sejtet nevezzük funkcionális megaspórának.

4.1.1.1.2. Megagametogenezis

A megaspóra hozza létre a női gametofitont (megagametogenezis; 4.1.2. ábra). A haploid funkcionális megaspóra mitotikus osztódásokkal három ütemben nyolc sejtmagot hoz létre, melyeket kezdetben nem határol el sejtfal (2). A sejtmagok a pólusok felé vándorolnak majd mindkét póluson 3-3 sejtmag citoplazmával és fallal körülvéve magát sejté különül el (cellularizálódik): a mikropile irányában elhelyezkedők a petekészülék (petesejt és két segítő sejt vagy szinergida), a chalaza irányában elhelyezkedők az ellenlábas sejtek. A két központi mag összeolvadva az embriózsáksejt diploid központi magjává alakul. A zárvertermők többségében a fejlett embriózsák tehát nyolc haploid sejtéből jön létre úgy, hogy kettő magja összeolvad.



4.1.2. ábra A megasporogenezis és megagametogenezis folyamatainak vázlata. Magyarázat a szövegben. (Fehér Attila ábrája)

Az embriózsák polarizált struktúra (3): a chalazális és a mikropiláris régióban speciális sejt típusok (ellenlábás sejtek, illetve petekészülék) differenciálódnak. A polaritás már a négymagvú állapotban megjelenik, amikor két-két mag a pólusok felé vándorol egy nagy vakuóllummal elválasztva. A leendő központi sejt magjait nagy sejtmagvacskájuk korán megkülönbözteti a többi magtól. A magok precíz elrendeződése és differenciálódása már a cellularizációt megelőző specifikációra utal. Az embriózsák sejtjeinek differenciálódását az embriózsákban kialakuló auxin koncentráció grádiense szabja meg. A koncentráció a mikropile felőli oldalon a legmagasabb és a chalazális régió felé fokozatosan csökken. Ha megzavarjuk az auxin grádiens kialakulását, megváltozik az embriózsák sejtjeinek differenciálódása is. Például, ha magas auxin szintet idézünk elő a chalazális régióban, akkor az ellenlábás sejtek helyett ott is szinergidák és/vagy petesejtek alakulnak ki.

4.1.1.2. A hím gametofiton és a hímivarsejtek fejlődése

A mikrospóra és a hím gametofiton, a pollen, és benne a hím ivarsejtek fejlődése a hím ivarlevélen, a porzón zajlik (4.1.3. ábra). Minden porzó két fő részből, a portokokból és a porzószálból áll. A portokban fejlődik a hím gametofiton, a pollen. A porzószál biztosítja a portokok számára a tápanyagok és a víz szállítását és úgy pozicionálja a portokot, hogy a megtermékenyítés megtörténhessen. A portok részei: négy kamra, ezek a pollenzsákok (mikrosporangiumok). A pollenzsákot több sejtréteg (epidermisz, endotécium, köztes réteg, tapétum) veszi körül.

4.1.1.2.1. Mikrosporogenezis

Az archespóra sejtek az antéra fejlődés korai szakaszában differenciálódnak az antérakezdemény epidermisz alatti (hipodermális) sejtrétegben (4). Az archesporális sejt periklinálisan és aszimmetrikusan osztódva az elsődleges parietális (fali) sejtet és egy elsődleges sporogén sejtet hoz létre (4.1.3. ábra). Az elsődleges fali sejt további osztódásaival a pollenzsák szomatikus sejtrétegeit (endotécium, köztes réteg, tapétum) hozza létre, míg a sporogén sejt osztódásai számos mikrospóra

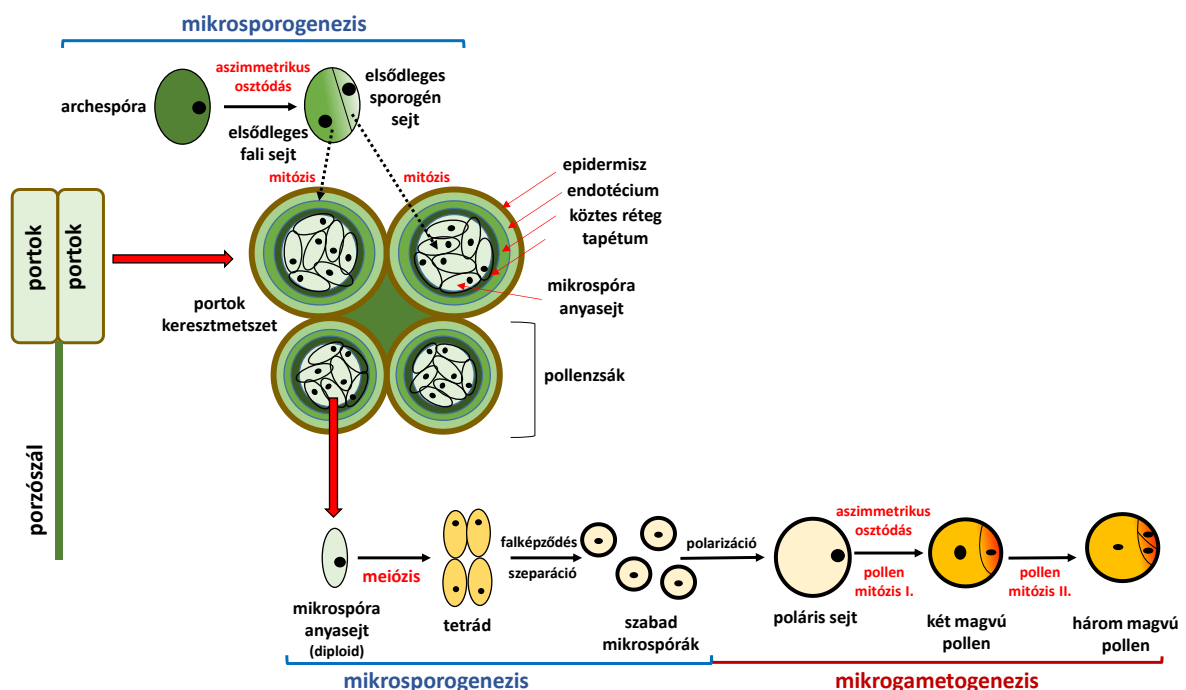
anyasejtet eredményeznek. Összehasonlításképpen: a termőben az archespóra csak egyetlen reprodukív sejtet, a megaspóra anyasejt, hoz létre.

A diploid mikrospóra anyasejtek meiózison keresztül létrehozzák a négy haploid mikrospórát (tetrád). A mikrospórák elválnak egymástól és a vegetatív sejtektől, megnagyobbodnak, és kallóz tartalmú faluk képződik.

4.1.1.2.2. Mikrogametogenezis

A mikrogametogenezis során (4.1.3. ábra) a haploid mikrospórák sejtmagja perifériális pozíciót vesz fel, amelyet egy nagyon aszimmetrikus mitotikus osztódás követ (4): a létrejött kis haploid csírasejt a szintén haploid nagy vegetatív sejtbe ágyazódik. Az osztódás aszimmetriája alapvető a csírasejt és a vegetatív sejt differenciálódása szempontjából: szimmetrikus osztódás két azonos, kevert identitású sejtet eredményez. A vegetatív sejt kilép a sejtciklusból. A csírasejt kromatinja kondenzált marad és még egy mitotikus osztódáson megy keresztül létrehozva a két hímvarsejtet (néhány növény esetében a csírasejt osztódására csak később, a pollentömlőben kerül sor, ezeknek a pollenje csak két magvú). A két ivarsejt a G2 sejtciklus fázisig jut el egy újabb sejtciklusban és ott megáll. A két iker ivarsejt létrehozása elengedhetetlen a kettős megtermékenyítéshez (lásd később). A haploid hímgametofiton, a pollen, tehát egy nagy vegetatív sejtből és a beleágyazódott egy vagy két hímvarsejtből áll.

A mikrospórák és a pollen metabolitokat, tápanyagokat és sejtfa prekursorokat kapnak a pollenzsák tapétum rétegének sejtjeitől. A bicelluláris fázisban a tapétum sejtjei programozott sejthalállal elhalnak és degenerálódnak. Az elpusztult tapétum sejtekből felszabadult anyagok szükségesek a normális pollenfal kialakulásához (5). A pollen érése során vizet veszít és rendkívül ellenálló, sporopollenin tartalmú, több rétegű fallal veszi körül magát, ami biztosítja, hogy hosszú ideig megőrizze életképességét.



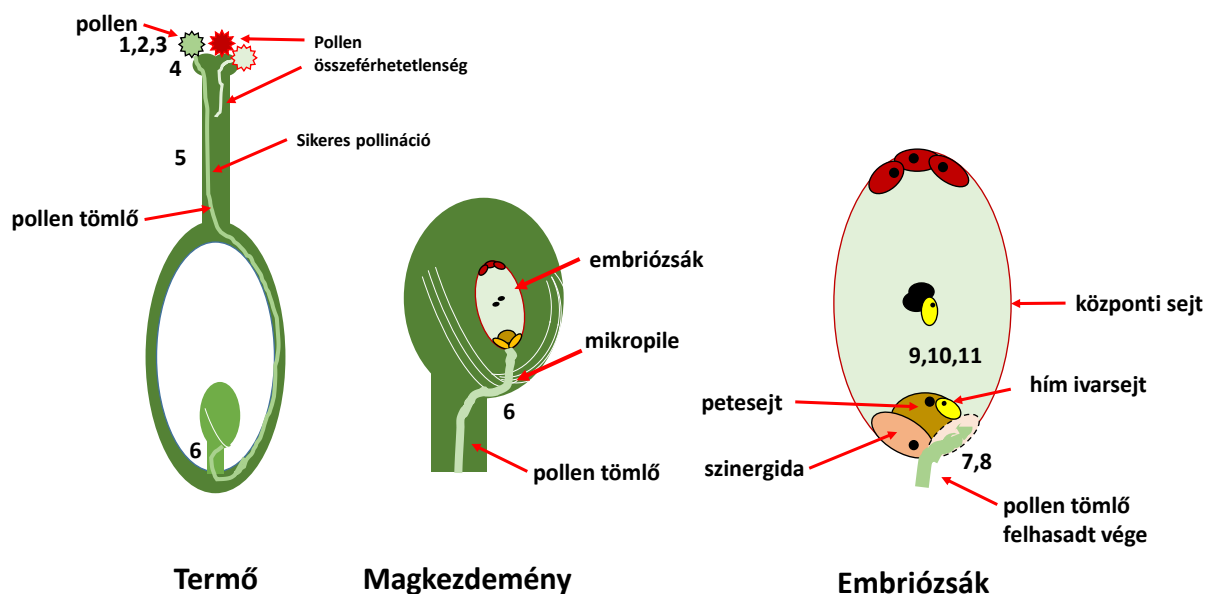
4.1.3. ábra A porzó és a portok vázlatos felépítése, valamint a mikrosporogenezis és mikrogametogenezis főbb lépéseinek vázlata. Részletes magyarázat a szövegben. (Fehér Attila ábrája)

4.1.2 Pollináció és megtermékenyítés

A megtermékenyítés a hím és a női csírasejtek összeolvadását jelenti. A zárvatermő növényekben ezt egy bonyolult folyamat a megporzás előzi meg. Ehhez a bibe felszínén a megfelelő pollenszemnek meg kell tapadnia, a pollennek vizet kell felvennie (hidratáció), hogy kihajthasson (6). A pollenfal valamelyik csírapunál (sztómium) felszakad és a vegetatív sejt egy tömlőt (pollencső, pollentömlő) hajt, amely a bibe falában halad majd behatol a bibeszál belső szöveteibe és eljut egészen az embriózsákba. A vegetatív sejtbe ágyazott két csírasejt a pollentömlő segítségével jut el az embriózsákba, az egyik szinergida sejtbe, ahol a pollencső vége „szétrobban”. Az ivarsejtek kiszabadulnak és megtermékenyítik a petesejtet, illetve a központi sejtet.

A bibén általában sok-sok pollen meg tud tapadni, melyek akár más fajokhoz is tartozhatnak, de származhatnak ugyanazon növénytől is. A megtapadás, a hidratáció és a pollentömlő hajtás ill. irányítás szintjein dől el, hogy a pollen végsősoron meg tudja-e termékenyíteni az adott növényt (6). Ezért ezek a folyamatok specifikusak, jellemzőek az adott növény fajra. Idegen fajok pollenjei vagy nem tapadnak meg kellően, nem hidratálódnak, vagy nem hajtanak pollentömlőt, vagy nem találják meg az embriózsákot. Idegen megporzó fajok esetében a saját pollen kerül felismerésre és valamilyen módon a bibe megakadályozza a beporzást, a pollencső növekedést. Több megfelelő pollen egymással versenyezve próbálja elérni az embriózsákot, ami szelekciós előnyt biztosít a leggyorsabban növekvő pollencsővel rendelkező (legéletképesebb pollen) számára.

A megporzás és megtermékenyítés szakaszait az 4.1.4. ábra foglalja össze. Megkülönböztetünk egy ún. progametikus és egy gametikus fázist. Előbbiben az ivarsejtek közvetlen nem vesznek részt, míg a másodikban ők játszik a főszerepet.



4.1.4. ábra A pollináció és megtermékenyítés szakaszai a termő, a magkezdemény és az embriózsák szintjén. Progametikus fázis: 1 - pollen megtapadás; 2 - pollen hidratáció, 3 - pollen csírázás, pollencső kialakulása; 4 - pollencső behatolása a bibe szöveteibe; 5 - pollencső növekedés a bibeszálban; 6 - pollencső behatolása az ovulumba; és 7- az ivarsejtek kiszabadulása. Gametikus fázis: 8 - ivarsejtek vándorlása az ovulumban; 9 - ivarsejtek összeolvadása (kettős megtermékenyítés); 10 - sejtmag vándorlás; 11- sejtmagfúzió (kariogámia). (Fehér Attila ábrája)

4.1.2.1. A pollen-bibe kölcsönhatás

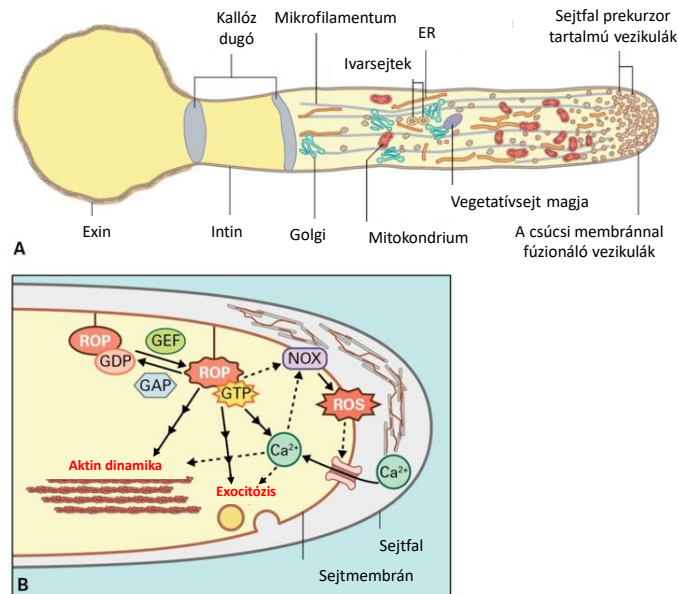
A pollen-bibe kölcsönhatásban alapvető szerepet a pollen és a bibe felszíne játszik (7). A pollenfal több rétegű és változatos felszíni struktúrájú. A pollenfal külső része a főleg nagy ellenálló képességű sporopolleninből, valamint terpénekből álló exine, a belső a poliuronsavakból vagy poliuronsavak és poliszacharidok keverékéből felépített, belső oldalán cellulózt tartalmazó intine. Az exine két részre osztható: belső, homogén rétege a nexine. Külső, oszlopocskákat/nyúlványokat tartalmazó (kolumellák/bakulák) rétege a sexine. Utóbbi felületén kialakulhat egy nagyrészt összefüggő fedőrész, a tectum vagy tektátus, melynek üregeiben olaj, viasz, pollenkitt halmozódhat fel. Az exine vékonyan maradt helyein apertúrák (csírányílások, -hasítékok) lehetnek, ezeken keresztül lép majd ki a tömlő a pollenszemből. A pollen felszínének struktúrája és az exin, valamint a pollenkitt összetétele meghatározza, hogy milyen hatékonyan tud egy adott bibén megtapadni, és hidratálódni.

A bibe felszíne alapján két fő típust különböztetünk meg: nedves és száraz bibe típust. Nedves bibéje van például a *Nicotiana*, *Citrus*, *Lilium* fajoknak. Ezeknél a fajoknál a bibe felszínén nincs folytonos kutikula, viszont a sejtek egy speciális folyadékot szekretálnak a felszínre. Ez az exudátum hosszú szénláncú lipideket tartalmaz vagy vizes fázisú és szénhidrátban gazdag – mindkét esetben sok fehérjét is tartalmaz (ezek közül sok a kórokozókkal szemben védelmet adó fehérje pl. patogén rezisztencia (PR) fehérjék, peroxidázok és észterázok). A pollen megtapadása ezeken a nedves bibefelületeken nem specifikus, a pollenek hidratációja pedig passzív. Az exudátum összetétele fajspecifikus.

Száraz bibéje van pl. a *Brassica* és *Gossypium* fajoknak. Ebben az esetben van a bibe felszínén egy folytonos kutikula réteg, nincs viszont exudátum, csak egy vékony fehérje-tartalmú réteg. Ennek fontosságát jelzi, hogy ha ezt proteinázzal eltávolítjuk akkor nincs fertilizáció. A pollen megtapadása ezeken a felszíneken specifikus; a pollenfal és a bibe felszíni összetételének, struktúrájának fontos szerepe van benne (8). A pollenkit a bibe felszíni fehérje rétegével kerül kapcsolatba, létrehozva egy közös réteget. Ez a réteg felel meg funkcionálisan a nedves bibe exudátumának és vesz részt a pollen hidratációjában, ami így nem passzív, hanem szabályozott. Pollenkit hiányos mutánsok pollenje nem hajt ki a bibén, viszont tápoldatba, párás környezetbe helyezve ezek a pollenek is képesek pollen csövet hajtani, ami igazolja, hogy a pollenkitnek valóban a hidratációban van szerepe.

4.1.2.2. A pollencső növekedése

A hidratációt követően a pollen fala felhasad és a vegetatív sejt pollencsövet hajt (4.1.5. ábra). A hidratáció irányultsága fontos lehet abban, hogy a pollencső a bibe felszíne felé hajtson ki. Dohány pollen olajban nem csírázik, de ha vizet cseppentenek az olajba, a pollencső a vízcsepp felé hajt ki. 88%-nál magasabb páratartalmú levegőben a pollencső növekedésének irányultsága elveszti pontosságát (nincs kitüntetett iránya). A pollencső kihajtásának elindításában és kezdeti irányításában a bibe sejtjei által szekretált peptidek is részt vesznek. Ezeket a vegetatív sejt membránjában elhelyezkedő POLLEN RECEPTOR KINÁZ (PRK)-ok érzékelik. A receptorok lokális aktiválódása sejtpolaritást eredményez, és a vegetatív sejt polárisan növekedni kezd (9).



4.1.5. ábra A polárisan a csúcsánál növekvő pollencső (A) és a ROP GTPázok szerepe a pollencső csúcsi növekedésének koordinálásában (B). A pollencsövet a vegetatív sejt hajtja. A pollencső növekedése során a hátsó részek kallóz dugóval elzáródnak, így a vegetatív sejt aktív plazmája és sejtmagja a növekvő pollencsőnek csak az elülső, növekvő régióját tölti ki. Itt található a két beágyazódott hím ivarsejt is. A növekedés kizárólag a csúcsi régióban zajlik, membrán vezikuláknak a pollencső csúcsi membránjába való beolvadásával. A növekedés helyét az aktív (GTP-kötött) ROP GTPázok jelölik ki. Ezek ciklikus aktiválódását szabályozó fehérjék (GEF, GAP) regulálják. Az aktív ROP GTPázok közvetve Ca^{2+} grádiens alakítanak ki a csúcsnál (reaktív oxigén fajták (ROS) által aktiválható Ca^{2+} ioncsatornákat nyitva) illetve szabályozzák az aktin filamentumok dinamikáját (lebomlás, felépülés). Ezzel biztosítják a membrán, illetve sejtfalanyag szállító vezikulák irányított transzportjának és a csúcsi membránba olvadásának koordinációját. (Forrás: Buchanan BB, Gruissem W, Jones RL (Eds) Biochemistry and molecular biology of plants. Second Edition. American Society of Plant Biologists, 2015. 19.39 ábra, a kiadó engedélyével).

A poláris pollencső növekedést a RHO-OF-PLANTS (ROP) GTPázok szabályozzák (4.1.5. ábra). A PRK receptorok a ROP GTPázokat a pollencső csúcsi membránjának belső felszínéhez kapcsoltnak aktiválják. Az aktív, GTP-t tartalmazó, ROP fehérjék specifikusan kölcsönhatnak további fehérje molekulákkal és ezzel azok funkcióját befolyásolják. Kölcsönhatásaik révén polarizálják a sejtváz szerveződését, oly módon, hogy a sejtváz mentén zajló membránvezikula szállítás a pollencső csúcsa felé irányuljon. A vezikulák biztosítják a csúcs növekedéséhez szükséges sejtmembránt, illetve szállítják oda a sejtfal szintéziséhez szükséges anyagokat. A vezikuláknak a pollencső membránjával való összeolvadását a csúcsnál kialakuló magas Ca^{2+} ion koncentráció teszi lehetővé, amit közvetve a szintén a ROP GTPázok alakítanak ki. A magas Ca^{2+} ion koncentráció azonban az aktin filamentumokat (a vezikula szállításhoz szükséges sejtváz komponenst) destabilizálja. Így a pollencső növekedése ciklikus: az aktin filamentumok növekedése és a vezikulumok szállítása, valamint a Ca^{2+} ion koncentráció emelkedése és a vezikulumok fúziója a sejtmembránhoz egymást felváltva, ciklikusan következnek be. Ezt visszacsatolási mechanizmusok teszik lehetővé, melyek következtében a ROP GTPázok aktivációja és inaktivációja is ciklikussá válik (10).

A pollencsőnek a csúcsi növekedése révén igen nagy távolságot kell megtennie a bibe szöveteiben, amíg eléri a magkezdeményt (kukorica esetében ez több, mint 10 cm is lehet!). Ezen túl, pontosan meg is kell találnia a magkezdeményt, pontosabban a mikropilét és végül az embriózsákot, azon belül pedig az egyik szinergida sejtet. Ennek során energiára és tápanyagokra, valamint irányító jelekre van szüksége. Ezeket a termő sejtjei biztosítják számára. A pollencső a bibében a sejtek közötti

állományban, vagy ha van, akkor a bibe belső üregének felszínén növekszik. Ennek során a bibe sejtjei által szekretált anyagokat vesz fel, illetve közvetlen kapcsolatban van a sejtek felszínével (6).

A pollencső növekedésének két szakaszát különböztetjük meg, annak alapján, hogy milyen jelek orientálják a növekedését (11). A sporofitikus irányítási szakaszban a termő sporofitikus sejtjei által biztosított jelek vezetnek el a magkezdeményig. A gametofitikus irányítási szakaszban az embriózsák sejtjei által adott jelek segítik a magkezdeménybe a mikropilén keresztüli belépést, valamint az embriózsák elérését és az egyik szinergidába való bejutást. A sporofitikus irányításban kimutatták a bibe sejtjei által kiválasztott peptidek (pl. az ún. plantacyaninek), a bibe sejtjeinek felszínén található arabino-galaktán fehérjék, és a gamma-aminóvajsav (GABA) grádiensének szerepét. A gametofitikus irányításban szintén peptidek vesznek részt, melyeket az embriózsák sejtjei (elsősorban a szinergidák) szekretálnak. Ezek specifikus ciszteinben gazdag peptidek (CRP-k vagy LURE-k). Ha *in vitro* pollencső tenyészetbe cseppentjük őket, akkor a pollencső növekedését maguk felé irányítják. A peptidek fajspecifikusak, csak az adott faj pollencsővére hatnak. A pollentömlő membránjában elhelyezkedő receptor kinázok érzékelik őket.

Az ovulumba az esetek túlnyomó többségében csak egy pollencső jut be. Ennek oka, hogy az első pollencső bejutásakor megszűnik a pollencsőt irányító gametofitikus irányítás. A peptid szignálokat kibocsájtó szinergidák ugyanis degradálódnak: az egyik a pollencső behatolásával párhuzamosan programozott sejthalállal pusztul el (lásd alább), a másik pedig a központi sejtbe olvad (12).

4.1.2.3. A kettős megtermékenyítés

A pollencső az embriózsákon belül az egyik szinergida sejtbe (receptív szinergida) hatol, amely degenerálódik, miközben a pollencső csúcsa „felrobban” és kiszabadulnak belőle a hímivar-sejtek (6), (13). A pollentömlő csúcsának felszakadásáért a pollencsőben megemelkedő ozmotikus nyomás és a pollencső falának meggyengülése játszik szerepet. A folyamatot a programozott sejthalállal elpusztuló szinergida citoplazmájából kiszabaduló Ca^{2+} ionok magas koncentrációja és reaktív oxigén fajták felhalmozódása váltja ki. A pollencsőben és a receptív szinergidában végbe menő folyamatok megfelelő időzítésében a szinergida és a pollencső közötti molekuláris kommunikáció játszik szerepet.

A felhasadt pollentömlőből kiszabadult két hímivar-sejt egyike a petesejttel, a másik a központi sejttel olvad össze. Valamilyen még ismeretlen mechanizmus megakadályozza, hogy ugyanazt a sejtet termékenyítse meg mindkét hímivar-sejt. A petesejtbe olvadt hímivar-sejt magja a petesejt magjához vándorol, majd egyesül vele (kariogámia). Ezzel létrejön a diploid zigóta, amely egy új egyed életének a kezdete. A központi sejt és a második hímivar-sejt magjának összeolvadásával egy triploid sejt jön létre, amely a csírázó embriót tápláló szöveté, endospermiummá fejlődik.

4.1.2.4. Az önmegtermékenyítés gátlása

Ha a megporzás egy faj két egyedének virágai között zajlik le, akkor idegenmegporzásról (xenogamia) beszélünk. Ez ideális a genetikai változatosság fenntartásához. A kétlaki növények (pl. kender, csalán) értelemszerűen csak idegenmegporzással szaporodhatnak. Az kétivarú és egylaki növények többségének esetében azonban az idegen és az önbeporzás (autogamia) egyaránt előfordulhat. Ezeknek a növényeknek egy része különféle mechanizmusokat fejlesztett ki az idegenmegporzás és így a nagyobb genetikai változatosság biztosítására. Az önmegporzás gátlása történhet a pollen termelés és a bibe receptivitásának időbeni (proterandria, protoginia) és morfológia (pl. heterostilia) elkülönülésével. Proterandrikus virágok esetén a bibe csak azután köti és hidratálja a virágport, amikor a saját portokok már kiürültek. Protoginikus virágok esetén portok nem nyílik fel, csak ha már idegen pollen került a bibére és kifejlődött a pollentömlő. A heterostilia esetében az ivarlevelek elhelyezkedése fizikailag ellehetetleníti a saját virágpor bibére jutását.

Néhány növény csoport esetében a termő képes felismerni és elutasítani a genetikailag rokon egyedek pollenjét (önmeddőség). Az evolúció során változatos molekuláris mechanizmusok alakultak ki az önmegporzás gátlására (14). Ezeknek az általános jellemzői:

- fehérje-fehérje kölcsönhatáson alapulnak
- hím- és női komponensei (molekuláris determinánsai) vannak
- a kapcsoltn öröklődő molekuláris determinánsok egy lókuszhhoz köthetők (S-lókuszt)
- a saját genotípusú hím- és női determinánsok közötti kapcsolat gátolja a pollencső csírázását, növekedését, az idegen determinánsok közötti nem
- a determinánsok molekuláris jellege változatos (az evolúció során többször függetlenül alakult ki)

Két fő típusa van: gametofitikus és sporofitikus saját-összeférhetetlenség (ön-inkompatibilitás).

Gametofitikus esetben az S-lókuszt termékei a meiózis után expresszálnak, a pollen inkompatibilitási fenotípusát a saját haploid genomja határozza meg. A saját pollencső a bibében növekedve abortál. Ez az elterjedtebb típus, jellemző pl. az alábbi családokra: Solanaceae, Rosaceae, Plantaginaceae, Fabaceae, Onagraceae, Campanulaceae, Papaveraceae és Poaceae. Sporofitikus esetben az S-lókuszt termékei a meiózist megelőzően szintetizálódnak, azaz az antéra diploid szövetei – tapétum - a meghatározóak a pollenszemek inkompatibilitási fenotípusa szempontjából. A pollen nem hajt ki a bibén. Jellemző családok: Brassicaceae, Asteraceae.

Nem minden növény kerül el az önbeporzást, számos növény esetében mivel az ivarlevek egy időben érnek van lehetősége az idegen- és az önmegporzásnak is. Más növények, pl. búza, zab, árpa virágai ki sem nyílnak, a zárt virágban történik meg az önmegporzás (kleisztogámia).

A növények nemesítése során mind az idegen megporzásnak (genetikai variációk növelése), mind az önmegtermékenyítésnek (genetikailag homogén állomány létrehozása) nagy a jelentősége, amit a fentiek miatt sokszor mesterségesen kell elvégezni.

Összefoglalás

1. Növényekben, az állatoktól eltérően, a csíravonalak az élőlény fejlődésének egy késői szakaszában, a vegetatív-reproduktív egyedfejlődési átmenetet követően jelennek meg.
2. A termőben, a magkezdemény fejlődése során zajló megasporogenezis során jön létre a diploid archesporából az egyetlen haploid megaspóra.
3. A porzóban, a portok fejlődése során zajló mikrosporogenezis során jön létre a diploid archesporából a pollensák falát alkotó három szomatikus sejtréteg, valamint a pollensák belsejét kitöltő nagyszámú haploid mikroszpóra.
4. A haploid megaspóra a megagametogenezis során három mitotikus osztódással nyolc sejtmagot hoz létre, melyek közül hat cellularizálódik (egy petesejt, két szinergida és három ellenlábass sejt) és meghatározott elrendezésben beágyazódik a két sejtmagvat megtartó központi sejtbe. Ezek a sejtek alkotják az embriózsákot, a női gametofitot.
5. A haploid mikroszpóra polarizációt követően erősen aszimmetrikus mitotikus osztódással egy nagy vegetatív és egy ebbe ágyazódó kis csíra sejtet hoz létre. Utóbbi újabb mitotikus osztódással két hímivarsejtté fejlődik. Ez a három sejt alkotja a pollent, a hím gametofitot, ami érése során ellenálló fallal veszi körbe magát és vizet veszítve desszikkálódik.

6. A pollináció és a megtermékenyítés szakaszai: Progametikus fázis: pollen megtapadás; pollen hidratáció, pollen csírázás, pollencső kialakulása; pollencső behatolása a bibe szöveteibe; pollencső növekedés a bibeszálban; pollencső behatolása az ovulumba; és az ivarsejtek kiszabadulása. Gametikus fázis: ivarsejtek vándorlása az ovulumban; ivarsejtek összeolvadása (kettős megtermékenyítés); sejtmag vándorlás; sejtmagfúzió (karyogámia).
7. A pollen-bibe kölcsönhatásban alapvető szerepet a pollen és a bibe felszíne játszik. A pollen felszínének struktúrája és az exin, valamint a pollenkitt összetétele meghatározza, hogy milyen hatékonyan tud egy adott bibén megtapadni, és hidratálódni. A bibe felszíne alapján két fő típust különböztetünk meg: nedves és száraz bibe típust. A pollen megtapadása a nedves bibefelületeken nem specifikus, a pollenek hidratációja pedig passzív. A pollen megtapadása a száraz bibén specifikus. A pollenkit a bibe felszíni fehérje rétegével kerül kapcsolatba, ez a réteg felel a pollen hidratációjáért, ami így nem passzív, hanem szabályozott.
8. A pollencső a bibében a sejtek közötti állományban, vagy ha van, akkor a bibe belső üregének felszínén növekszik. Ennek során a bibe sejtjei által szekretált anyagokat vesz fel, illetve közvetlen kapcsolatban van a sejtek felszínével. A pollencső poláris növekedését a RHO-OF-PLANTS (ROP) GTPázok szabályozzák. A pollencső növekedése ciklikus: A ROP GTPázok által szabályozott aktin filamentum növekedés és a növekedéshez szükséges membrán-vezikulumok aktin filamentumok mentén történő szállítása, valamint a szintén ROP GTPáz függő Ca^{2+} ion koncentráció emelkedés és a vezikulumok fúziója a sejtmembránhoz egymást felváltva, ciklikusan következnek be.
9. A pollencső növekedésének két szakaszát különböztetjük meg, annak alapján, hogy milyen jelek orientálják a növekedését. A sporofitikus irányítási szakaszban a termő sporofitikus sejtjei által biztosított jelek vezetnek el a magkezdeményig. A gametofitikus irányítási szakaszban az embriózsák sejtjei által adott jelek segítik a magkezdeménybe a mikropilén keresztüli belépést, valamint az embriózsák elérést és az egyik szinergidába való bejutást.
10. A pollencső az embriózsákon belül az egyik szinergida sejtbe (receptív szinergida) hatol, amely degenerálódik, miközben a pollencső csúcsa „felrobban” és kiszabadulnak belőle a hímivarsejtek. A pollentömlő csúcsának felszakadásáért a pollencsőben megemelkedő ozmotikus nyomás és a pollencső falának meggyengülése játszik szerepet.
11. A felhasadt pollentömlőből kiszabadult két hímivarsejt egyike a petesejttel, a másik a központi sejttel olvad össze (kettős megtermékenyítés). A megtermékenyített petesejtből diploid zigóta (majd embrió), a megtermékenyített központi sejtéből triploid táplálósövet (endopermium) fejlődik.
12. A növények között idegenmegporzás, önmegporzás és a kettő együtt is előfordulhat. Számos növényfaj az önmegporzás gátlásával biztosítja a genetikai változatosságát. Ez alapulhat morfológiai, időzíti, illetve molekuláris mechanizmusokon. Ez utóbbi lehet sporofitikus vagy gametofitikus szabályozású.

Ellenőrző kérdések

1. Miben tér el az állatok és a növények ivarsejt fejlődése?
2. Mi az a megasporogenezis?
3. Mekkora ideig tart a megagametogenezis?
4. Hány-szoros kromoszóma szereléssel rendelkezik egy mikrospóra anyasejt?
5. Hogyan nevezzük a női gametofitot más néven?
6. Hány sejtből áll a hím gametofiton és mi a neve?
7. Mik a pollináció szakaszai?

8. Minden bibe felszíne egyforma?
9. Mi jellemző a pollencső növekedésére?
10. Hogyan találja meg a pollencső az embriózsákot?
11. Hogyan szabadulnak ki a hímivarsejtek a pollencsőből?
12. Miért beszélünk a zárvatermőknél kettős megtermékenyítésről?

Megvitatandó kérdések

1. Hogyan változott a növények életszakasz váltakozása az evolúció során?
2. A pollináció sikerességének a hatása a termés biztonságra.
3. A mesterséges megporzás jelentősége a nemesítésben és vetőmag előállításban.

Javasolt irodalom

1. Jones R, Ougham H, Thomas H, Waaland S (Eds) The molecular life of plants. Wiley-Blackwell, American Society of Plant Biologists, 2013.
2. Taiz L, Zeiger E, Møller IM, Murphy A (Eds) Plant physiology and development, 6th edition, Sinauer Associates, Inc., 2015
3. Buchanan BB, Gruissem W, Jones RL (Eds) Biochemistry and molecular biology of plants. Second Edition. American Society of Plant Biologists, 2015.

Felhasznált irodalom

1. Walbot V. On the life strategies of plants and animals. Trends Genet. 1985. 0 1.;1:165–9.
2. Yadegari R, Drews GN. Female Gametophyte Development. Plant Cell. 2004. június 1.;16(suppl 1):S133–41.
3. Sundaresan V, Alandete-Saez M. Pattern formation in miniature: the female gametophyte of flowering plants. Development. 2010. január 15.;137(2):179–89.
4. Twell D. Male gametogenesis and germline specification in flowering plants. Sex Plant Reprod. 2011. június 1.;24(2):149–60.
5. Blackmore S, Wortley AH, Skvarla JJ, Rowley JR. Pollen wall development in flowering plants. New Phytol. 2007;174(3):483–98.
6. Dresselhaus T, Franklin-Tong N. Male-female crosstalk during pollen germination, tube growth and guidance, and double fertilization. Mol Plant. 2013. július;6(4):1018–36.
7. Edlund AF, Swanson R, Preuss D. Pollen and Stigma Structure and Function: The Role of Diversity in Pollination. Plant Cell. 2004. június 1.;16(suppl 1):S84–97.
8. Zinkl GM, Preuss D. Dissecting Arabidopsis pollen– stigma interactions reveals novel mechanisms that confer mating specificity. Ann Bot. 2000;85:15–21.
9. Löcke S, Fricke I, Mucha E, Humpert M-L, Berken A. Interactions in the pollen-specific receptor-like kinases-containing signaling network. Eur J Cell Biol. 2010. 0 1.;89(12):917–23.
10. Qin Y, Yang Z. Rapid tip growth: Insights from pollen tubes. Semin Cell Dev Biol. 2011. október 1.;22(8):816–24.
11. Lopes AL, Moreira D, Ferreira MJ, Pereira AM, Coimbra S. Insights into secrets along the pollen tube pathway in need to be discovered. J Exp Bot. 2019. június 1.;70(11):2979–92.
12. Maruyama D, Völz R, Takeuchi H, Mori T, Igawa T, Kurihara D, és mtsai. Rapid Elimination of the Persistent Synergid through a Cell Fusion Mechanism. Cell. 2015. május 7.;161(4):907–18.
13. Kanaoka MM. Cell–cell communications and molecular mechanisms in plant sexual reproduction. J Plant Res. 2018. január 1.;131(1):37–47.
14. Rea AC, Nasrallah JB. Self-incompatibility systems: barriers to self-fertilization in flowering plants. Int J Dev Biol. 2004. szeptember 1.;52(5–6):627–36.

4.2. Fejezet A mag és termés biológiája

Írta: Prof. Dr. Fehér Attila

Tanulási célkitűzések:

Tudás:

- tudja a mag fő alkotórészeinek eredetét és genetikai összetételét
- érti az állati és növényi embriógenezis közötti lényegi különbséget
- ismeri a zigóta és az embrió polaritásának hátterét és jelentőségét
- tudja ismertetni az embriófejlődés szakaszait
- ismeri azokat az alapvető mechanizmusokat, melyek az embrió fejlődési mintázatát meghatározzák
- ismeri az endospermium fogalmát és jelentőségét az emberi táplálkozásban
- tudja összehasonlítani az Arabidopsis és a kukorica endospermium fejlődését és jelentőségét a növény életében
- ismeri az apomixis fogalmát
- érti a termés jelentőségét a növények szaporodásában
- tudja összehasonlítani a száraz és a húsos termések érésének folyamatát
- ismeri a klimakterikus termés és az utóérés fogalmát

Képesség:

- képes a magok csírázását befolyásoló tényezők felismerésére, értékelésére
- képes a termések fejlődését befolyásoló tényezők felismerésére, értékelésére
- képes megkülönböztetni mag és termés típusokat és ezt a tudást alkalmazni a magok csíráztatása és a termések érésének előmozdítása érdekében

Attitűd:

- nyitott a magok és termések fejlődési folyamatainak mélyebb tanulmányozására

Autonómia/felelősség

- önállóan érvel a magok(endospermium) és a termések alapvető szerepéről az emberiség élelmezésében

4.2.1. A mag összetevői és fejlődésük

A magkezdemény a megtermékenyítést követően maggá fejlődik. A zárvatermő növények kettős megtermékenyítése során a petesejt és az egyik hímivarsejt összeolvadásából kialakul a zigóta, ami embrióvá, illetve a megtermékenyített központi sejt, ami az embriót tápláló szövetté, endospermiummá fejlődik. A maghéj, mint védő burok, a magkezdemény (ovulum) burkából (az integumentumokból) ered. A mag három fő része tehát különböző genetikai összetételű: a maghéj anyai eredetű diploid, az embrió apai és anyai diploid, az endospermium pedig kétszeresen anyai és egyszeresen apai triploid. A mag fejlődésének első szakaszában elsősorban növekedés és szöveti differenciálódás zajlik mindhárom alkotórészben, amit aktív sejtosztódások, sejtnövekedés és differenciálódás jellemeznek. A koordinációt a mag alkotórészei közötti hormonális és molekuláris kommunikáció biztosítja. Miután a zigóta embrióvá fejlődése lezárult, az embrióban a sejtosztódások leállnak, fejlődése leáll. Az embrió vizet veszít miközben szárazságtűrővé válik (desszikálódik). Ezzel párhuzamosan megkezdődik a magban (elsősorban az endospermiumban) a tartalék-tápanyagok felhalmozása és kialakul az érett maghéj. Végül a mag nyugalmi állapotba kerül, és a csírázása gátoltá válik. Megfelelő környezeti körülmények közé kerülve ez a gátlás feloldódik, a mag és az embrió

hidratálódik, az anyagcsere folyamatok és az embrió növekedése és fejlődése újra indulnak, a maghéj elvékonyodik és a növekvő embrió kitör a magból, azaz a mag kicsírázik. A mag fejlődésével párhuzamosan a termő egyéb szöveteiben (és/vagy a környező szövetekben) is növekedési, differenciálódási folyamatok indulhatnak el, melyek termés képződéshez vezetnek. A termések/áltermések, melyek magukban foglalják a magot, a mag elterjedésének a hatékonyságát növelik meg különféle módokon.

Ebben a fejezetben a fenti folyamatokról esik részletesebben szó, melyek részben még az anyanövényen zajlanak és a növények szaporodásához tartoznak, de egyben az új egyed vegetatív fejlődésének kezdeti szakaszát is magukban foglalják.

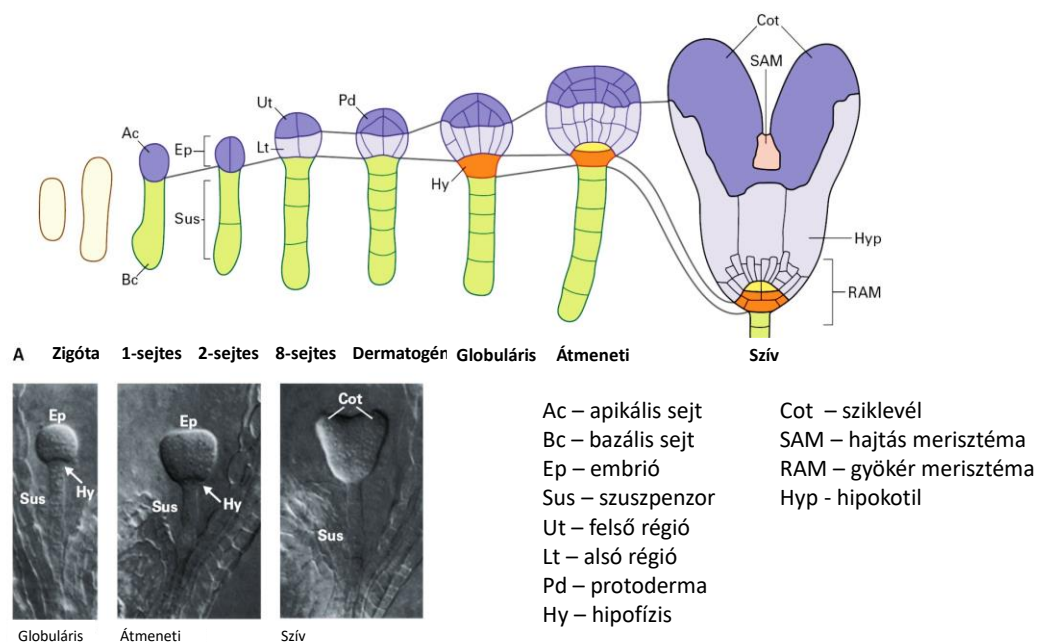
4.2.1.1. Embriógenézis

Az állatok és a növények embriófejlődése alapvetően eltér, ami összefüggésben van a két élőlénycsoport eltérő életstratégiájával. Az állatok testfelépítése és a kifejlett organizmusra jellemző alapvető szervek már az embriófejlődés során kialakulnak. Ennek megfelelően a kifejlett állati embrió az organizmus kicsinyített mása. Ezzel szemben a növények egyedfejlődése túlnyomóan „posztembrionális” jellegű, a növényi embrió nem rendelkezik a kifejlett organizmusra jellemző szervekkel. A növények testfelépítése és szervei az embriófejlődést követően alakulnak ki, ráadásul a szervképződés a növények esetében folyamatos egész életük alatt. Ez biztosítja számukra, hogy a környezeti feltételekhez igazítsák fejlődésüket, formájukat, méretüket. A növényi embriógenézis lényege tehát nem a szervek kialakítása. Ami a növényi embriógenézis alatt meghatározódik, az a növények testfelépítésére és szöveti szerveződésére jellemző apikális-bazális tengely és radiális, illetve bilaterális szimmetriák. Továbbá, az embriógenézis alatt kialakulnak már a fő szervképző régiók, a csúcsi merisztémák (a hajtás- és a gyökérmerisztéma), melyek azonban az embrióban még inaktívak.

4.2.1.1.1. Az Arabidopsis embrió fejlődési stádiumai

Az Arabidopsis embriógenézise jól definiált, irányított sejtosztódások sorozata: a sejtek sorsa könnyen nyomomonkövethető (1). Nem minden növény esetében ilyen egyszerű a helyzet, sőt, inkább ez a kivétel, ennek ellenére az Arabidopsis jó modell az alapfolyamatok tanulmányozására. A kezdeti sejtosztódás irányultsága nem meghatározó az egyedfejlődési mintázat szempontjából: pl. egyszikűekben az embriófejlődés későbbi szakaszában és máshol alakul ki az embrió apikális-bazális tengelye, de a génexpressziós mintázat mégis hasonló, mint az Arabidopsisban. Arabidopsis *tonneau* mutációja is ezt támasztja alá. Ebben a mutánsban a sejtosztódások rendezetlenek, mert a sejtosztódási síkot kijelölő sejtvezeték képződés nem alakul ki, a preprofázisos gyűrű, nem tud kialakulni. A mutáns csíranövényben mégis felismerhető az alapvető testfelépítés: van apikális-bazális tengelye, gyökere és hajtása, radiális szimmetriája stb. de a növény fejlődése gátolt, mert a szervek morfogenezise a szabálytalan sejtosztódások miatt sérül.

Az Arabidopsis embriógenézis a zigóta polarizációjával indul (4.2.1. ábra), amit horizontális aszimmetrikus osztódás követ: az apikális sejt fejlődik az embrióvá, a bazális sejt a szuszpenzor (a kifejlett szuszpenzor legfelső sejtje azonban részt vesz az embrió kialakításában, mégpedig a gyökérmerisztéma kialakulásához szükséges – ez a hipofizális sejt, lásd még később). A következő szimmetrikus osztódás síkja az apikális sejtben vertikális (merőleges az előzőre), majd ismét horizontális a sík és kialakul egy nyolcsejtes állapot, melyben a felső és alsó fejlődési domén elkülönül. Ezt ismét osztódási sík váltás, és aszimmetrikus periklinális osztódások követik, melyek révén elkülönül egy külső sejtréteg, a protoderma (ez az ún. dermatogén stádium). Ezt követően differenciálódik a szuszpenzor legfelsőbb sejtjéből a hipofizális sejt, miközben az embrió belső sejtjei vertikálisan osztódva létrehozza az alapszövet és a vaszkuláris szövet prekursor sejtjeit (korai globuláris stádium). A következő lépésben a hipofizális sejt horizontális osztódásával létrejön a gyökérmerisztéma organizáló centrumát kialakító prekursor sejt (késői globuláris stádium).



4.2.1. ábra Az *Arabidopsis thaliana* növény embriogenezisének szakaszai. (Forrás: Buchanan BB, Gruissem W, Jones RL (Eds) *Biochemistry and molecular biology of plants*. Second Edition. American Society of Plant Biologists, 2015. 19.54 ábra, a kiadó engedélyével).

A szív stádiumban megjelennek a hajtás merisztéma prekursor sejtjei is, a sziklevelkezdemények differenciálódásával párhuzamosan. Ekkor már az embrió összes régiója és alapvető szimmetriája kialakult. A torpedó stádiumban a hipokotil régió megnyúlik, a sziklevelekben pedig tápanyag raktározódik el, majd az embrió deszkálódik és nyugalomba kerül.

4.2.1.1.2. A zigóta és az embrió apikális/bazális polaritása

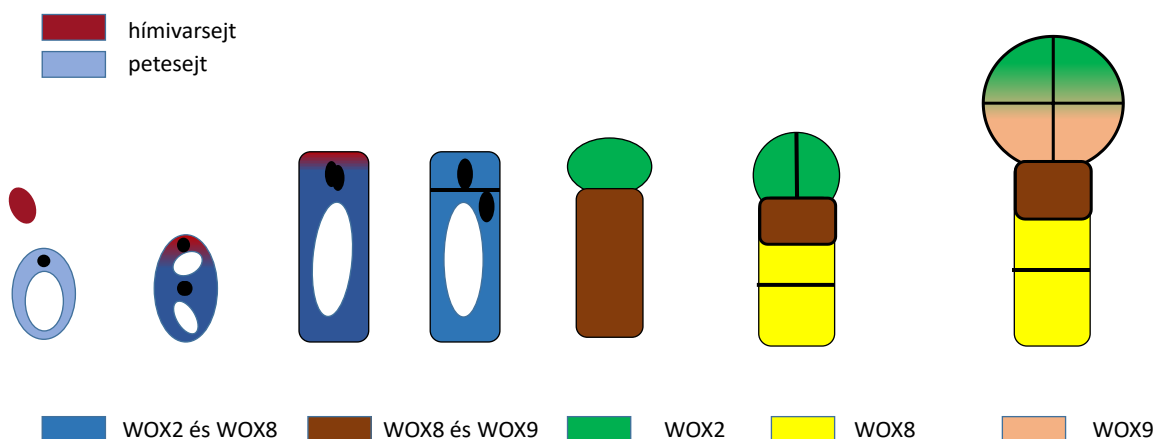
A növények testfelépítésére alapvetően jellemző egy apikális-bazális tengely és az apikális, illetve bazális régiók eltérő fejlődése, ami az apikális hajtás és a bazális gyökérzet megjelenésében ölt testet. A két nagy egyedfejlődési régiónak ez az elkülönülése egészen a megtermékenyítésig visszavezethető (2), (3).

Már a petesejt is polarizált az embriózáskban (egyik felét egy nagy vakuólum foglalja el, a sejtmag elhelyezkedése poláris). Viszont a megtermékenyítést közvetlenül követően a zigóta szimmetrikus szerveződést mutat sok kisebb vakuóloommal és centrális sejtmaggal, azonban ezt követően egy újabb polaritás alakul ki (re-polarizáció) – az apikális régió felé vándorol a sejtmag, míg a zigóta alsó felét kitölti a vakuólum. A zigóta első osztódása ennek megfelelően aszimmetrikus: a kisebb sűrű citoplazmával rendelkező apikális sejt fejlődik majd az embrióvá, az alsó nagyobb és vakuolizált sejt pedig az ún. csírafüggesztővé, idegen szóval szuszpenzorrá, ami a fejlődő embriót az anyai szövetekhez kapcsolja.

Az *Arabidopsis* korai embriogenezisének tanulmányozása során azonosítottak két olyan rokon transzkripciós faktort, melyeknek kifejeződése már a zigóta első osztódását követően elválik: a *WUSCHEL-LIKE HOMEODOMAIN 2* és *8* (*WOX 2* és *WOX8*) gén együtt expresszál a zigótában, de a zigóta osztódását követően *WOX2* csak az apikális, *WOX 8* csak a bazális sejtben mutatható ki (4.2.2. ábra). Mint homeotikus transzkripciós faktoroknak, a szerepük a sejtspecifikus (apikális/bazális) transzkripciós programok elindítása. Ez az elkülönülésük az embrió későbbi fejlődése során is megmarad, és

hozzájárul, más transzkripció faktorokkal együtt, az embrió apikális és bazális régióinak elérő fejlődéséhez.

A zigóta polaritása, aszimmetrikus osztódása és a WOX transzkripció faktorok szegregációja a megtermékenyítés hatására alakul ki. A pollenben termelődik egy specifikus fehérje, ami a megtermékenyítéssel a petesejtbe (és így a zigótába) jutva elindít egy jelátviteli útvonalat (kináz kaszkád) ami elindítja a fenti folyamatokat. Az ebben a folyamatban résztvevő gének mutáció minden esetben szimmetrikus zigóta osztódást, és az apikális/bazális régiók elkülönülésének zavarát okozzák.



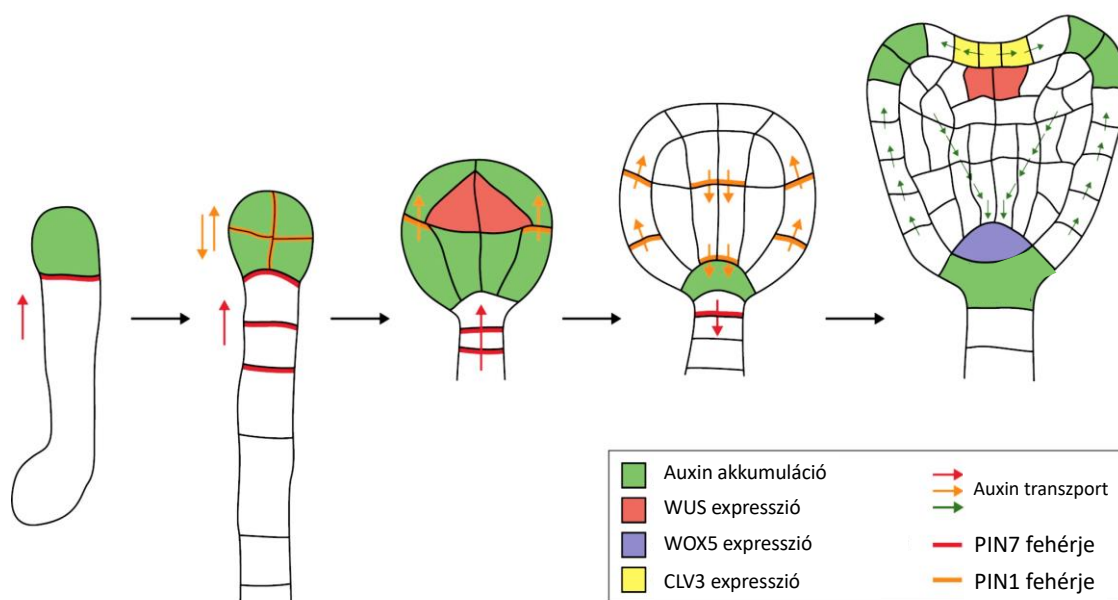
4.2.2. ábra A WOX transzkripció faktorok szegregációja már a zigóta első osztódását követően meghatározza az apikális és bazális régiók fejlődését. (Fehér Attila ábrája)

Az auxinnak is már kezdetektől kezdve fontos szerepe van a zigóta és az embrió apikális/bazális tengelyének és polaritásának kialakításában (1) (4.2.3. ábra). Erre utal az auxin efflux carrier PIN1 fehérje stabilitását befolyásoló *gnom* mutáció fenotípusa: az *Arabidopsis gnom* mutánsának zigótája szimmetrikusan osztódik, a belőle fejlődő csíranövénynek pedig sem apikális (hajtás), sem bazális (gyökér) régiója nem fejlődik, gyakorlatilag egy kis zöld gömb jön csak létre (innen kapta a nevét *gnóm*=törpe). Ekkor a PIN1 fehérje feltehetően az anyai sejtekből a zigótába irányuló auxin transzportért felel. Az auxin efflux fehérjék, PIN1 és PIN7, már az egysejttes embrióban komplementer kifejeződési mintázatot mutatnak: PIN1 az apikális sejtben PIN7 a bazális sejt termelődik. Az auxin megoszlása is korán polaritást mutat, az apikális sejtben felhalmozódva. A zigóta első osztódása után ugyanis a PIN7 auxin áramlást eredményez a bazális sejt felől az apikális sejt felé.

Az irányított auxin áramlásnak alapvető szerepe van az embrió fejlődés későbbi folyamataiban is (4.2.3. ábra). Az ún. dermatogén stádiumot követően a bazális-apikális auxin transzport megfordul az embrióban: a szuszpenzor sejtekben kezdetben apikális elhelyezkedésű PIN7 fokozatosan a bazális sejtmembránba helyeződik át. Az embrióban a PIN1 fokozatosan a belső sejtek bazális membránjára kerül. Ekkor az embrió már maga is szintetizál auxint. Így a kezdetben az embrió egészében eloszló auxin az embrió és a szuszpenzor találkozási régiójában, a szuszpenzor legfelső sejtjében az ún. hipofízisben halmozódik fel. Mindazok a mutánsok, melyekben a hipofízis régióban nem tud az auxin felhalmozódni (pl. auxin szintézis, transzport, vagy jelátviteli mutánsok pl. *monopteros*) gyökértelenek: a hipofízis auxin-regulált specifikációja elengedhetetlen a gyökérképződéshez. A hipofízis sejt horizontális aszimmetrikus osztódása révén jön létre ugyanis az a kis lencse alakú sejt, ami a gyökérmerisztéma szervező központjává (quiescent center, nyugvó központ) válik. Ekkor már

detektálható benne a gyökérmerisztéma fenntartásáért és működésért felelős WOX5 transzkripció faktor kifejeződése (lásd 4.3.2.).

Ahhoz, hogy az embrió felső régiója hajtássá, az alsó pedig gyökérré fejlődjön, speciális transzkripció faktorok felelősek, melyek már az embriógenézis korai szakaszában komplementer kifejeződési mintázatot mutatnak. A felső (apikális) egyedfejlődési doménben a hajtás fejlődésért a HD-ZIP III transzkripció faktor család tagja felelősek, az alsó (bazális) régióban a gyökér fejlődését a PLETHORA (PLT) transzkripció faktorok biztosítják. A két transzkripció faktor család tagjai kölcsönösen gátolják egymás kifejeződését, ami megszilárdítja a két egyedfejlődési domén elkülönülését (4). Ha ezt megszüntetjük, akkor megváltozik a régiók fejlődése. Pl. ha a REVOLUTA HD-ZIP III faktort túltermeltetjük az alsó régióban, akkor a gyökér helyett is hajtás képződik, ill. ha a felső régióban pl. a *topless* mutáció hatására megszűnik a PLT faktorok kifejeződésének gátlása, akkor a hajtás helyett is gyökér képződik.



4.2.3. ábra Az auxin áramlása és felhalmozódása az Arabidopsis korai embriógenézise során. (Forrás: Buchanan BB, Gruissem W, Jones RL (Eds) Biochemistry and molecular biology of plants. Second Edition. American Society of Plant Biologists, 2015. 19.55 ábra, a kiadó engedélyével).

4.2.1.1.3. Az embrió radiális szimmetriája

A nyolcsejtes stádiumban a sejtek periklinális osztódásával létrejön egy külső sejtréteg, a protoderma (5). A vaszkuláris szövetek kialakulásáért a sziklevélkezdemenyekből az embrió tengelyében a hipofízis felé áramló auxin a felelős. A hatékony auxin transzportáló sejtek ugyanis prokambiummá differenciálódnak az embrióban. Az alapszövetek radiális differenciálódásáért sejt-sejt kommunikáció a felelős. Az endodermisz és kortex kialakulását a SHORTROOT (SHR) és SCARECROW (SCR) transzkripció faktorok szabályozzák (6). SHR a korai globuláris embrióban a prokambiumban expresszál, de a fehérje plazmodezmákon átjut a szomszédos alapszövet sejtekbe, ahol SCR génjét aktiválja. Az alapszövet sejtek SCR hatására aszimmetrikusan osztódnak. A belső sejt továbbra is szomszédos marad a prokambiummal, így benne SHR hatására SCR aktív marad, így belőle

endodermisz differenciálódik. A külső sejt már nem érintkezik a prokambiummal, eddig a sejtrétegig SHR már nem jut el, így ebből a sejtéből kortex sejt lesz. Ennek megfelelően, a *shr* mutáns gyökérben nincs endodermisz, az *scr* mutánsban pedig a sztéle melletti sejtrétegben pedig az endodermisz és kortex markerek kevertek.

A késői globuláris stádiumra kialakul a növény szárára és gyökerére jellemző radiális szöveti felépítés.

4.2.1.1.3. A bilaterális szimmetria és a hajtásmerisztéma kialakulása

A korai szív stádiumban már megkülönböztethetők a sziklevél kezdemények. Ekkor ezek válnak az auxin elsődleges forrásává, innen áramlik az auxin a hipofiziális, illetve gyökér régió felé. A sziklevél kezdemények a magas auxin koncentrációjuk hatására intenzív növekedésnek indulnak, aminek hatására az embrió felső fejlődési régiója bilaterális szimmetriát vesz fel. Megtörténik továbbá a belső, „tengelyfelőli” vagy adaxiális és a külső „tengelytől távoli” abaxiális felszínnek egyedfejlődési elkülönülése (1). Ennek köszönhető, hogy a szervek, pl. a levelek, belső/dorzális/adaxiális régiója máshogy fejlődik, mint a külső/ventrális/abaxiális régió: a felső régióra a hatékony fotoszintézisre specializálódó oszlopos mezofill sejtek, az alsóra a légcserét segítő szivacsos parenchima sejtek lesznek a jellemzők, a két felszín epidermisze, légnyílásainak száma és a bennük található szállító elemek is eltérnek (felül a xilém, alul a floém fejlődik). Az adaxiális/abaxiális régiók elkülönüléseért is egymással antagonisztikus (egymás kifejeződését gátló) transzkripciók faktorok felelősek, hasonlóan, mint az apikális/bazális régiók esetében.

A bilaterális szimmetriával párhuzamosan alakul ki az embrióban a hajtásmerisztéma (7). A hajtásmerisztéma identitását meghatározó transzkripciók faktor a WUSCHEL (WUS) expressziója már a korai globuláris stádiumban kimutatható a felső, belső sejtekben. Az auxin áramlás fentebb említett megváltozásával párhuzamosan ez a régió a CUP-SHAPED COTYLEDON (CUC1, CUC2) transzkripciók faktorok közreműködésével elhatárolódik a képződő sziklevélkezdeményektől. Ekkor jelenik meg a régióban a hajtásmerisztéma fenntartását és funkcióját a WUS fehérjével kölcsönhatásban szabályozó CLAVATA3 (CLV3) gén expressziója is, és beszélhetünk az embrionális hajtásmerisztéma kialakulásáról (a hajtásmerisztéma működéséről és benne a WUS és CLV3 szerepéről a 4.3.1. fejezetben esik részletesebben szó). A *cuc* mutáció, illetve az auxin transzport/jelátvitel zavarai megakadályozzák a bilaterális szimmetria kialakulását és a sziklevelek gyűrűszerűen összenőve fejlődnek (erre utal a „csésze-szerű sziklevél, azaz „cup-shaped cotyledon” elnevezés), és a hajtásmerisztéma sem tud kialakulni.

4.2.1.1.4. A kifejlett embrió

A késői szívstádiumra kialakulnak az érett embrióra jellemző szimmetriák és egyedfejlődési régiók, amelyek meghatározzák az embrióból fejlődő növény alapvető testfelépítését, szöveti szerveződését. A növény végleges alakját azonban majd csak a posztembrionális fejlődés során nyeri el, miközben folyamatosan hozza létre szerveit.

A szív stádiumot követően már csak a sejtek mérete növekszik, ami elsősorban a sziklevelek és a hipokotil növekedését eredményezi. Az Arabidopsis embrió sziklevelei és hipokotilja érett állapotban kb. azonos méretűek. Az endospermium tápanyag készlete fokozatosan a növekvő sziklevelekbe kerül, csírázásig ott raktározódik. Ennek következtében az endospermium mérete fokozatosan csökken és az érett mag belsejét a embrió visszahajlott szikleveleivel teljesen kitölti.

4.2.1.2. Az endospermium és fejlődése

A kettős megtermékenyítés után, a megtermékenyített központi sejtéből fejlődik ki az endospermium, a zárvatermő növények különleges raktározó szövege, ami az embriót táplálja (8). A nyitvatermőknek nincs igazi endospermiuma, az embriót tápláló haploid (n) szövet a megagametofiton része. Az alacsonyabbrendű zárvatermők egy részének az embriózsákja csak négysejtes és így egyetlen központi

sejtmagot tartalmaz, ezért ezekben az esetekben mind az embrió, mind az endospermium diploid ($2n$). A legtöbb magasabbrendű zárvatermőben nyolcsejtes az embriózsák, és az embrió diploid ($2n$), az endospermium pedig triploid ($3n$) (lásd 4.1.2.).

Mivel a zárvatermők endospermiuma nagymennyiségű fehérjét, keményítőt, és/vagy olajokat tartalmaz, az ember számára is fontos táplálékforrásként szolgál (pl. a búza endospermiumából készül a liszt, az árpa endospermiuma pedig a sör egyik alapanyaga). Az emberiség által fogyasztott tápanyagok több, mint 60%-a közvetlenül, vagy közvetve magvak endospermiumából származik.

Bizonyos növényekben, például a kókuszdióban vagy a csemegekukoricában az endospermium részben folyékony. Másokban, például az orchideákban egyáltalán nem alakul ki endospermium.

Az endospermium nem minden növény esetében marad meg a mag kifejtett állapotáig, ez alapján a magoknak két fő csoportja különíthető el: endospermikus és nem endospermikus magok. A nem endospermikus magok esetében a raktározó szövet feladatát a sziklevel (pl. Arabidopsis, bab, borsó) vagy a nucelluszról kifejlődő perispermium veszi át (pl. bors, gránátalma, cukorrépa). Endospermikus magja van pl. a gabonaféléknek és a kukoricának. Ezekben a fajokban az endospermium legkülső rétege aleuron réteggé differenciálódik, aminek fontos szerepe van a csírázás során a tápanyagok mobilizálásában.

Az endospermium fejlődésének zárvatermőkben három típusa különíthető el: nukleáris, celluláris, helobiális. A nukleáris típus esetén nem történik citokinézis, ezért egy sok sejtmagvú állapot alakul ki (cönocitikus fázis), és a sejtesedés (celluláris fázis) csak később következik be, tehát ebben az esetben a fejlődésnek két fázisa különíthető el: a cönocitikus fázis és a cellularizációs fázis. A celluláris típus szabályos osztódásokkal jellemezhető. Az ún. helobiális típus esetén az első mitózis inekvális, és a kisebbik sejt nem osztódik tovább. A nagyobb sejt nukleáris típus szerint, kezdetben csak magosztódásokon megy keresztül.

A három fejlődési típus közül a nukleáris típus a legelterjedtebb, ami többek között megfigyelhető gabonafélékben és Arabidopsisban (9). A következőkben az említett növények magjának az endospermiumának a fejlődéséről lesz szó.

4.2.1.2.1. Az endospermium kialakulása és funkciója Arabidopsisban

Az Arabidopsis endospermiumának megkülönböztetjük az egy vagy több sejtsorból álló külső sejtrétegét (perifériális endospermium), valamint az embrió és az endospermium szövetei közötti tápanyag és hormon transzportot biztosító mikropiláris, valamint az endospermium és az anyai szövetek közötti összeköttetést megvalósító kalazális régióit. Végül pedig funkciójából adódóan minden endospermium legnagyobb tömegét a jellegzetes, parenchima jellegű sejteket tartalmazó raktározó szövet adja. Az endospermium feladata mérettől és megjelenéstől függetlenül ugyanaz: egyrészt biztosítja a fizikai „anya-utód” kapcsolatot, másrészt „altruisztikus” pusztulása és felszívódása révén folyamatosan tápanyaggal látja el a fejlődő embriót

Arabidopsisban az endospermium csaknem teljesen felszívódik az embriógenézis alatt és a csírázás korai szakaszához szükséges tápanyag a sziklevelben raktározódik (nem endospermikus faj).

Az Arabidopsis endospermium fejlődésének szakaszai:

I. Cönocitikus fázis: csak magosztódás történik, nincs citokinezis. Az első nyolc sejtmag egyenletesen oszlik el, majd a chalazális pólusnál levő sejtek endoreduplikálódnak és a képződő nagyméretű sejtmagok jelölik a chalazális endospermiumot. Ezt követi az embriót körülvevő régióban egy aktív sejtmagosztódási szakasz, ami a mikropiláris endospermiumot hozza létre. Ezt pedig a perifériális

endospermiumot létrehozó osztódási szakasz követi, azaz mindhárom endospermium régió megkülönböztethető már a szakasz végére.

II. Cellularizációs szakasz: a sejtek membránnal és sejtfallal történő elhatárolódása történik meg ebben a szakaszban. A folyamat a mikropiláris endospermiumnál kezdődik. A folyamat eltér a szomatikus sejtek citokinezisétől: a sejtmag körüli radiális mikrotubulus szerveződés, egy nukleo-citoplazmatikus régió elkülönülése, majd az azt körülvevő mini fragmoplasztiszok és minden irányban egyszerre zajló sejtfalszintézis jellemzik.

II. Celluláris fázis és érés: ebben a szakaszban a kialakult sejtek szinkron osztódnak, és az endospermium belsejében 4-6 sejtréteg alakul ki a központi vakuólum rovására. Az érés során történik a tartalék tápanyagok szintézise, majd az endospermium degradációja. Az embrió felhasználja az endospermium tápanyagait, azokat a szikleveleiben raktározva el és szinte teljesen kitölti a magot.

4.2.1.2.2 A kukorica endospermium fejlődése és funkciója

Gabonafélékben az endospermium megmarad a magfejlődés alatt és a csírázás során a tartalék tápanyagok fő forrásává válik, azaz endospermikus a magjuk.

Az érett endospermium kétféle szövetből áll: az endospermium fő tömegét adó keményítősz endospermiumból, amelyet programozott sejthalál következtében elhalt vékony falú sejtek alkotnak bennük mikroszkóppal jól látható keményítőszemcsékkel), és az aleuron rétegből, ami ez endospermium külső sejtrétege. Ennek a rétegnek a szerepe a tartaléktápanyagok lebontásában, mobilizálásában van. Itt szintetizálódnak azok a hidrolitikus enzimek (amilázok, proteinázok, lipázok), amelyek az endospermium belsejébe jutva oldható alegységekre bontják a tartaléktápanyagokat: cukrokká a keményítőt, aminosavakká a fehérjét, zsírsavakká a zsírokat, olajokat. Így azok felvehetővé válnak az embrió számára a csírázás alatt.

Az embrió közvetlenül nem érintkezik a tápláló szövetével, attól az egyetlen módosult sziklevél, a szkutellum (csírapajzs), elválasztja. Ez oldalt ízesül az embrió gyököcske és rügyecske részét összekötő szövettengelyhez, amit itt mezokotilnak nevezünk. A szkutellum homorú felületével az egész embriót felülről takarja, domború külső oldalával pedig az endospermiumhoz tapad. A csírázás kezdetekor az embrió által termelt gibberellin hormon a szkutellum közvetítésével jut át az endospermiumba, ahol az aleuron sejtekben bekapcsolja a litikus enzimek termeléséért felelős géneket. A szkutellum endospermiummal érintkező felületén egy megnyúlt sejtekből álló, rendezett epithel sejtsor fejlődik, amely felszívó szövetként funkcionál. A csírázáskor az endospermiumban lebontott oldható anyagokat magába gyűjti és továbbítja az embrió gyorsan fejlődő részeibe. A szkutellum tehát az embrió és a keményítősz endospermium közti felület, amely csírázáskor a hormon, illetve tápanyagmozgás közvetítője az endospermium és az embrió között. Funkcionálisan akár a méhlepényhez is hasonlítható!

A kukorica endospermium nukleáris típusú fejlődésének szakaszai hasonlóak az Arabidopsis-éhoz. Kezdetben itt is cönocitikus osztódások történnek, de az első nyolc sejtmag polárisan helyezkedik el, és a magok csak ezt követően vándorolnak a központi sejt periferiájára, míg a sejt közepén egy nagy központi vakuólum figyelhető ekkor meg. Miután megtörtént a cellularizáció, a perifériális sejtek először antiklinálisan majd periklinálisan osztódva kitöltik ezt a nagy vakuólumot létrehozva az érett endospermiumot, melynek külső sejt rétege aleuron réteggé, belseje pedig tápanyagokat felhalmozó keményítősz endospermiummá differenciálódik. Ez utóbbi sejtei a tápanyagfelhalmozást követően programozott sejthalál következtében elhalnak.

4.2.1.3. A maghéj kialakulása

Az Arabidopsis maghéja a magkezdemény integumentumának a sejtjeiből differenciálódik a megtermékenyítést követő 2-3 hét alatt (10). Növekedését és differenciációját a kettős megtermékenyítés iniciálja. A magkezdeményt védő öt integumentum sejtréteg (2 külső, 3 belső) kezdetben gyorsan növekszik, majd differenciálódnak: a legbelső réteg pro-antocianinokat és tanninokat termel (antocianinok adják a maghéj színét, a tanninok pedig toxikusak az állati kértevők számára). A másik két belső réteg elpusztul, a két külső réteg pedig keményítőt halmoz fel. A külső réteg belső tangenciális sejtfa megvastagszik az embrió védelme érdekében, a külső részén pedig váladékot választ ki, ami védi a magot az állati emésztő enzimekkel szemben ill. nedves környezetet biztosít a csírázáshoz. A mag végső érési fázisa során az legkülsőbb megvastagodott falú és színanyagokat, tanninokat is magába gyűjtő epidermális rétegen kívül a többi réteg elpusztul.

A maghéj, az embrió és az endospermium fejlődése koordináltan zajlik (11). Miután a másik kettőt körülveszi, méretének összhangban kell lennie az embrió és az endospermium növekedésével. Ha mutáció következtében a maghéj nem növekszik, az embrió és az endospermium mérete is csökken (kisebb lesz a mag), és fordítva, ha az embrió/endospermium növekedése gátolt, a maghéj növekedése mérséklődik.

4.2.1.4. Az apomixis

Számos növényfaj esetében megfigyelték, hogy megtermékenyítés nélkül (is) képződik magjuk. Ezekben az esetekben az embrió nem a kettős megtermékenyítés eredményeképpen kialakult zigótából fejlődik, hanem a magkezdeménynek egy diploid sejtje differenciálódik zigótává. Ez azt jelenti, hogy ez a zigóta genetikailag azonos az anyanövénnyel, azaz a magok az anyanövény klónjait hordozzák.

Az ivaros megtermékenyítést megkerülő ivartalan szaporodási módokat (ideértve pl. a dugványozást is) általánosan apomixisnek nevezzük. Szűkebb értelemben az apomixis kifejezést a megtermékenyítés nélküli magfejlődés jelenségére használjuk (12). Ennek megkülönböztetjük gametofitikus és sporofitikus formáit.

A gametofitikus apomixis során redukálatlan (diploid, $2n$) embriózsák alakul ki. Ez kétféle úton történhet.

- Diplospória: a megaspóra anyasejt nem meiózissal, hanem mitózissal osztódik, így diploid megaspóra és diploid sejtekből álló embriózsák fejlődik.

- Apospória: a megaspóra anyasejt meiózissal osztódik, de a négy haploid utódsejt mindegyike elpusztul. Az elpusztult funkcionális megaspóra szerepét a nucellusz egy szomszédos diploid szomatikus sejtje veszi át és ez osztódik és fejlődik diploid ($2n$) sejtekből álló embriózsákká.

A diploid embriózsák diploid petesejtje partenogenetikus úton (szűznemzéssel) spontán diploid zigótává, majd embrióvá fejlődik.

A sporofitikus apomixis során a nucellusznak egy vagy több a haploid embriózsákkal szomszédos diploid testi sejtje fejlődik embrióvá. Ezek a járulékos embriók átvehetik a zigosztikus embrió szerepét a magban. Poliembriónia (több embrió egy magban) is előfordulhat ebben az esetben.

Az apomixissal létrejött magok is csak akkor csírázóképesek, ha rendelkeznek az embriót tápláló életképes endospermiummal. Erre a különböző növényfajok esetében eltérő megoldások alakultak ki, melynek következtében a fejlődő endospermium ploidia szintje és genetikai összetétele fajoként változatos. A legtöbb esetben az endospermium fejlődése továbbra is igényel megtermékenyítést (pszeudogámia).

Az endospermium kialakulásához sem kell azonban feltétlenül megtermékenyítésre szükség. Az Arabidopsis *fertilisation independent seed (fis)* mutánsainak magjában spontán képződik endospermium (13). A *fis* mutánsok olyan kromatin módosító faktorok génjeiben hibásak, melyek a

központisejt endospermiummá való fejlődését gátolják. Ha ezt a gátlást a megtermékenyítés vagy egy mutáció megszünteti, a központi sejt elindul az endospermium fejlődés útján. Ahhoz azonban, hogy teljesen érett cellularizált endospermiummá fejlődjön, szükség van az embrióból és a maghéjból érkező molekuláris jelekre is.

A világon 34 növénycsaládban összesen 308 fajnál bizonyították az apomiktikus szaporodást. A jelentősebb családok az Asteraceae (69 faj), Gramineae (95 faj), Liliaceae (7 faj), Rosaceae (68 faj), Rutaceae (7 faj), Urticaceae (9 faj). Az apomiktikus szaporodás különösen gyakori a perjefélék családjában, azon belül pedig a kölesformák (Panicoideae) alcsaládba tartozó trópusi és szubtrópusi fűveknél. Az apomixis fajtája alapján leggyakoribb az apospória típusú (160 faj), de hasonló nagyságrendet képvisel a diplospória típusú (104 faj) fejlődés is. Az elterjedtség oka az lehet, hogy az adott környezethez sikeresen alkalmazkodott genotípusok így jobban el tudnak terjedni. Természetesen kockázat is van ebben: a környezet gyors változásához a csökkent genetikai variabilitással rendelkező utódok miatt ezek a fajok nem tudnak alkalmazkodni. Példák azt mutatják, hogy az apomixissal szaporító növények ilyenkor néhány generáció alatt "vissza tudnak térni" az ivaros szaporodáshoz.

A kukoricának, ciroknak, kölesnek sok olyan rokonfaja van, melyek apomixissal szaporodnak, azonban fontosabb gazdasági növényeink esetében nem figyelhető meg ez a jelenség. A gyakorlati haszna pedig igen nagy lenne, hiszen ezzel rögzíteni lehetne a kedvező genetikai összetételt és homogén, nagy termőképességű fajtákat lehetne termesztetni. Még nagyobb lenne annak a jelentősége, ha hibrid fajták magjait lehetne így módon klónozni: ez ugyanis rögzíteni a hibrid növekedés erélyt (hibrid vigor) és megakadályozná a hibrid növények utódainak genetikai szegregációját, ami miatt a hibrid vetőmagot a gazdáknak minden évben újra meg kell vásárolniuk.

4.2.1.5. A magnyugalom környezeti és hormonális szabályozása

A magfejlődés utolsó fázisa a mag érése. Ennek során számos faj esetében az embrió nyugalomba kerül, növekedése leáll és szárazságtűrővé válik (14). Ez utóbbi többek között annak köszönhető, hogy ún. ozmoprotektív anyagokat és különböző védő fehérjéket halmoznak fel a sejtjei. Ilyen ozmoprotektív anyagok pl. az oligoszacharidok, glicin-bétain, vagy prolin, melyek segítenek a víz és a fehérjék vízburkának megőrzésében. Védőfehérjék pl. a LEA (LATE EMBRYOGENIC ABUNDANT) fehérjék, melyek vizet kötnek és megakadályozzák a fehérjék aggregációját. Párhuzamosan hő sokk fehérjék (HSP) is akumulálódnak a sejtekben, melyek szintén hozzájárulnak a fehérjék szerkezetének megőrzéséhez (ún. chaperonok) (HSP). A sejtekben megemelkedik az antioxidánsok szintje is védve a sejtalkotókat a szárazság hatására fellépő oxidatív károsodásoktól. Az embrió fokozatosan kiszáradva üvegszerűvé válik, „vitifikálódik”, ami azt jelenti, hogy a sejttartalom szilárd halmazállapotúhoz hasonlóvá válik, alacsony diffúziós rátával, de a folyadékok fizikai jellegzetességeit megőrzi. Ebben az állapotban az embrió hosszú ideig képes életképességét megőrizni.

A legtöbb faj esetében a szárazságtűrés kialakulása a magfeltöltődéssel (tápanyag szintézissel és raktározással) párhuzamosan valósul meg (15). Ez a mag érés szakasza. Ahogy az embrió az érés szakaszába lép, abszcizinsav (ABS) tartalma megemelkedik. A magas abszcizinsav/gibberellin (ABS/GA) arány elősegíti az érést és indukálja a magnyugalmat (gátolja a sejtosztódást, az embrió növekedését és a csírázást). A mag érését az ABS által szabályozott LEAFY COTYLEDON 1,2 és 3 (LEC1,2,3) és ABCISIC ACID INSENSITIVE 3 (ABI3) transzkripció faktorok szabályozzák. Ezeknek a faktoroknak a hiánya a mag normális érését megakadályozza, az embrió nem tolerálja a kiszáradást, de nedves környezetben korán fejlődésnek indul és a mag még az anyanövényen kicsírázik. A *lec1,2,3* mutáns embriókra jellemző, hogy szikleveleik levél jellegeket (pl. levélszőr) hordoznak. Erről kapták ezek a transzkripció faktorok a nevüket.

Vannak olyan magvak is, melyek kiszáradás és nyugalmi szakasz nélkül azonnal csírázásra képesek. Ezek a nem kiszáradó (rekalcitráns) magok általában rövid életűek, szemben a kiszáradó (ortodox) magokkal. A rekalcitráns magtípus olyan növényekre jellemző, melyek nedves, trópusi környezetben élnek (ilyen pl. a mangó).

Az ortodox magok esetében a mag érése alatt tehát az embrió vizet veszít és nyugalmi szakaszba kerül. A magnyugalom biztosítja a mag túlélését kedvezőtlen körülmények között. Sok mag azonban kedvező körülmények között sem csírázik ki rögtön, ami által nagyobb az esélye az anyanövénytől távolabbra való elterjedésre. Ezeknek a magoknak nem elegendő csírázásra alkalmas körülmények közé kerülnie, a magnyugalom megtörése és a csírázás további szignált igényel.

A magnyugalomnak különböző szakaszai különíthetők el attól függően, hogy a fejlődés melyik szakaszában történik (16). Az elsődleges magnyugalom friss magokban alakul ki, ezt az ABS indukálja. ABS szintézisben gátolt mutáns magok esetében elmarad, ezért azok a magok a *lec1,2,3* mutánsokhoz hasonlóan már az anyanövényen kicsíráznak. Az elsődleges magnyugalom kialakításában a DELAY OF GERMINATION 1 (DOG1) génnek is szerepe van. Ez a gén csak a magban expresszálódik, kifejeződése a magfejlődés legkésőbbi szakaszában éri el a csúcst, csírázáskor viszont eltűnik. Mutációja esetén az Arabidopsis mag nagyon korán kicsírázik (nincs „after ripening” hatás, lásd később). A DOG1 molekuláris funkciója nem ismert.

Vannak olyan növények is, melyek magja soha nem kerül elsődleges nyugalomba. Ezek az elevenszülő növények, a jelenség a viviparizmus. Jellemző példa erre a mangrove. A mangrove fajainál a csírázás és az új egyed fejlődése már az anyanövényen megkezdődik. A tengerparti mocsárba hulló csíranövényeket az árapály nem tudja olyan könnyen elsodorni, mint ahogy a magokkal tenné.

A mag érését, nyugalmát és csírázását az ABS és GA hormonok dinamikus egyensúlya szabályozza. Ez a két hormon az elsődleges meghatározója a mag nyugalomnak és a csírázásnak. Az ABS gátolja, a GA serkenti a csírázást. Ezen hormonok hatása két tényezőtől függ: a szöveti koncentrációtól és az adott szövet adott hormontra való érzékenységtől.

A mag érésének szakaszában a szövetek ABS szintje és érzékenysége magas, a GA szint és érzékenység alacsony, ami a magnyugalomnak kedvez. Az érett nyugalomban levő magban már mindkét hormon szintje alacsony. A csírázásnak megfelelő körülmények között a GA szintje és érzékenység nő, míg az ABS szint és érzékenység alacsonyan marad, ami a csírázásnak kedvez.

Értelemszerűen, a magnyugalom megtörése általában együtt jár az ABS/GA arány csökkenésével (a GA szint emelkedésével). Ez vagy spontán változik meg az idő múlásával („after ripening” hatás), vagy környezeti tényező váltja ki. Ilyen környezeti tényező lehet a fény intenzitása (pl. saláta), a fotoperiódus hossza, a talaj hőmérséklete (a télen virágzó egynyári növények magas hőmérsékleten csíráznak, magjaik alacsony hőmérsékleten nyugalomban vannak; a nyáriak alacsony hőmérsékleten csíráznak, magas hőmérsékleten vannak magnyugalomban), rövid ideig tartó hideg (sztratifikáció). Speciális hatása van magok csírázására a füstnek. Az erdőtüzek után keletkező füst számos csírázást stimuláló anyagot tartalmaz. Ilyenek a karrikinek, a strigolaktonokhoz hasonló (lásd 3.6.) növényi növekedés szabályozók. A karrikinek alulszabályozzák az ABS és felül a GA szintézist és így csökkentik a ABS:GA arányt.

Az elsődleges magnyugalom elmúlása után alakulhat ki a másodlagos magnyugalom. Ezt a magnyugalmat a maghéj fizikai sajátosságai eredményezik, vagy a maghéj/embrió/termés által termelt csírázást gátló anyagok okozzák. Az embrionális nyugalomért a sziklevelekben szintetizálódó anyagok lehetnek felelősek (pl. mogyoró), ilyenkor ez az állapot megszüntethető a sziklevelek eltávolításával. Ezen kívül kiválthatja a másodlagos magnyugalmat az is, ha az embrió nem elég fejlett (pl. sárgarépa).

Ha a maghéj váltja ki, annak az az oka, hogy a vízfelvételt vagy a gázcserét akadályozza, vagy a kemény héjon nem tud áttörni a gyököcske. A maghéjban előfordulhatnak olyan csírázásgátló anyagok, mint pl. fenolok, kumarinok, cseranyagok, egyéb másodlagos anyagcseretermékek.

A másodlagos magnyugalom rendkívül hosszú ideig is tarthat, ami elsősorban a nagyon ellenálló, kemény maghéjjal rendelkező növényekre jellemző. Ilyen például az indiai lótusz magja, amely bizonyítottan legalább 1600 évig, vagy a datolyapálma magja, ami akár 2000 évig is képes túlélni és utána kicsírázni.

4.2.1.6. A magok csírázása

A nyugalom megtörése után a csírázás a száraz mag vízfelvételével kezdődik és a gyököcske megjelenésével ér véget. A gyököcske megjelenése utáni szakasz a csíranövény fejlődése, illetve a csíranövény növekedése, ami már posztembrionális szakasz, de amelyhez az energiát még a mag tartalék tápanyagainak gyors mobilizációja szolgáltatja.

A csírázáshoz szükséges környezeti tényezők: víz, oxigén, megfelelő hőmérséklet, illetve az esetek nagy részében fény és nitrátok. Ezek közül a víz a legfontosabb. Az érett, száraz mag víztartalma: 5-15%--> ez lényegesen az alatt az érték alatt van, ami az aktív anyagcserefolyamatok végbemeneteléséhez szükséges. A vízpotenciál mértéke jelentősen befolyásolja a csírázás eredményességét (16). A magnak a környezeténél alacsonyabb vízpotenciállal kell rendelkeznie, hogy vizet tudjon felvenni. Általában a száraz magok vízpotenciálja rendkívül alacsony.

A mag vízfelvelele alapján a csírázásnak három szakasza különíthető el:

I. szakasz. A vízfelvétel szakasza, amely a mag duzzadásával jár. Ebben a szakaszban a még száraz mag vízpotenciáljának értékét a mátrix potenciál jelentősen csökkenti, ami gyors kezdeti vízfelvételt tesz lehetővé. A mátrix potenciál a víz szilárd felülethez/molekulákhoz való kötődéséből ered (ilyenek a sejtfal mikrokapillárisai, a fehérjék, illetve egyéb makromolekulák felületei). Az I. szakasz akkor fejeződik be, amikor a víz számára alkalmas kötőhelyek telítődnek és a mátrixpotenciál értéke kevésbé lesz negatív.

II. szakasz Ezt a szakaszt a vízfelvétel csökkenése jellemzi. Mivel a makromolekulák már rehidratálódtak, az anyagcserefolyamatok aktiválódnak, a transzkripció és transzláció beindul a sejtekben. Az embrió megnő és a gyököcske kitör a magból.

III. szakasz Az intenzíven növekvő csíranövény a tartalék tápanyagokat teljesen mobilizálja, ezzel megnő a magban az oldott anyagok koncentrációja, azaz a mag vízpotenciálja csökken (a negatív ozmotikus potenciál komponens miatt). Ehhez hozzájárul a növény növekedése során a sejtek falának fellazulásával és a sejtek expanziójával csökkenő turgor nyomás is (lásd 2.2.4).

A környezet vízpotenciálja alapvetően befolyásolja a csírázás idejét, mivel csökkentheti az áztatott mag víztartalmát, megnövelve az I. szakasz időtartamát és gátolva a III. szakaszt. Egy kritikus víztartalmat a magnak el kell érnie, ahhoz, hogy ki tudjon csírázni.

A gyököcske/embrió növekedési potenciálja és az endospermium/maghéj ellenállása határozza meg a csírázás tényleges bekövetkeztének idejét. A csírázás során a maghéj, és ha van az endospermium, sejteinek a fala vékonyodik, megkönnyítve a gyököcske kitörését. Ezt az embrióban és endospermiumban termelődő sejtfalbontó enzimek okozzák. Az ABS hormon gátolja, a GA serkenti ezt a folyamatot.

A gabonafélék és a kukorica csírázása esetében a csírázással párhuzamosan egyéb folyamatok is zajlanak, mivel itt az elhalt sejteket tartalmazó keményítő endospermiumból kell az embrió

növekedéséhez a tápanyagokat mobilizálni (17). Ebben az aleuron rétegnek van szerepe. Az aleuron réteg olyan sejteket tartalmaz, melyek érzékenyen reagálnak a gibberellin (GA) hormonra. Az 1960-as években végzett kísérletek igazolták, hogy keményítő bontó enzimek (amilázok) aleuron sejtek általi szekréciója függ az embrió jelenlététől. Ezek alapján a folyamat az alábbi lépésekben zajlik:

1. Az embrió gibberellin hormont termel, amit a szkutellumon keresztül az endospermiumba juttat.
 2. A gibberellin az aleuron rétegbe diffundál.
 3. A hormon az aleuron sejtekben indukálja a Ca^{2+} -kalmodulin-függő jelátviteli utat, amely szükséges a hidroláz enzimek, pl. az α -amiláz szintéziséhez és szekréciójához.
 4. A keményítő és egyéb makromolekulák az endospermiumban oldható alegységeikre bontódnak.
 5. A szkutellum abszorbeálja az oldott tápanyagokat és transzportálja azokat a növekvő embriónak.
- A csírázás legvégső szakaszában, miután elvégezték a feladatukat, az aleuron sejtek programozott sejthalállal elpusztulnak, mobilizálható anyagaikat az embrió szintén felhasználja.

4.2.2. A termés fejlődése és érése

A termés a zárvatermők jellegzetes szerve, melynek a funkciója a mag védelme és elterjedésének elősegítése (18). Ha a termés kialakításban csak a termő vesz részt, akkor valódi termésről beszélünk. A valódi termés fala a magház falából fejlődik ki. Ha más virágrész is részt vesz a termés kialakításában (például a csészék vagy a vacok) már áltermésről beszélünk (pl. füge, szamóca, csipkebogyó). A nyersen és frissen fogyasztásra alkalmas terméseket és álterméseket nevezzük gyümölcsnek, magyarul. Számos nyelv nem ismeri a termés és a gyümölcs közti megkülönböztetést.

A termő falából fejlődő termésfal víztartalma alapján száraz és húsos, illetve a mag elterjesztésének módja alapján felnyíló és zárt (nem felnyíló) termésekként osztályozhatjuk őket.

- felnyíló száraz termések: tűzőtermés, hüvelytermés, toktermés, becő és becőke
- zárt száraz termések: lependék, ikerlependék, kaszat, ikerkaszat, makk, makkocska, aszmag, szemtermés
- húsos termések: bogyó, csonthéjas termés, kabak

A több termőből létrejövő ún. összetett termés kétféle módon alakulhat ki. Egyrészt egyetlen virág apokarp ginóceumából jöhet létre, másrészt több virágból, azaz a virágzatból alakulhat ki, és ilyenkor terméságazatról beszélünk (pl. eperfa félék).

4.2.2.1. A termés fejlődésének szakaszai

A termés a megtermékenyítés után alakul ki. Magát a termés fejlődését a megporzás indítja el, a termés megmaradása pedig függ a megtermékenyítés sikerétől (19). A pollencső által termelt gibberellin és a termő szövetei által termelt auxin fontos szerepet játszik a termés fejlődésének elindításában. Vannak növények, melyek megtermékenyítés nélkül is hoznak létre termést (partenokarpia) (20). Ezek a termések természetesen nem tartalmaznak magot. Ilyen lehet például a banán, az ananász, egyes citrus félék. Ezek esetében is a termőben megnövekedő auxin és/vagy gibberellin tartalom felelős a partenokarpiáért. Más növényekben, pl. paradicsomban, is indukálható auxinnal, gibberellinnel vagy a kombinációjukkal megtermékenyítés nélkül partenokarp termés fejlődés. Gibberellin és/vagy auxin kezelés hatására a fejlődő gyümölcsök mérete is növekszik. A citokinin is pozitív hatással van a termésképződésre, feltehetően a kezdeti sejtosztódások aktivitása révén. Az abszcizinsav és az etilén a fenti hormonokkal antagonisztikus hatású, szintjük a megtermékenyítés hatására csökken a termőben.

A mag jelenléte általában szükséges a termés megfelelő fejlődéséhez: ha a mag abortál, vagy eltávolítjuk, a termésfejlődés gyakran leáll, a termő/termés is abortál. Ez a hatás auxin kezeléssel gyakran menekíthető.

A termés fejlődését három nagyobb szakaszra oszthatjuk:

1. szakasz, melyre az intenzív sejtosztódások jellemzőek, és a termő fala elkezd növekedni. Az auxin, a citokinin és a gibberellin a meghatározó hormonok.
2. szakasz, melyben a sejtek száma már alig növekszik, viszont a sejtek megnyúlnak, megnagyobbodnak, ezáltal a termés jelentősen megnövekszik. Az auxin, gibberellin és a brassinoszteroid hormonok szabályozzák.
3. szakasz, az érés periódusa, melyben a termés felkészül a meg elterjesztésének elősegítésére. Mivel az érés egyfajta öregedési folyamatnak tekinthető, az abszizinsav és az etilén a fő szabályozói (21).

A száraz és húsos termések fejlődése és érése teljesen eltérő folyamatokat foglal magába, mivel a termésnek a mag elterjesztésében betöltött szerepe is teljesen más. Ugyanakkor, mindkét típusú termés fejlődésben több azonos transzkripció faktor is vesz részt, de az általuk regulált folyamatok már teljesen mások. Pl. amíg FRUITFULL Arabidopsisban a termőfal identitásáért felel és hiányában a terméfal kicsi marad, addig paradicsom homológjai (TDR4 ill. MBP7) a termés színéért, íz- és illatanyag tartalmáért felelősek, de hiányuk a termés méretét nem érinti. Mindkét esetben egy, az öregedéshez hasonló, egyedfejlődési átmenet történik a termésben, amiben a fent említett hormonokon kívül, az APETALA2 transzkripció faktornak és az epigenetikus (kromatin szerkezet) szabályozásnak mindkét esetben fontos szerepe van.

A termés érésének a szakasza jelentősen eltér a száraz és húsos termések esetében és a következőkben külön kerül részletes tárgyalásra.

4.2.2.2. A termések érése

4.2.2.2.1 Száraz termések

Az Arabidopsis termését vesszük példának (22). Termése száraz, felnyíló, becőtermés. A becőtermés felső állású magházból, két termőlevélből fejlődő, két kopáccsal alulról felfelé nyíló valódi száraz termés. Üregét a placentából származó pergamen szerű, áttetsző álválaszfal (replum) két részre osztja, s a magvak ezen a hártyás álrekeszfalon ülnek. A két terméfal alulról felfelé nyílvá válik el a replumról, majd lehullik, míg a replum hosszú ideig, akár egész télen át, a kocsányon marad.

Mivel a termés a termőből fejlődik, fontosabb részei visszavezethetők a virágfejlődés során kialakuló termő részeire (23). A termő/terméfal (perikarpium) rétegeit alkotó exokarpium, mezokarpium és endokarpium *a* és *b*, a megtermékenyítés után jelentős expanszió (sejtosztódás, sejtmeinyúlás) mennek keresztül. A termőlevelek összenövésénél a növekedés korlátozott, ezért itt egy mélyedés, árok, alakul ki.

Az érés kezdetét a már teljes méretet elért termés sárgulása jelzi. A termőlevelek összenövésénél egy ún. felnyílási zóna differenciálódik. Itt a sejtek fala megvastagszik és lignin rakódik le benne. Hasonlóan megvastagszik a sejtek fala az endokarpium *b*-rétegében és a két megvastagodott falú sejttréteg között erős kapcsolat alakul ki. Sejtek programozott halála következtében a termőlevelek széle és a replum elválnak egymástól. Közben a termés teljesen megsárgul és fokozatosan kezd kiszáradni. A termés felszakadását a termőlevelek összenövésénél a felnyílási zóna sejtjeinek speciális sejtfallvastagodásai miatt a kiszáradás hatására bekövetkező szöveti feszültségek váltják ki. A felhasadó termésből a kiszáradó replumon ülő magok kihullanak. A száraz felnyíló termések a szélbe, vízbe, talajra, állatokra szórva segítik elő a magok terjedését.

4.2.2.2 Húsos termékek

A húsos termékeket hagyományosan két csoportba soroljuk, aszerint, hogy az érés kezdetén van-e egy erős légzésintenzitás növekedés, amit klimakterikus légzésnek nevezünk (18). A klimakterikus termékek esetében ez a hirtelen légzésintenzitás növekedés együttjár egy etilén szint csúccsal. A fejlődő klimakterikus termékekben az etilén saját szintézisét negatívan szabályozza ami a szintjét alacsonyan tartja, amikor azonban a kifejlődött termésben megindul az érés folyamata, az etilén saját szintézisét serkenti és a pozitív visszacsatolás következtében tud gyorsan megemelkedni a szintje. Ez a pozitív visszacsatolás biztosítja, hogy ha beindul az érés, akkor az egész termés egyenletesen és biztosan beérjen. Ezeket a termékeket nevezzük „utóérő” termékeknek, mert ha az érés megindulása után levesszük a termést a növényről, akkor is beérik. Ezeknek a termékeknek az érését alacsony hőmérséklettel és/vagy etilénszintézis gátlóval (pl. 1-Metilciklopropén (1-MCP)) késleltetni lehet, majd etilén kezeléssel újra lehet indítani. Klimakterikus termése van a paradicsomnak, az almának, banánnak.

A nem-klimakterikus (és nem utóérő) termékek esetében mind a légzés-, mind az etilénszintézis intenzitás növekedés elmarad. Ilyen növények pl. a citrusfélék, a szőlő, az eper. Vannak növények, melyek nem klimakterikus termésűek, de az érésükre hat az etilén, és vannak olyanok, melyeknek klimakterikus és nem-klimakterikus fajtái is vannak.

A húsos termékek érése is egyfajta öregedési, szenescencia, folyamatnak tekinthető és az abszcizinsav hormon regulálja. A klimakterikus termékek esetében azonban ezt közvetve, etilénen keresztül teszi.

A húsos termékek érését a paradicsom esetében tanulmányozták a legáthatóbban (24). Termése húsos bogyótermés. A termés itt is a termőlevelek összenövésének az eredménye. Arabidopsissal ellentétben zárt a termés, a termőlevelek az érést követően is teljesen zárva maradnak.

A húsos termékek, így a paradicsom termései is, az állatok általi elfogyasztásuk révén segítik elő a mag elterjesztését. Ennek megfelelően a termésfal középső rétege (mezokarpium) rendkívül megvastagszik, „elhúsosodik”. A keményítőt lebontva cukrokat halmoz fel, íz/illat anyagokat szintetizál. A külső termésfal megszínesedik, a korábbi védekező funkciót ellátó vegyületek (pl. tanninok, fenolok) lebomlanak, a termés meglágyul. Mindezek következtében a termést fogyasztó állatok számára attraktív és tápláló termés jön létre. A paradicsom (és a klimakterikus termékek) esetében a fenti folyamatokat az etilén transzkripció faktorokkal közösen regulálja. Az érés fő transzkripcionális szabályozói a NON-RIPENING (NOR vagy NR), COLORLESS NON-RIPENING (CNR), GREEN RIPE (GR) és RIPENING INHIBITOR (MADS1-RIN) transzkripció faktorok, amelyek indukálják az etilén szintéziséért felelős ACC szintáz és oxidáz géneket és koordinálják a hormonális és külső környezeti (pl. fény, hőmérséklet) hatásokat. Ennek során speciális géneket kapcsolnak be: pl. a karotenoidok szintéziséért a fitoén szintáz a termésfal lágyulásáért poligalakturonáz enzimek, az aromáért lipoxigenázok felelősek

Összefoglalás

1. A növények egyedfejlődése túlnyomóan „posztembrionális” jellegű, a növényi embriógenézis lényege nem a szervek kialakítása. A növényi embriógenézis alatt a növények testfelépítését meghatározó szöveti és testtáj szerveződés (apikális-bazális tengely; radiális, illetve bilaterális szimmetriák) alakul csak ki. Az embriógenézis alatt megjelennek már a fő szervképző régiók, a csúcsi merisztémák (a hajtás- és a gyökérmerisztéma), melyek azonban az embrióban még inaktívak.

2. Az Arabidopsis embriógenézisének lépései: A zigóta polarizációjával indul, amit horizontális aszimmetrikus osztódás követ: az apikális sejt fejlődik az embrióvá, a bazális sejt a szuszpenzorrá. Az apikális sejt tovább osztódva eljut a nyolcsejtes állapotig, melyben a felső és alsó fejlődési domén elkülönül. Ezt periklinális osztódások követik, melyek révén elkülönül egy külső sejtréteg, a protoderma (dermatogén stádium). A szuszpenzor legfelsőbb sejtjéből differenciálódik a hipofízis sejt, miközben az embrió belső sejtjei vertikálisan osztódva létrehozza az alapszövet és a vaszkuláris szövet prekursor sejtjeit (korai globuláris stádium). A hipofízis sejt horizontális osztódásával létrejön a gyökérmerisztéma organizáló centrumát kialakító prekursor sejt (késői globuláris stádium). A szív stádiumban a sziklevékezdemények differenciálódásával párhuzamosan megjelennek a hajtás merisztéma prekursor sejtjei. Ebben a stádiumban az embrió összes régiója és alapvető szimmetriája megfigyelhető már. A torpedó stádiumban a hipokotil régió megnyúlik, a sziklevekben pedig tápanyag raktározódik el, majd az embrió deszkálódik és nyugalomba kerül.
3. A kettős megtermékenyítés után, a megtermékenyített központi sejtéből fejlődik ki a magasabbrendű zárvatermőkben triploid ($3n$) endospermium, a zárvatermő növények különleges raktározó szövete, ami az embriót táplálja. A nyitvatermőknek nincs igazi endospermiuma, az embriót tápláló haploid (n) szövet a megagametofiton része. Az emberiség által fogyasztott tápanyagok több, mint 60%-a közvetlenül, vagy közvetve magvak endospermiumából származik.
4. Arabidopsisban az endospermium csaknem teljesen felszívódik az embriógenézis alatt és a csírázás korai szakaszához szükséges tápanyag a sziklevelben raktározódik (nem endospermikus faj). Gabonafélékben az endospermium megmarad a magfejlődés alatt és a csírázás során ez a tartaléktápanyagok fő forrása, azaz a gabonaféléknek endospermikus a magjuk.
5. Az Arabidopsis maghéja a magkezdemény integumentumának a sejtjeiből differenciálódik. A maghéj, az embrió és az endospermium fejlődése koordináltan zajlik.
6. Számos növényfaj esetében megtermékenyítés nélkül (is) képződik mag (apomixis). Ezekben az esetekben az embrió nem a kettős megtermékenyítés eredményeképpen kialakult zigótából fejlődik, hanem a magkezdeménynek egy diploid sejtjéből. Ez azt jelenti, hogy az anyanövény önmagával genetikailag azonos utódokat hoz létre.
7. A magfejlődés utolsó fázisa a mag érése. Ennek során számos faj esetében a tápanyagok szintézisével és az endospermiumban történő elraktározásával párhuzamosan az embrió nyugalomba kerül, növekedése leáll és szárazságtűrővé válik (ortodox magok). A mag magas abszcizinsav/gibberellin (ABS/GA) arány elősegíti az érést és indukálja a magnyugalmat (serkenti a tápanyagszintézist, gátolja a sejtosztódást, az embrió növekedését és a csírázást). A magnyugalom megtörése általában együtt jár az ABS/GA arány csökkenésével (a GA szint emelkedésével). Ez vagy spontán változik meg az idő múlásával („after ripening” hatás), vagy környezeti tényező váltja ki. Vannak olyan magvak is, melyek kiszáradás és nyugalmi szakasz nélkül azonnal csírázásra képesek. Ezek a nem kiszáradó (rekalitráns) magok.
8. Az elsődleges magnyugalom elmúlása után alakulhat ki a másodlagos magnyugalom. Ezt a magnyugalmat a maghéj fizikai sajátosságai eredményezik, vagy a maghéj/embrió/termés által termelt csírázást gátló anyagok okozzák. A másodlagos magnyugalom rendkívül hosszú ideig is tarthat.
9. A csírázás a száraz mag vízfelvételével kezdődik és a gyököcske megjelenésével ér véget. A csírázáshoz szükséges környezeti tényezők: víz, oxigén, megfelelő hőmérséklet, illetve az esetek nagy részében fény és nitrátok. A gibberellin hormon pozitívan szabályozza. A magok vízpotenciálja jellegzetes változásokat mutat a csírázás során. A gyököcske/embrió növekedési potenciálja és az endospermium/maghéj ellenállása határozza meg a csírázás tényleges bekövetkeztének idejét.
10. A termés a zárvatermők jellegzetes szerve, melynek a funkciója a mag védelme és elterjedésének elősegítése. Ha a termés kialakításban csak a termő vesz részt, akkor valódi termésről beszélünk. Magát a termés fejlődését a megporzás indítja el, a termés

megmaradása pedig függ a megtermékenyítés sikerétől. Vannak növények, melyek megtermékenyítés nélkül is hoznak létre termést (partenokarpia).

11. A száraz és húsos termések fejlődése és érése teljesen eltérő folyamatokat foglal magába, mivel a termésnek a mag elterjesztésében betöltött szerepe is teljesen más. A húsos terméseket hagyományosan két csoportba soroljuk, aszerint, hogy az érés kezdetén van-e egy erős etilén szint és légzésintenzitás növekedés (klimakterikus légzés) és hogy a termés utóérő-e. A termések érése egyfajta öregedési, szenescencia, folyamatnak tekinthető és az abszcizinsav hormon regulálja. A klimakterikus termések esetében azonban ezt közvetve, etilénen keresztül teszi.

Ellenőrző kérdések

1. Milyen részekből áll és hogyan alakul ki a mag?
2. Mik az Arabidopsis embriógenézisének főbb szakaszai?
3. Hasonlítsa össze egy növényi embrió és egy belőle fejlődő növény testtájit, szimmetriáit, szerveit!
4. Mikor alakul ki a növény apikális-bazális tengelye?
5. Milyen szerepet játszik az auxin transzport az embriógenézis során?
6. Mi az amiben az Arabidopsis és a kukorica endospermiuma eltér?
7. Képződhet-e megtermékenyítés nélkül mag?
8. Mi az az apomixis és mi a potenciális jelentősége?
9. Mit serkent és mit gátol a magban a magas ABS/GA hormon arány?
10. Mitől függ, hogy meddig életképes egy mag és benne az embrió?
11. Mik azok az eleve szülő növények?
12. Hogyan függ össze a csírázás a mag/embrió vízpotenciál változásaival?
13. Melyik növényi hormon jellegzetes hatása a csírázás serkentése?
14. Mik a termésérés szakaszai?
15. Hányféle képpen érhetnek be a növények termései?

Megvitatandó kérdések

1. A magok és a termések szerepe az emberiség táplálkozásában.
2. Az apomixis és a termésérés befolyásolásának lehetőségei a modern biológia eszközeivel.

Javasolt irodalom

1. Jones R, Ougham H, Thomas H, Waaland S (Eds) The molecular life of plants. Wiley-Blackwell, American Society of Plant Biologists, 2013.
2. Taiz L, Zeiger E, Møller IM, Murphy A (Eds) Plant physiology and development, 6th edition, Sinauer Associates, Inc., 2015
3. Buchanan BB, Gruissem W, Jones RL (Eds) Biochemistry and molecular biology of plants. Second Edition. American Society of Plant Biologists, 2015.

1. Capron A, Chatfield S, Provart N, Berleth T. Embryogenesis: Pattern Formation from a Single Cell. Arab Book Am Soc Plant Biol (Internet). 2009. november 12. (idézi 2019. július 29.);7. Elérhető: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3243344/>
2. Jeong S, Volny M, Lukowitz W. Axis formation in Arabidopsis – transcription factors tell their side of the story. Curr Opin Plant Biol. 2012. február;15(1):4–9.
3. Ueda M, Laux T. The origin of the plant body axis. Curr Opin Plant Biol. 2012. december;15(6):578–84.
4. Smith ZR, Long JA. Control of Arabidopsis apical–basal embryo polarity by antagonistic transcription factors. Nature. 2010. március;464(7287):423–6.
5. Lau S, Ehrismann JS, Schlereth A, Takada S, Mayer U, Jürgens G. Cell–cell communication in Arabidopsis early embryogenesis. Eur J Cell Biol. 2010. február;89(2–3):225–30.
6. Helariutta Y, Fukaki H, Wysocka-Diller J, Nakajima K, Jung J, Sena G, és mtsai. The SHORT-ROOT Gene Controls Radial Patterning of the Arabidopsis Root through Radial Signaling. Cell. 2000. május 26.;101(5):555–67.
7. Aida M, Ishida T, Tasaka M. Shoot meristem and cotyledon formation. :8.
8. Berger F. Endosperm: the crossroad of seed development. Curr Opin Plant Biol. 2003. február;6(1):42–50.
9. Olsen O-A. Nuclear Endosperm Development in Cereals and Arabidopsis thaliana. Plant Cell. 2004. június 1.;16(suppl 1):S214–27.
10. Windsor JB, Symonds VV, Mendenhall J, Lloyd AM. Arabidopsis seed coat development: morphological differentiation of the outer integument. Plant J Cell Mol Biol. 2000. június;22(6):483–93.
11. Nowack MK, Ungu A, Bjerkkan KN, Grini PE, Schnittger A. Reproductive cross-talk: seed development in flowering plants. Biochem Soc Trans. 2010. április 1.;38(2):604–12.
12. Koltunow AM, Grossniklaus U. Apomixis: A Developmental Perspective. Annu Rev Plant Biol. 2003;54(1):547–74.
13. Chaudhury AM, Ming L, Miller C, Craig S, Dennis ES, Peacock WJ. Fertilization-independent seed development in Arabidopsis thaliana. Proc Natl Acad Sci. 1997. április 15.;94(8):4223–8.
14. Angelovici R, Galili G, Fernie AR, Fait A. Seed desiccation: a bridge between maturation and germination. Trends Plant Sci. 2010. április;15(4):211–8.
15. Santos-Mendoza M, Dubreucq B, Baud S, Parcy F, Caboche M, Lepiniec L. Deciphering gene regulatory networks that control seed development and maturation in Arabidopsis. Plant J. 2008. május;54(4):608–20.
16. Bewley J. Seed Germination and Dormancy. Plant Cell. 1997. július;9(7):1055–66.
17. Harvey BM, Oaks A. The role of gibberellic acid in the hydrolysis of endosperm reserves in Zea mays. Planta. 1974. 0;121(1):67–74.
18. Seymour GB, Østergaard L, Chapman NH, Knapp S, Martin C. Fruit Development and Ripening. Annu Rev Plant Biol. 2013. április 29.;64(1):219–41.
19. Vivian-Smith A, Luo M, Chaudhury A, Koltunow A. Fruit development is actively restricted in the absence of fertilization in Arabidopsis. Development. 2001. június 15.;128(12):2321–31.

20. Joldersma D, Liu Z. The making of virgin fruit: The molecular and genetic basis of parthenocarpy. *J Exp Bot*. 2018. 0 10.;69.
21. McAtee P, Karim S, Schaffer R, David K. A dynamic interplay between phytohormones is required for fruit development, maturation, and ripening. *Front Plant Sci* (Internet). 2013. április 17. (idézi 2019. július 29.);4. Elérhető: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3628358/>
22. Roeder AHK, Yanofsky MF. Fruit Development in Arabidopsis. *Arab Book Am Soc Plant Biol* (Internet). 2006. február 22. (idézi 2019. július 29.);4. Elérhető: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3243326/>
23. Robles P, Pelaz S. Flower and fruit development in Arabidopsis thaliana. *Int J Dev Biol*. 2005;49(5–6):633–43.
24. Srivastava A, Handa AK. Hormonal Regulation of Tomato Fruit Development: A Molecular Perspective. *J Plant Growth Regul*. 2005. június 1.;24(2):67–82.

4.3. Fejezet A növények növekedésének és fejlődésének vegetatív szakasza

Írta: Prof. Dr. Fehér Attila

Tanulási célkitűzések:

Tudás:

- ismeri a fitomer és a merisztéma fogalmát
- tudja összehasonlítani a növényi merisztémák felépítését, működését és szabályozását
- érti a növényi szervek fejlődésének (organogenezis) alapvető folyamatait
- tudja ismertetni a kifejlett növények testfelépítését meghatározó alapvető poszt-embriális folyamatokat
- érti a növény és a környezete kölcsönhatásának szerepét a növények végső méretének, felépítésének kialakításában

Képesség:

- képes a növények növekedésének kvantitatív és kvalitatív értékelésére
- képes felismerni és értékelni a növények növekedését, vegetatív fejlődését befolyásoló belső és külső tényezőket

Attitűd:

- nyitott a növények vegetatív fejlődésének, organogenezisének mélyebb tanulmányozására, ismereteinek elmélyítésére

Autonómia/felelősség:

- önállóan érvel a mezőgazdasági növények növekedését befolyásoló belső és külső tényezők gazdasági jelentőségéről

A növények növekedésének és fejlődésének sajátosságairól és az ezt megalapozó sejtszintű folyamatokról a 2.2. fejezetben már esett szó. A 4.2.1. fejezetből pedig megtudhattuk, hogy az embriogenezis során hogyan alakulnak ki a növények alapvető testfelépítésére jellemző szimmetriák, fejlődési régiók és a szöveti elrendeződés, és hogyan kezdődik meg a csírázással az új növényegyed vegetatív életszakasza. Megtudtuk azt is, hogy a növények szervei poszt-embriálisan alakulnak ki, és hogy a növények folyamatosan növekedve újabb és újabb szerveket fejlesztenek az életük során. A növények indeterminált növekedéséért és szervképződéséért felelős régiók a merisztémák (növekedési centrumok). A növényi merisztémák az állati őssejtekhez hasonló, magas fejlődési potenciállal rendelkező, sejteket tartalmazó speciális szervképző régiók („őssejt niche”).

Ebben a fejezetben azokról a folyamatokról lesz szó, melyek meghatározzák a növekedés ütemét, a szervképződés helyét, idejét, a szervek formáját, és ezen keresztül a növény méretét és alakját, azaz amelyek a növény morfogenezisét szabályozzák.

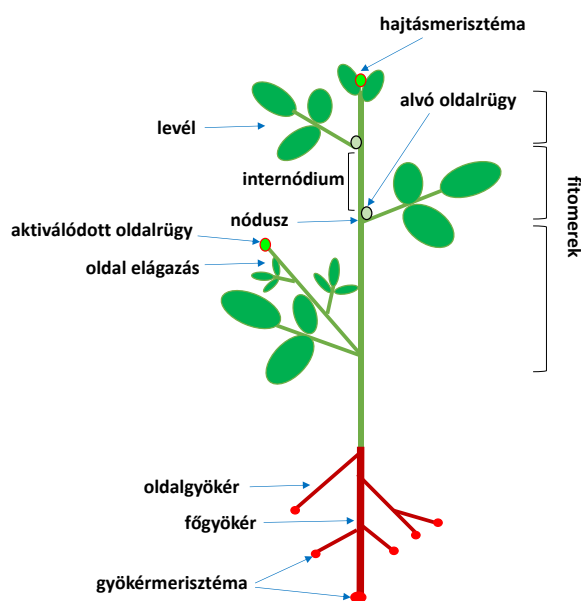
4.3.1. Fejezet A hajtás morfogenezise

A vegetatív hajtás (leveles szár) a növény moduláris felépítésű földfeletti szervrendszere. Elsőrendű feladata a fotoszintézis és a gázcsere, a növény földfeletti struktúrájának kialakítása, megvédése és a reproduktív fejlődési fázisra való felkészülés. A hajtás egysége a fitomer, amely egy nódusból, egy internódiumból (szártag), egy a nódusból eredő oldalszervből (általában levélből) és az oldalszerv hónaljában ülő oldalrügyből áll (4.3.1. ábra). A fitomereket a hajtás merisztéma hozza létre. A moduláris felépítés biztosítja a növény számára, hogy nagyobb sérüléseket is sikeresen átvészeljén, mivel az oldalrügyek át tudják venni a csúcs merisztéma szerepét, azaz aktiválódva szintén fitomer

egységeket hoznak létre. A hajtás elágazódását is az oldalrügyek (axilláris merisztémák) aktivitása teszi lehetővé.

4.3.1.1. A hajtás merisztéma és funkciója

A hajtás apikális merisztémája (angol neve „shoot apical meristem”, rövidítése SAM) hozza létre a hajtás tengelyét (a szárat vagy törzset), amelyhez a laterális szervek (a levelek és oldalrügyek) csatlakoznak. Működése általában indeterminált (folytonos) növekedést/fejlődést eredményez. A merisztémát vékony falú, citoplazmában gazdag, vakuólum nélküli sejtek építik fel.



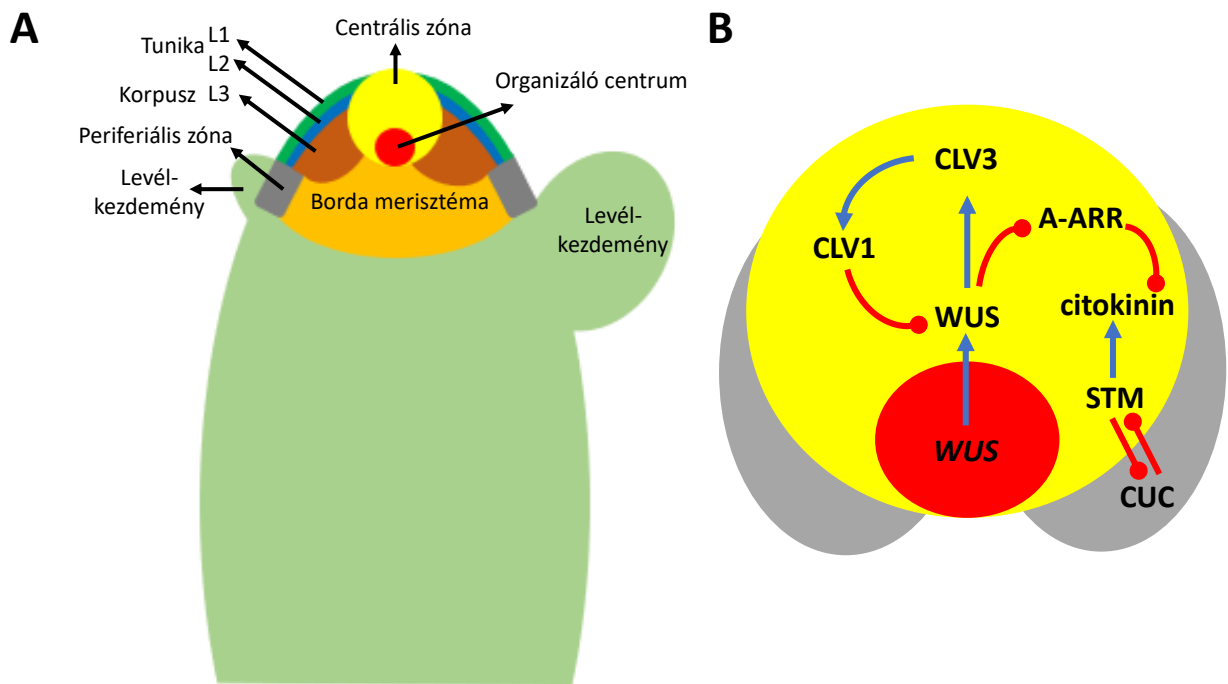
4.3.1. ábra A magasabb rendű hajtásos növények moduláris felépítése. A hajtás jól definiálható fitomer egységekből épül fel, melyeket a hajtáscsúcsi merisztéma közvetlenül hoz létre. A fitomerek egy szártagból (nódusz és internódium), egy levélből, valamint egy alvó oldalrügyből állnak. Az oldal(axilláris) rügyek aktiválódva hajtás merisztémaként működnek és új hajtásokká fejlődnek. A gyökér esetében a modularitás kevésbé látványos, az oldalgyökér merisztémák a gyökér növekedése során a merisztémától távol jönnek létre. Saját merisztémájuk révén az oldalgyökök is át tudják venni a főgyökér funkcióját és fenn tudják tartani a gyökérzet növekedését. (Fehér Attila ábrája)

4.3.1.1.1. A hajtás merisztéma felépítése

Bár alakja, mérete növény fajonként lényegesen eltér, az alapvető szerkezete azonos (4.3.2. ábra A). A felszín közeli három sejtréteg alkotja a tunikát (L1, L2, L3). Az L1 réteg sejtjei epidermisz sejtekké differenciálódnak, az L2 és L3 sejtek mezofillum sejtekké fejlődnek (L2 adja a paliszád mezofill sejteket és a levélszél szivacsos mezofill sejtállományát, míg az L3 rétegből fejlődik a többi szivacsos mezofill sejt). Ezek a rétegek klonális eredetűek, egy-néhány iniciális sejtől fejlődnek a felületre merőleges (antiklinális) osztódások révén. Ha az iniciális sejtet mutáció éri, az adott sejtréteg sejtjei is mutánsok lesznek, de a mutáció másik sejtrétegben nem jelenik meg, azaz egyes sejtrétegek között nagyon ritka az „átjárás” (az ilyen mutációt hordozó növények az ún. periklinális kimérák). Ezt jelzik azok a levelek, melyeknek a széle fehér, a közepe zöld. Ebben az esetben az L2 rétegben valamilyen mutáció megakadályozza a klorofill szintézist, de ezt a hiányt a levél testében ezt az L3 rétegből képződött zöld sejtek elfedik. A levélszél kialakításában azonban az L3 réteg nem vesz részt, így ott a mezofill sejtek kizárólag L2 eredetűek, azaz klorofillhiányosak.

Ritkán előfordul, hogy antiklinális helyett periklinális osztódás történik valamelyik rétegben. Ekkor az egyik leánysejt egy másik rétegbe kerül, és az új sejtrétegnek megfelelően fog differenciálódni. Ez azt jelzi, hogy a sejtek fejlődését nem eredetük, hanem a pozíciójuk határozza meg. Ez a növényi sejtek differenciálódására általánosságban jellemző, és szemben áll a legtöbb állati sejt differenciálódásának szabályozásával, ami elsősorban a sejtek leszármazásán (sejtvonal) alapul.

A tunika alatt a korpusz (test) található, amelyben random irányú osztódások zajlanak. A merisztéma központjában van egy ritkán osztódó sejtekből álló csoport (centrális zóna vagy organizáló centrum, ez a gyökér nyugalmi centrumának felel meg). A szöveti iniciális összejteket tartalmazó centrális zónát az ún. perifériális zóna sejtjei vesznek körül. A perifériális zónában intenzív sejtosztódások zajlanak. Itt indul el a levélkezdemények (primordiumok) fejlődése. A nyugalmi zóna alatt helyezkedik el a borda merisztéma, amiből a központi henger szövetei képződnek.



4.3.2. ábra A hajtásmerisztéma szerveződésének (A) és szabályozásának (B) egyszerűsített vázlata. A) Az organizáló centrumban a nyugvó sejtek helyezkednek el, melyek gátolják a környezetükben a sejt differenciálódást. A centrális zónában a szöveti iniciális összejtek találhatóak, melyek a külső rétegekben (tunika - L1, L2) antiklinálisan, a belső rétegekben (korpusz – L3) random osztódnak. A perifériális zónában kezdődik a levélkezdemények differenciálódása, míg a borda merisztéma a központi henger szöveteit hozza létre. B) Az organizáló centrumban kifejeződő WUSCHEL (WUS) transzkripciós faktor a környező sejtekbe jutva gátolja azok differenciálódását (fokozva a sejtek citokinin érzékenységét az A-típusú válaszregulátor (A-ARR) gátlásával), eközben pedig aktiválja a CLAVATA3 (CLV3) peptid termelődését. A CLV3 peptid a CLAVATA1 (CLV1) receptorkinázhoz kapcsolódva jelátviteli kaszkádot aktivál, amely a centrális régióban gátolja a WUS expressziót. Ez a negatív visszacsatolási mechanizmus fenntartja a merisztéma méretét és működésének (osztódás-differenciálódás) az egyensúlyát. A SHOOTMERISTEMLESS (STM) transzkripciós faktor a szöveti iniciális sejtek osztódását a citokinin szintézis fokozásával serkenti (szükséges a WUS funkciójához), miközben a merisztéma határán gátolja a CUP-SHAPED COTYLEDON (CUC1, CUC2) transzkripciós faktorok kifejeződését, amik viszont az STM kifejeződését gátolják, így elhatárolva a merisztematikus és a differenciálódási régiókat. (Fehér Attila ábrája)

4.3.1.1.2. A hajtás merisztéma funkciójának és fenntartásának molekuláris szabályozása

A növények embriógenézise kapcsán már ejtettünk szót a hajtás merisztéma kialakulásáról. A hajtás merisztéma identitásáért és működésének fenntartásáért a WUSCHEL (WUS) homeotikus transzkripciós faktor felelős, amely a merisztéma organizáló centrumában található ritkán osztódó sejtekben fejeződik ki (1) (4.3.2. ábra B). Az organizáló centrum körül koncentrikusan termelődik a SHOOTMERISTEMLESS (STM) transzkripciós faktor, amely a WUS fehérjével együtt felel a sejtek osztódóképességének fenntartásért ebben a zónában (2). Az itt található sejtek differenciálódása gátolt, szöveti iniciális őssejteknek tekinthetők. A merisztéma és a fejlődő levélprimordiumok közötti határt a CUP-SHAPED COTYLEDON (CUC1, CUC2) transzkripciós faktorok jelölik ki. A CUC és STM transzkripciós faktorok kölcsönösen szabályozva egymás kifejeződését tartják fenn expressziós mintázatukat és határolják el az osztódási és differenciálódási zónákat (3) (4.3.2. ábra B). A STM és a vele rokon többi ún. KNOX transzkripciós faktorok szerepe a merisztémában a citokinin szintézis fenntartása és a gibberellin szintézis gátlása, illetve a hormon lebontása. A gibberellin a levélprimordiumokban termelődve a levélsejtek megnyúlásához, differenciálódásához járul hozzá.

WUS hiányos mutánsok hajtás merisztémájában a szöveti iniciális sejtek nem osztódnak, hanem differenciálódnak, ami megakadályozza a hajtásnövekedést és szervképződést. WUS oly módon tartja fenn az iniciális sejtek osztódását, hogy növeli citokinin érzékenységüket. WUS közvetlenül kötődik az A-típusú ARR válaszregulátor gének promóteréhez és gátolja kifejeződésüket (4) (4.3.2. ábra B). Az A-típusú ARR fehérjék a citokinin jelátvitel negatív regulátorai (3.3.4. fejezet). A WUS gén azonban nem az osztódó iniciális, hanem a nyugvó sejtekben fejeződik ki. Ez azt jelenti, hogy WUS nem sejtautonóm módon szabályoz, azaz nem azokban a sejtekben hat, ahol termelődik. A WUS fehérje a nyugvó sejtekből, feltehetően plazmodezmatákon keresztül, a környező iniciális sejtekbe jutva fejti ki sejtosztódást serkentő hatását.

Az állandó merisztéma méret és a kiegyensúlyozott növekedés feltétel a WUS gén kifejeződésének lokális korlátozása és közel állandó szinten tartása. Ezt egy negatív visszacsatolási kör biztosítja, amelyben a CLAVATA fehérjék vesznek részt (5,6). A *clavata* mutánsok túlméretezett hajtás merisztémával rendelkeznek, ami arra utal, hogy a merisztéma méretének negatív szabályozói. Ezt a WUS gén kifejeződésének gátlásával érik el. A CLAVATA 1 (CLV1) fehérje egy receptor kináz, amelynek génje a merisztéma centrális zónájában fejeződik ki. CLAVATA3 (CLV3) pedig egy kisméretű, 11 kD, peptid molekula, ami szintén a centrális zónában termelődik. CLV3 a CLV1 receptor kináz ligandja, CLV1 funkciója pedig egy jelátviteli kaszkád elindítása, amely a WUS expressziót megakadályozza. A negatív visszacsatolási kör annak révén valósul meg, hogy WUS a CLV3 peptid kifejeződését indukálja (4.3.2. ábra B). Ha WUS szintje megemelkedik, megemelkedik közvetett inhibitorának a CLV3 peptidnek a termelődése is. CLV3 aktiválva CLV1-et visszaszorítja a WUS termelődését, így viszont csökken a CLV3 szintje és a WUS expresszió gátlása is, azaz a WUS szintje ismét emelkedni kezd, és így tovább.

4.3.1.2. A levél

A levél legáltalánosabb definíció szerint a szár korlátozott növekedésű lemezes függeléke. A levél a növények morfológiailag legváltozatosabb szerve. A változatosság abban is megnyilvánul, hogy egy egyeden többféle funkciójú levél is képződhet. A növényen található különböző funkciójú, elhelyezkedésű, morfológiájú és szöveti felépítésű leveleket együttesen fillómának nevezzük. Ebbe a gyűjtőfogalomba beletartozik valamennyi növényi levél, beleértve a módosult leveleket is (lomblevelek, fellevelek, allevelek, sziklevelek, viráglevelek).

4.3.1.2.1. A levél fejlődése

A levéliniciálisok vagy levélprimordiumok a hajtáscsúcs iniciális gyűrűjén fajra jellemző eloszlásban jelennek meg (lásd fillotaxis). A levélprimordiumokat különböző mélységben elhelyezkedő és különböző irányú osztódást végző sejtek alakítják ki (7). Többnyire a tunika belső sejtrétege és az ezzel

közvetlen szomszédságban levő korpuszsejtek vesznek részt a primordiumok képzésében. A primordiumokban végbemenő folyamatos sejtosztódás következtében a levéldudor egyre növekszik, ez a levél korai differenciálódási fázisa. A dudor felületét a tunikából kialakuló protoderma fedi, belsejében alapszöveti parenchima helyezkedik el, amelyben prokambiális nyaláb (szállítószövet vagy levélér) növekszik bazipetális irányba a levélkezdemény csúcsa alatt. A levél tengelyének a növekedése általában megelőzi a levéllemez megjelenését. A tengely csúcsán található az apikális merisztéma (ennek működése páfrányoknál sokáig megmarad). Magvas növényeknél a hossznövekedés nem elsősorban az apikális merisztéma, hanem az ettől proximális irányban levő interkaláris merisztéma működésének az eredménye. A fiatal levelekre jellemző a fonák epidermisz intenzívebb növekedése. Ennek következtében a fejlődő levél a hajtás tengelye felé hajlik, védi és beborítja a hajtás csúcsát. A levéllemez kialakulásában az ún. széli (marginális) merisztéma játszik szerepet. A levéllemez kezdetben a tengely meghatározott területének kétoldali kitüremkedése, amit a tengellyel együtt a protoderma burkol és néhány sejtsoros alapszövet tölt ki. A levéllemez (lamina) szélének legkülső sejtjei a marginális iniciálisok, belőlük keletkezik a levél felső és alsó epidermisze; az alatta levő szubmarginális iniciálisokból jön létre a levéllemez többi szöve. A primordiális levéllemez alkotó sejtpopulációban az osztódási irányt elsősorban a sejt helyzete szabja meg. A sejtek végső elrendeződését és alakját az osztódási irányok mellett, az osztódások száma és a keletkezett sejtek megnyúlása határozza meg.

Az egyszerű levelekből az evolúció során többször, függetlenül alakultak ki változatos szerveződésű összetett levelek. Az alapelv azonban minden esetben ugyanaz: a levélkezdemény kialakulását szabályozó merisztematikus folyamatok (KNOX és CUC génexpresszió, citokinin szintézis) de-represszálódnak a fejlődő levélprimordium oldalsó régióiban, amit hasonlóan, mint a hajtás merisztéma esetében az auxin áramlás és kanalizáció révén kialakuló auxin maximumok tesznek lehetővé.

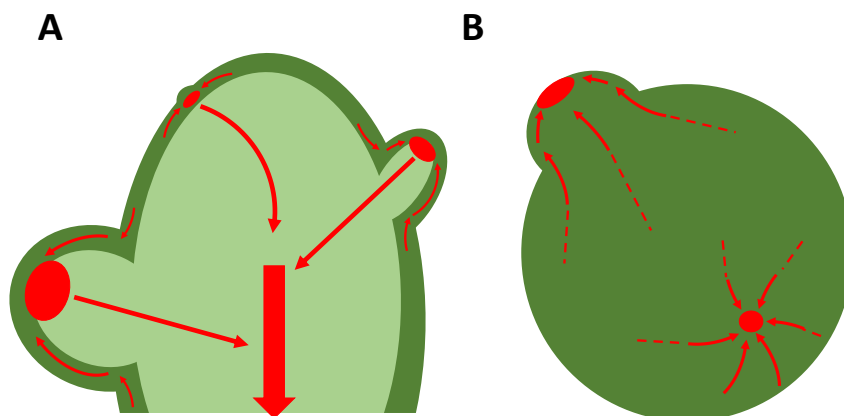
4.3.1.2.2. A levélállás szabályozása – a fillotaxis

A levelek (illetve virágok, termések) elrendeződése a száron, a levélállás vagy idegen szóval fillotaxis, jellegzetes rendszertani bélyeg. Három fő típusa, az átellenes, a váltakozó és a spirális, közvetlenül visszavezethetők a levélprimordiumok megjelenési mintázatára. Ezt a mintázatot elsődlegesen belső genetikai faktorok határozzák meg, de a környezet is befolyásolja. A hajtás merisztéma méretét, funkcióját befolyásoló mutációk (pl. *clavata*) illetve hatások, befolyásolják a levélállást is.

A levélállás elsődleges meghatározója az auxin (8). Kis mennyiségű auxint a hajtás merisztémára cseppentve, abnormális pozícióban is levél indukálható, auxin transzport gátlók alkalmazásával is megzavarható a mintázat, az auxin efflux carrier PIN1 mutációja esetén pedig egyáltalán nem jelennek meg levelek a hajtáson. Az auxin-reszponzív promóterrel (DR5) termeltetett zölden fluoreszkáló fehérje (GFP) nyomon követésével nyilvánvalóvá vált, hogy a levélkezdemények lokális auxin maximumoknál fejlődnek. Ezek a maximumok az auxin kanalizáció eredményeként alakulnak ki, az auxin efflux carrier PIN1 fehérje auxin regulált aszimmetrikus elhelyezkedésének és stabilitásának következtében (3.2.4. fejezet).

Az Arabidopsis spirális levélállásának kialakulását a következőképpen magyarázhatjuk (8) (4.3.3. ábra). A hajtás merisztéma L1 rétegében az auxin megoszlásban egyenlőtlenség alakul ki. A kicsit több auxint tartalmazó sejt elkezd a belsőbb rétegek felé auxint transzportálni. Az auxin a kanalizációs elmélet értelmében az auxint hatékonyabban transzportáló sejt felé áramlik, azaz az L1 réteg környező sejtjeiből megindul efelé a sejt felé az auxin áramlás. Az sejt „auxin vonzó” hatása azonban a távolsággal fokozatosan csökken. Egy bizonyos távolságban az auxin már az ellenkező irányba fog áramlani, ahol egy újabb maximum jön létre. A két góc, egymástól a lehető legtávolabb fog kialakulni, így a kúp alakú és növekvő hajtáscsúcs esetében az egymást követő primordiumok által bezárt szög az „aranyszög”,

azaz 137,5 °C, lesz, ami szabályos spirális elrendeződést eredményez. Az átellenes és a váltakozó levélállás a spirális speciális eseteinek tekinthetők.



4.3.3. ábra A spirális fillotaxis kialakulásához vezető auxin áramlási mintázat a hajtáscsúcs oldal (A) és felülnézetében (B). Az auxin a hajtáscsúcs epidermiszrétegében (sötétzöld) áramlik (piros nyilak) és a kanalizációs elmélet alapján gócekban (piros korongok) gyűlik össze, melyekből a belső szövetek (világos zöld) felé fordul az áramlás. Itt indulnak meg a levélkezdeményt kialakító sejtosztódások és az auxin néhány sejtoszlopban tovább áramlik az edénynyalábok (vastag piros nyíl) felé (kialakítva a pre-prokambiumot, majd az új vaszkuláris elemeket, lásd 4.3.3. szakasz). A fejlődő levélprimórdiumok auxin termelővé és forrássá válnak. Egy bizonyos távolságban a primórdiumtól az auxinvonzó hatás már nem érvényesül, és az ellenkező irányba fog áramlani az auxin, ahol egy újabb maximum jön létre. (Fehér Attila ábrája)

4.3.1.2.3 A levél polaritása

A lomblevelek epidermisze egy többrétegű levélbelső (mezofillum) fog közre. A mérsékelt égövi növények gyakran dorziventrális vagy bifaciális levél struktúrával rendelkeznek (4.3.4. ábra): a felső adaxiális felszín alatt megnyúlt, hosszirányban szorosan egymás mellé rendeződött sejtekből álló oszlopos parenchima, míg a fonáki abaxiális felszín alatt izodiametrikus sejtek által alkotott szivacsos parenchima található (9). A mezofillumba kollaterális zárt edénynyalábok ágyazódnak. Farészük többnyire a színi (adaxiális vagy tengelyfelőli) oldal, hancsrészük pedig a fonáki (abaxiális vagy tengelytől távoli) oldal felé esik.

Az adaxiális szöveti szerveződés kialakításáért a hajtás merisztéma felelős (10). Ha bemetszést ejtünk a fejlődő levélprimórdium hajtás merisztéma felőli oldalánál, akkor a levél csak abaxiális (fonáki) szöveteket fejleszt (4.3.4. ábra). Valamilyen jelre van tehát szükség a hajtás merisztémából, ami elindítja az adaxiális szövetek differenciálódását. Ez a jel feltehetően az ún. ARP-típusú transzkripciósfaktorok aktiválásért felel. Ez a transzkripciósfaktor család az oroszlánszáj PHANTASTICA (PHAN), és az Arabidopsis ASYMMETRIC LEAVES 1 (AS1) valamint ROUGH SHEAT2 (RS2) MYB-típusú transzkripciósfaktorai kezdőbetűiből kapta a nevét. Ezeknek a faktoroknak a mutációi az abaxiális-adaxiális levél polaritás elvesztéséhez vezetnek: kizárólag abaxiális szövetekből álló tűszerű leveleket (pl. *phantastica* mutáns), vagy mozaikosan adaxiális és abaxiális jellegeket mutató leveleket fejlesztenek. Az adaxiális és abaxiális levélpolaritás fenntartásában, hasonlóan az embrió apikális és bazális fejlődési régióinak elkülönülésében (lásd 4.2.1.), egymással antagonistikus kapcsolatban álló transzkripciósfaktorok

Arabidopsisban a levél adaxiális-abaxiális polaritása szorosan összefügg a levéllemez kialakulásával. Az abaxiális faktorok (pl. KANADI) pozitív visszacsatolásban vannak a YABBI transzkripciós faktorokkal, amelyek a levéllemez széli (marginális merisztémájának kialakításáért felelősek (4.3.4. ábra). A *yabbi* mutánsok levelének van adaxiális-abaxiális polaritása, de a levéllemez nem növekszik. A levélszéli merisztéma identitásáért, működéséért, ahogy a többi merisztéma esetében is, a WOX családba tartozó transzkripciós faktorok felelősek: PRESSED FLOWER (PRS) és WOX1. A *prs/wox1* kettős mutánsok a *phantastica* mutánsokhoz hasonlóan keskeny levelűek. A levéllemez növekedésének regulálásában az auxin vesz részt. Auxin szintézis mutánsok levéllemezének növekedése gyakran abnormális. Az auxin szintézisben szerepet játszó YUCCA gének expressziója az adaxiális-abaxiális régiók találkozásánál (interfész) indukálódik, ami szükséges a levéllemez növekedéséhez.

4.3.1.2.4 Epidermális sejtek differenciálódása

231

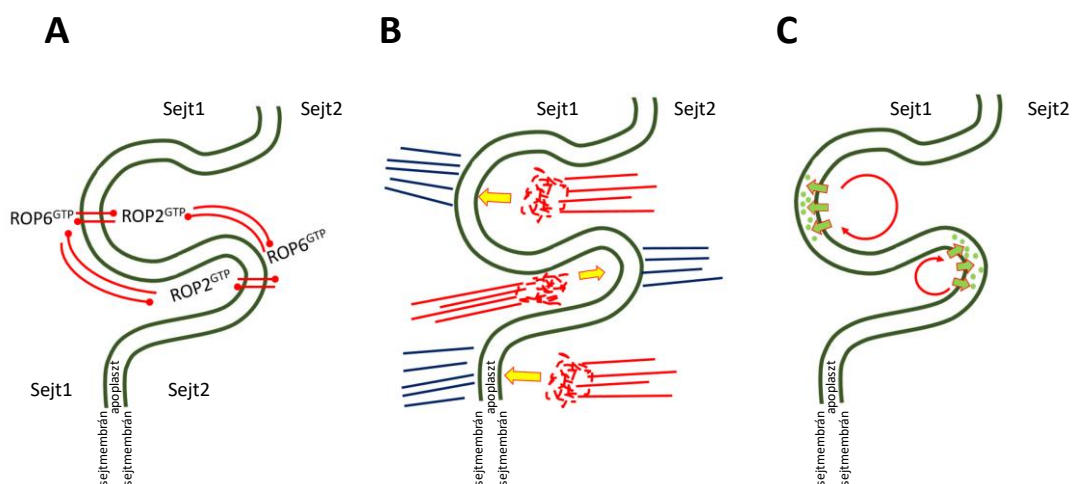
egy, néhány fajnál több sejtrétegű, a protoderéből (merisztéma L1 réteg) ered. Sejtjeit három fő típusba sorolhatjuk: a kirakósjáték-szerűen egymásba kapcsolódó alapsejtek, a levélszőrök (trichómák), és a légcserenyílasok zárósejtjei. Ezekon kívül egyéb specializált sejtek is megtalálhatóak levéltípustól ill. fajtól függően.

Az alapsejtek kirakósjáték-szerű alakja, amelynek köszönhetően olyan szorosan kapcsolódnak össze, hogy könnyen készíthetünk levél epidermisz nyúzatot, a sejtek egyenlőtlen megnyúlásának köszönhető. Ahol az egyik sejten kitüremkedés van ott a másikon bemélyedés, ami a sejtek közötti kommunikációt feltételez (11) (4.3.5. ábra). A folyamatot az auxin szabályozza a sejtvez szerveződésén keresztül. A közvetítő molekulák a kismolekulasúlyú GTP-kötő fehérjék, a ROP GTPázok, melyek a sejtek polaritásának (lásd pollencső növekedés; 4.1.2.) központi szabályozói. A kitüremkedésnél az auxin közvetve aktiválja a ROP2 GTPázot. ROP2 az aktinvez poláris szerveződését kiváltva poláris vezikula transzportot és lokális sejtmeinyúlást vált ki. Eközben stabilizálja a PIN1 auxin transzportert a kitüremkedő membránban, ami fokozott auxin transzport révén erősíti a folyamatot. Az aktív ROP2 gátolja egy másik ROP GTP-kötő fehérje, a ROP6 aktiválódását. A szomszédos sejtben azonban éppen a ROP6 GTPáz aktiválódik az auxin hatására, ahol a membránra merőleges mikrotubulus kötegeket alakít ki, ami a sejt meinyúlását gátolja, amihez hozzájárul, hogy egyben gátolja ROP2 GTPázot is és így a PIN1 stabilitását a membránban. A ROP2 és ROP6 GTPázok antagonizmusa azonos sejtben belül is érvényesül, így egy befűződés mellett mindig egy kitüremkedés alakul ki és így tovább, a szomszédos sejtben pedig ennek a komplementer mintázata (11).

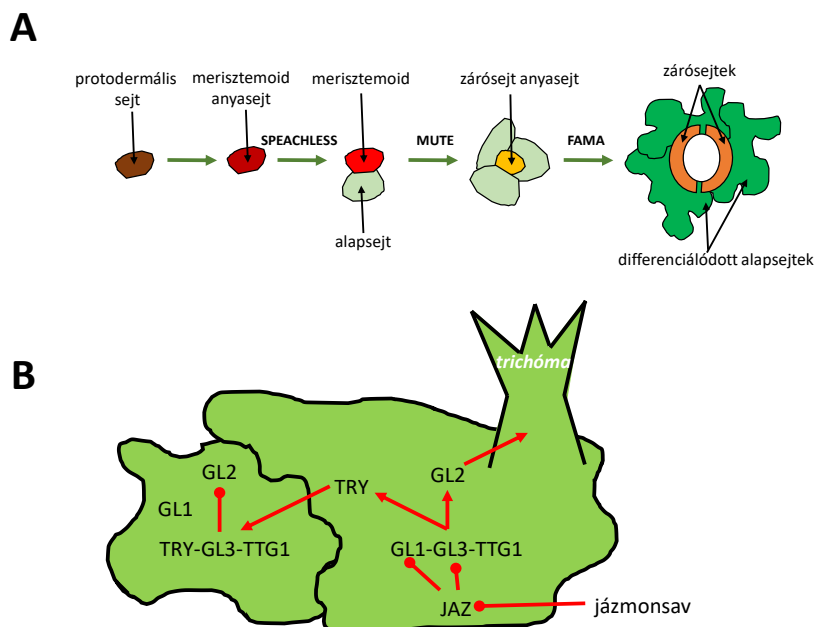
A légcserenyílasok (sztómák) zárósejtjeinek differenciálódása szintén a sejtek polarizálódásán és azt követő aszimmetrikus osztódásán alapuló bonyolult folyamat (12) (4.3.6. ábra A). Itt is Arabidopsis növények esetében rendelkezünk a legtöbb információval. A protoderma fejlődése során már elkülönül egy sejtcsoport, melyeket merisztémoid anyasejteknek (MMC) nevezünk. A merisztémoid anyasejt aszimmetrikusan osztódva létrehozza a merisztémoid sejtet és egy alapsejtet. Ezek a sejtek tovább osztódhatnak szintén aszimmetrikusan újabb merisztémoidot és alapsejtet hozva létre. A merisztémoid zárósejt anyasejtté (GMC) differenciálódik, ami szimmetrikusan osztódva hozza létre a két, már véglegesen differenciált zárósejtet. Az egyes sejtípusok közötti átmeneteket egy transzkripció faktor kaszkád regulálja, melynek tagjai sorban aktiválják egymás kifejeződését (ezek sorrendben: SPEACHLESS – MUTE – FAMA) (13) (4.3.6. ábra A). A légcserenyílasok differenciálódását és denzitását peptidek (EPIDERMA PATTERNING FACTOR_LIKE család) és az azokat érzékelő receptorkinázok (ERECTA, ERECTA-LIKE1 és 2, TOO MANY MOUTHS) szabályozzák. A peptideket az epidermisz merisztématikus sejtjei, illetve, némileg meglepő módon, mezofill sejtek szekretálják (14). Az egyszikűek esetében kevésbé ismerjük a folyamatot, de az úgy tűnik lényegesen eltér attól, mint amit az Arabidopsisban feltártak.

A trichómák (levélszőrök) egy vagy több sejtből álló epidermális nyúlványok, melyek változatos szerkezetűek és funkciójuk lehetnek. A funkciók általánosságban védekezéshez kapcsolódnak, legyen az kórokozókkal, kártevőkkel vagy szárazsággal, illetve egyéb abiotikus stresszekkel szembeni védekezés.

Az Arabidopsis trichóma egyetlen protoderma sejtéből fejlődő elágazó (alapvetően három-ágú) struktúra (15). Az első lépés az Arabidopsis trichóma fejlődésének útján a protoderma sejt endoreduplikációja, azaz a DNS replikációja, amit nem követ sejtosztódás. Ez megnöveli a sejt nagyságát. Ezt követi a sejt meinyúlása (kinövés), amit két elágazási ciklus követ. Arabidopsis esetében a trichómák szabályos távolságokban helyezkednek el egymástól, köztük olyan protoderma sejtek vannak, amelyekből nem tud trichóma fejlődni - valószínűleg maguk a trichóma iniciálisok gátolják ezekben a közbeeső sejtekben újabb trichóma keletkezését. Genetikai vizsgálatok révén azonosították azokat az Arabidopsis géneket, melyek a trichóma elrendeződési mintázatért felelősek.



4.3.5. ábra Epidermális sejtek alakjának szabályozása. A szomszédos epidermális sejtek kirakósjáték-szerűen illeszkednek egymáshoz. A szomszédos sejtkitüremkedések, befűződések több egybefüggő szinten szabályozódnak, melyeket az egyszerűség kedvéért az ábra elkülönítve ábrázolja. Molekuláris szinten fontos szabályozók a RHO-OF-PLANTS (ROP) GTPázok (A). A ROP2 és ROP6 GTPázok aktív GTP-kötött állapotban egymást negatívan regulálva két antagonistikus folyamatot szabályoznak: a ROP2 a sejtek kitüremkedését váltja ki, a ROP6 ezt gátolja, így a befűződésekért felelős. A sejt szerveződés szintjén a sejt váz játszik fontos szerepet (B) A tompa nyilak negatív szabályozást jelentenek. A kitüremkedésekhez (sárga nyilak) irányított vezikula transzport szállítja a membrán és sejt fal anyagokat az aktin sejt váz (párhuzamos piros vonalak) mentén, míg a vezikulák membránnal való fúziójához az aktin depolimerizációja szükséges (rendezetlen piros vonalak). Ezeket a folyamatokat ROP2 szabályozza. A betüremkedéseknél a sejtmembránra merőleges mikrotubulus kötegek (kék párhuzamos vonalak) akadályozzák meg a sejt lokális megnyúlását, amit a ROP6 szabályoz. Hormonális szinten az auxinnak van szerepe (C). ROP2 a PIN1 axin efflux carrier (zöld nyíl) sejtmembránba való beágyazódását (reciklizációját; piros nyíl) erősíti, ezzel fokozza a lokális auxin kiáramlást a sejtől az apoplastba (zöld pontok), ami feltehetően a szomszédos jel felé egy szignál, hogy ott befűződés alakuljon ki. (Fehér Attila ábrája)



4.3.6. ábra Specializált epidermiszsejtek, légcserenyílás záró sejtek (A) és levélszőrők (B), differenciálódásának egyszerűsített vázlata. Részletes magyarázat a szövegben. A hegyes piros nyilak pozitív, a tompák negatív szabályozást jelentenek. (Fehér Attila ábrája)

A trichóma differenciálódásáért a GLABRA2 (GL2) homeotikus transzkripció faktor felelős, melynek hiányában a trichóma képződés helyén csak aberráns sejtmegegyezés figyelhető meg és a trichóma fejlődés korán abortálódik. A GL2 kifejeződését egy fehérje komplex stimulálja a trichóma iniciális protoderma sejtekben, melynek tagjai TRANSPARENT TESTA GLABRA1 (TTG1), GLABRA1 (GL1) és GLABRA3 (GL3) (4.3.6. ábra B). Ugyanez a GL1-GL3-TTG1 komplex aktivál egy negatív regulátort, a TRYPTICON (TRY) fehérjét. TRY a fejlődő trichómában fejeződik ki, de a környező sejtekbe átvitve ott inaktíválja a GL1-GL3-TTG1 komplexet azáltal, hogy a GL1 komponenst kiszorítja komplexből (4.3.6. ábra B). Így a szomszédos sejtekben GL2 kifejeződése és a trichóma fejlődési program gátolt lesz. A trichóma fejlődést a jázmonsav jelátvitelben szereplő represszor JAZ fehérjék is gátolják oly módon, hogy kapcsolódnak a GL1 és GL3 fehérjékhez. A jázmonsav tehát a trichóma fejlődés pozitív regulátora (4.3.6. ábra B), mivel előmozdítja a JAZ fehérjék degradációját (lásd 3.10.4.).

4.3.1.2.5. A levélerek mintázatának kialakulása

A levelek erezete összekapcsolódó szállítónyalábok komplex hálózata. Az erezet mintázata fajokként és szervenként változik. Alapvetően három fő típust különböztetünk meg: a villás (ősi típus, Ginko, páfrányok), a főeres hálószerű (legtöbb kétszikű) és a párhuzamos (számos egyszikűre jellemző) erezetet. Itt is az Arabidopsis hálózatos erezetének kialakulásáról tudjuk a legtöbbet (16).

Az erek méretük szerint elsődleges, másodlagos, harmadlagos, negyedleges stb. erek, melyek hierarchikus rendbe szerveződnek. A legkisebb erek a mezofillban nyitottan végződnek.

A levél erezete, talán meglepő módon, nem a hajtás már meglevő szállítószövetéből kiindulva hálózta be a fejlődő levelet (nem akropetálisan a levél csúcsa felé növekszik), hanem éppen ellenkezőleg, a levélkezdeményben fejlődő főér csatlakozik a hajtás szállítószövetéhez (bazipetális növekedés, a levél csúcsától az alapja felé). A levélerek kialakulásában az auxináramlásnak van döntő szerepe. Ennek egyik demonstrációja, hogy ha a hajtást bemetszve megszakítjuk az edénynyaláb folytonosságát, az képes regenerálódni pótolva a hiányzó szöveteket. Ezt viszont megakadályozhatjuk azzal, ha a bemetszés felett eltávolítjuk az auxin forrásául szolgáló leveleket és hajtásokat. Ha viszont a bemetszés feletti levágott levélnyélcsomokra auxint cseppentünk, a regeneráció megtörténik. A sebzés feletti szövet auxin forrásként, az alsó auxin gyűjtőként funkcionál, megszabva az auxin áramlását, ami a vaszkuláris differenciálódás alapja (lásd alább, 4.3.3).

A levélerek kialakulását az auxin kanalizációs elmélete alapján tudjuk magyarázni (lásd 3.2.4.) (17). Az auxin serkenti a saját poláris transzportját, így egy öngerősítő folyamatban az auxint transzportáló sejtek a környező sejtekből maguk felé irányítják az auxin áramlását, majd az auxint tovább adják a következő sejteknek, ami ugyanígy viselkedik. Ennek eredményeként az irányított auxin áramlás hamarosan sejtek vékony oszlopára korlátozódik. Ezek a magas auxintartalmú sejtek pre-prokambium sejtekké differenciálódnak, melyek az auxin áramlás irányával párhuzamosan osztódva hozzájárulnak a prokambiumot (4.3.2 fejezet).

A levélprimordiumok, illetve a levélállás kialakulásával kapcsolatban (3.2.1.3.1. és 3.2.1.3.2.) már említésre került, hogy a levélkezdemény növekedésének kezdetekor az L1 rétegben kialakuló auxin maximumból auxin áramlás indul meg a belsőbb rétegekbe (alapszövet) (4.3.3. ábra). Ez az áramlás a levélkezdemény növekedése során folyamatos zajlik a kezdemény csúcsától az alapja irányába, a kanalizációs elméletnek megfelelően. Ez hozza létre a fejlődő levél középvonala táján az elsődleges, vagy fő ér prokambiumát („nyomvonalát”). Az erek nyomvonalának fejlődési irányát a már differenciálódott edénynyalábok határozzák meg. Ha Arabidopsis egy P0 levélkezdeményében elindul a főér nyomvonalának kialakulása, az az alatta levő P3 jelű primordium (a spirális fillotaxis következtében P0 alatt a P3 lesz) már differenciálódott szállítószövetéhez fog kapcsolódni. Ha eltávolítjuk a P3 levélkezdeményt, akkor a P0 főérének nyomvonalát az ellenkező oldalon levő P2

primordium differenciálódott levélere felé fordul, és ahhoz kapcsolódik. A már differenciálódott szállító szövet vagy auxin gyűjtőként irányítja maga felé az auxin áramlást, vagy valamilyen még ismeretlen jelet bocsát ki, ami felelős ezért a jelenségért.

A levélerezet hálózatos kialakulásért ugyanezek a mechanizmusok felelősek. A levélkezdemény L1 rétegében több lokális auxin maximum (konvergencia pont) is kialakul, ahonnan auxin áramlik a fő ér felé, kialakítva másodlagos erek nyomvonalát. A már kialakult erek a belsőbb szövetekből is maguk felé térítik az auxin áramlást, újabb nyomvonalakat alakítva ki, melyek mentén a terciális erek prokambiuma alakul ki. A levél auxin szintézise is fontos a levélerezet kialakulása szempontjából. A levéllemez növekedésével összhangban a levélszéli régióban aktiválódnak az auxin szintézisért felelős YUCCA gének (4.3.1.3.). Az így kialakult lokális auxin maximumokból is auxin áramlás indul a levél belsőbb szöveteibe erek nyomvonalát, majd ereket kialakítva. Ezeknél a levélszéli auxin szintézis gócknál differenciálódnak a hidatódák, ahol a levélerék végződése a szabadba nyílnak. Itt történik a xilém nedv kiválasztása (guttáció) nagy gyökér nyomás esetén.

4.3.2 A gyökér morfogenezise

Az elsődleges gyökér csúcsi része hosszanti irányban 4 különböző szövettani, fejlődési szakaszra/zónára osztható (18): 1. Gyökérsüveg (kaliptra): Elsődleges feladata az érzékeny, osztódó csúcsi rész védelme. Segíti ezen kívül a gyökér előrehaladását is a talajban azáltal, hogy a külső sejtrétege elnyálkásodik, leszakadozik. A leszakadozott sejtrétegek folyamatosan pótlódnak. A nyálka diktioszómákban (szekréción vezikulák) termelődik. A süveg harmadik fontos feladata, hogy biztosítja a gyökér geotrópos növekedését. Legfiatalabb része a belső tengelye, az ún. kolumella. Sejtjeiben speciális amiloplasztiszok, a sztatolitok találhatók, mindig a sejt alján. Ezek szenzorként működnek. 2. Osztódási/merisztematikus zóna: A süveggel védett gyökércsúcsban található a gyökércsúcs merisztéma régiója. Ahogy ezt már a merisztémáról szóló résznél említettem, a zóna középső részében helyezkedik el a ritkán osztódó sejtekből álló nyugalmi centrum, ezt veszik körbe az iniciálisok, melyek osztódásukkal hozzák létre az elsődleges merisztémákat. Az elsődleges merisztémák determinált helyzetűek, azaz helyüket meghatározza, hogy milyen szövettáj differenciálódik utódsejtjeikből. Négy elsődleges merisztéma van a gyökérben. A kaliptrogén hozza létre a gyökérsüveget, a dermatogén a bőrszövetet (kétszikűekben dermokaliptrogén), a peribléma az elsődleges kérget, míg a pleróma a gyökér központi hengerét. 3. Megnyúlási vagy elongációs zóna: A gyökerekben az osztódási zóna fölött elkülöníthető egy szakasz, amelyben a sejtek osztódása fokozatosan 0-ra csökken, a sejtek nem osztódnak tovább, hanem a differenciáció első lépéseként jelentősen megnyúlnak. 4. Érés/maturációs zóna: A megnyúlási zóna fölött helyezkedik el, itt befejeződik a differenciáció folyamata, és kialakulnak a radiálisan szerveződő szövetek, a specializált sejtek és szervek (pl. Casparian-csíkos endodermisz, érett xilém és floém szállító elemek, gyökérszőrök, és oldalgyökér kezdemények). Ez a zóna a fiatal gyökerek elsődleges szöveti zónája. Mivel itt történik az intenzív vízfelvétel, ebben a régióban fejlődnek a gyökérszőrök is (felszívási zónának is nevezik). A gyökérszőrök kialakulása és elhalása folyamatos, a csúcshoz közel alakulnak ki a fiatal epidermisz sejtekből, és a zóna felső részében pusztulnak el egy-két nap után.

4.3.2.1. A gyökér merisztéma és működése

A gyökér merisztéma az embriogenezis során a hipofízis sejt lencse alakú utódsejtjéből kiindulva fejlődik (19). A gyökércsúcsban a legintenzívebb osztódás a csúcstól bizonyos távolságra (attól kb. 1 mm-re) az osztódási zónában található. Az osztódási zóna néhány sejtje azonban ritkábban osztódik és a környezeti hatásokkal szemben is ellenállóbb. Ez a nyugalmi centrum (quiescent center), melynek sejtjei ritkán osztódnak.

A nyugvó sejteket szöveti iniciális sejtek (össejtek) veszik körül, az elsődleges merisztémák szerveződésének megfelelő módon:

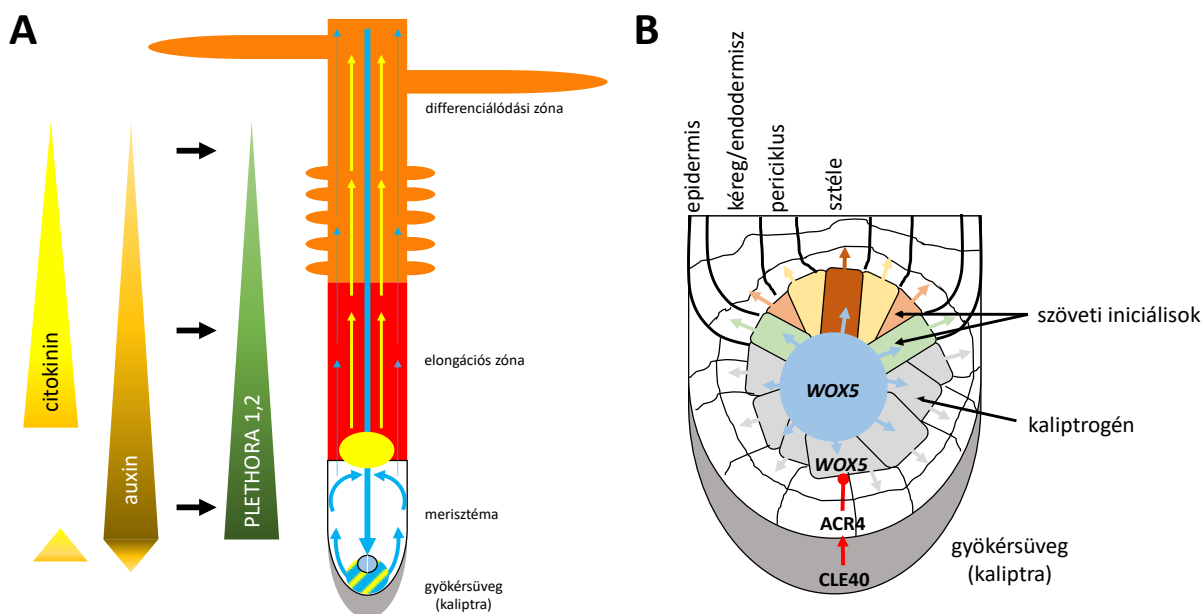
1. Sztéle iniciálisok (pleróma): a periciklust és a szállító szöveteket hozzák létre
2. Kortex-endodermisz iniciálisok (peribléma): az endodermisz és a kéreg sejtjeit hozzák létre
3. Epidermisz/oldalsó gyökérsüveg iniciálisok (dermokaliptrogén): a bőrszövetet és a gyökérsüveg oldalsó részét hozzák létre
4. Kolumella iniciálisok (kaliptrogén): antiklinálisan és periklinálisan is osztódva a gyökérsüveg központi részét hozzák létre

A szöveti iniciális összegek pozíciójuknak megfelelően adott differenciált sejt típus(oka)t hoznak létre, miközben önmagukat is megújítják. Bár első látásra a szöveti iniciálisok jól definiált sejt vonalakat hoznak létre, a gyökér sejtjeinek a differenciálódása nem attól függ, hogy a merisztéma melyik iniciálisából származnak, hanem a pozíciójuktól. Ha ugyanis a gyökércsúcsban az egyik iniciálisból képződött sejtet lézerrel elpusztítjuk és a helyét egy a szomszédos sejt vonalból származó sejt foglalja el, akkor ez a sejt az új pozíciójának és nem a származásának megfelelően fog differenciálódni (20).

A gyökér merisztéma kialakulása szempontjából az auxin felhalmozódása az embrió hipofízis régiójában alapvető fontosságú (lásd 4.2.1.). Ha az auxin maximum pozícióját megváltoztatjuk az embrióban, a gyökér merisztéma is ennek megfelelően áthelyeződik (a gyökér merisztéma kialakulása tehát nem hipofízis, hanem auxin maximum függő). Az auxin gyökér merisztéma fejlődést szabályozó szerepére utal, hogy auxin kezelés hatására kalluszból gyökér differenciálódik, illetve, hogy a járulékos gyökérfejlődés a hajtáson szintén auxin függő.

A növényben az auxin a hajtás felől a gyökércsúcs felé áramlik és a gyökér merisztémában magas koncentrációt ér el (a nyugvó sejtekben a legmagasabb). Az auxin koncentrációval megegyező mértékben változik a PLETHORA 1 és 2 (PLT1,2) transzkripció faktorok szintje a gyökérben, ami összefügg a gyökér fejlődési zónáinak kialakulásával is (21) (4.3.7. ábra). A PLT1 és PLT2 transzkripció faktorokról is szó volt az embriógenezis tárgyalása során. Ezek a homeotikus faktorok határozzák meg az embrió/növény bazális régiójának, gyakorlatilag a gyökérnek, az identitását (ha a hajtáscsúcsban ektopikusan kifejeztetjük őket, ott is gyökér fejlődik; lásd még 4.2.1.). A PLETHORA transzkripció faktor hiányos mutáns Arabidopsis növényeknek nincs gyökér merisztémája.

A gyökér merisztéma működésének fenntartásért felelős transzkripció faktor a hajtás merisztéma WUS transzkripció faktorával rokon WOX5, amelynek génje a nyugvó központban fejeződik ki, de hatását (WUS-hoz hasonlóan) a környező sejtekben fejt ki, megakadályozva azok differenciálódását. WOX5 felelős tehát a szöveti iniciálisok osztódóképességének fenntartásáért. WOX5 hiányában ezek a sejtek is differenciálódásnak indulnak. Szintén hasonlóan ahhoz, ahogy a hajtás merisztémában történik, WOX5 expresszióját egy receptor kináz ARABIDOPSIS CRINKLY4 (ACR4) és ligandja a CLE44 peptid korlátozza, fenntartva a merisztéma méretét (22).



4.3.7. ábra A gyökér (A) és a gyökérmerisztéma (B) felépítése. A) A gyökér hosszanti funkcionális zonációval és radiális szöveti elrendeződéssel jellemezhető. A gyökér zónáit elsősorban az auxin és a citokinin hormonok szabályozzák. Az auxin a hajtásfelől a vaszkuláris parenchima sejtekben a gyökér csúcs felé (akropetálisan) transzportálódik, a gyökér csúcsánál éri el a koncentrációja a maximumot, és a külső sejtrétegben megindul egy bazipetális visszafelé irányuló áramlás (kék szín és nyilak). A legmagasabb auxin tartalomnál találjuk a nyugvó sejteket (kék kör kettő osztva), melyek a gyökérmerisztéma működéséért felelősek. A citokinin a gyökér csúcsánál és a merisztematikus zóna határánál szintetizálódik és innen a hajtás felé áramlik (sárga szín és nyilak). A kialakuló hormon (elsősorban auxin) grádiens leképezi a gyökér identitásért felelős PLETHORA 1 és 2 transzkripció faktorok kifejeződése, ami az egyes gyökér zónák sejteinek eltérő differenciálódásáért felel. B) A gyökérmerisztéma középpontjában, a nyugvó sejtekben („quiescent center”, QC) termelődik a WOX5 transzkripció faktor, ami a QC körüli szöveti iniciális sejtek differenciálódását gátolja. Ezekben a sejtekben a WOX5 kifejeződését a gyökérsüvegben termelődő CLE40 peptid gátolja (tompá piros nyíl) az ACR4 receptor kináz aktiválásán (hegyes piros nyíl) keresztül. A szöveti iniciális sejtek pozíciójuknak megfelelően hozzák létre a gyökeret felépítő radiális elrendeződésű szöveteket, illetve a gyökércsúcsot beburkoló gyökérsüveg sejtjeit. (Fehér Attila ábrája)

4.3.2.2. Az oldalgyökerek fejlődésének szabályozása

A nyitvatermőkben és a legtöbb kétszikűben az oldalgyökerek az edénynyalábokat körülvevő periciklusban indulnak fejlődésnek a xilém pólusnál, a megnyúlási zónában. Egyszikűekben az endodermisz is szerepet játszik a folyamatban, ami itt a floém pólusnál indul el. A legtöbb növényben periciklus sejtek antiklinális (gyökérfelületre merőleges) osztódásával kezdődik a folyamat (23), amit további osztódások, majd sejtmeinyúlások követnek, aminek következtében az oldalgyökér kezdemény áttör a kortexen és epidermiszen. A fejlődő oldalgyökér csúcsa felé auxin áramlás indul meg, amely hasonló mintázatot vesz fel, mint ami a főgyökér csúcsára jellemző. Így az oldalgyökér merisztémája és fejlődési zónái hasonlóan alakulnak, mint a főgyökér esetében. Az oldalgyökerek növekedés indeterminált és el is ágazhatnak, ami jelentősen megnöveli a gyökérsüveg méretét, felszínét.

Az oldalgyökerek képződésének helyét belső és külső tényezők egyaránt befolyásolják. Az oldalgyökerek iniciációja is auxin maximumoknál történik (24). Arabidopsis oldalgyökerek viszonylag szabályos távolságokra, mintegy hatórás periódusokban jönnek létre. A főgyökér elongációs zónájában

megfigyelt ciklikus Ca^{2+} , pH és auxinszint emelkedések korrelálnak az oldalgökök megjelenésének periódusával, így feltehető, hogy van kapcsolat a két jelenség között.

Ha a hajtáscsúcsot eltávolítjuk, az oldalgökörképződés gátolt, amit a levágott hajtásra helyezett auxinnal újra lehet indítani, azaz a hajtásból származó auxin fontos az oldalgökök iniciáció számára (25). Az oldalgökök fejlődése szempontjából viszont a gyökér merisztéma felelő érkező auxin szerepét mutatták ki.

A periodikus oldalgökök képződés mellett jellemző az oldalgökök megjelenése a gyökér görbületeinél, a görbület külső felszínén (26). A görbületnél átmeneti Ca^{2+} koncentráció emelkedés, majd auxin felhalmozódás figyelhető meg az oldalgökök iniciációt megelőzően. Az oldalgökök képződés etilénnel gátolható.

4.3.2.3. A gyökérszőrök morfogenezise

A gyökérszőrök fontos szerepet játszanak a növények víz és tápanyag felvételében, valamint a növénynek a talajhoz való mechanikai rögzítésében. A gyökérszőrök elrendeződése alapján a növények három csoportba sorolhatók. Az első típus érvényes a növények többségére: ezeknek a növényeknek bármely gyökér epidermisz sejtje fejleszthet gyökérszőrt. A második és harmadik típusba tartozó növények esetében a gyökér egyes epidermisz sejtjei képesek gyökérszőr létrehozására (trichoblasztok), mások nem (atrachoblasztok). A második csoportba alacsonyabb rendű edényes növények ill. alacsonyabb rendű zárvatermők, valamint néhány egyszikű tartozik, ahol a merisztémában egy aszimmetrikus osztódás hoz létre egy sejtrétegben egy kisebb trichoblasztot és egy nagyobb atrachoblasztot, melyek így felváltva követik egymást. A harmadik csoport a keresztesvirágúaké, ahol a merisztéma felváltva hoz létre gyökérszőrképzésre képes és képtelen sejtrégeket, amelyek így radiálisan váltják egymást. Mivel az *Arabidopsis* ebbe a csoportba tartozik, ennek a gyökérszőr megoszlásnak ismerjük részletesen a molekuláris hátterét (27). A trichoblasztok differenciálódása sokban hasonlít a levélszőrök differenciálódására, de lényegesek az eltérések is. Az atrachoblasztokban egy fehérjekomplex (tagjai: WEREWOLF (WER), TRANSPARENT TESTA GLABRA1 (TTG1), GLABRA3 (GL3) és ENHANCER OF GLABRA3) serkenti a GLABRA2 és CAPRICE (CPC) gének kifejeződését. GL2 a gyökérszőr fejlődést gátolja (érdekesség: a levélben GL2 a levélszőr fejlődés pozitív szabályozója!). CPC a szomszédos sejtbe transzportálódik és ott gátolja WER funkcióját, így GL2 nem aktiválódik, nem tudja gátolni a gyökérszőr fejlődést, amit a szomszédos belső kéreg (kortex) sejtekből származó peptid faktor indukál. A trichoblasztok mindig két kortikális sejt találkozásánál alakulnak ki.

A gyökérszőrök a trichoblasztok alsó részének kitüremkedései, melyek hasonló mechanizmussal növekednek, mint ahogyan a pollencsővek (csúcsi növekedés, „tip growth”). Itt is ROP G-fehérjék szabályozzák a növekvő csúcsnál a Ca^{2+} gradiens kialakulását és a sejtváz polarizációját (28). Lokális sejtfal savanyodás és sejtfallazulás jelzi a folyamat kezdetét.

A gyökérszőrök fejlődését az auxin transzport szabályozza: az *aux1* és *pin2* auxin transzport mutánsok rövidebb, az *abcb4* auxin transzport mutáns hosszabb gyökérszőrökkel rendelkeznek. Etilén kezelés hatására ott is képződnek gyökérszőrök, ahol egyébként atrachoblasztoknak kellett volna lenniük. Az etilén szintézis gátlók (pl. Ag⁺) viszont csökkentik a gyökérszőrök számát, vagyis az etilén pozitív regulátora a gyökérszőr képződésnek. Szintén pozitívan hat a gyökérszőr képződésére a jázmonsav, szemben a brasszinoszteroiddal, ami gátolja azt.

4.3.3. A szállító szövetek differenciálódása

A szállítószövetrendszer a vízben oldott anyagok hosszútávú szállítását végzi a növényben. Elsődlegesen a gyökök által felvett vizet és tápanyagokat juttatja el a hajtásba, és a fotoszintézis

révén a hajtásban létrehozott szerves vegyületeket a növény többi részébe. Az előbbi feladatot a farész (xilém), az utóbbit a pedig a háncsrész (floém) látja el. Mindkét szállítószövet erősen specializált sejtekből áll, melyek a szállítás irányába erősen megnyúltak és ferde harántfalakkal megnövelt felületen biztosítják a szállított anyagok transzportját. A farész szállítóelemei többnyire elpusztult sejtekből állnak, míg a háncsrész hasonló feladatot ellátó sejtjei plazmát tartalmaznak. A farész sejtjeinek falába szilárdító (pl. lignin) anyagok épülnek, ezért a vízszállító csövek sejtfa nagyon vastag, ürege pedig szűk. Fontos szerepet játszanak a növényi test szilárdításában is. A szállítószövet elemei a növényi szervekben edénynyalábokba rendeződnek. Ezek szerveződése és elrendeződése az egyes növény csoportokban változatos. Az edénynyalábok elsődleges és másodlagos elemeit egy merisztematikus szövet a (pro)kambium hozza létre.

4.3.3.1. A kambium

Az elsődleges xilém és floém elemek azokból a prokambium nyalábokból differenciálódnak, melyeket a csúcsi merisztémák (hajtás, gyökér) megfelelő iniciális sejtjei hoznak létre. A valódi kétszikűek esetében a prokambium belső része differenciálatlan marad az elsődleges floém és xilém sejtek között és vaszkuláris kambiumként megőrzi merisztematikus működését. A kambium iniciálisainak osztódásával keletkező sejtek befelé tipikusan másodlagos fa, kifelé másodlagos háncsszövetet hoznak létre. Egyszikűekben a prokambium teljes mértékben differenciálódik elsődleges fa- és háncselemékké, így nincs vaszkuláris kambiumuk.

A terminálisan pozícionált hajtás és gyökér merisztémákkal szemben, a vaszkuláris kambium a kétszikű növény szinte teljes apikális-bazális hossz tengelye mentén megtalálható. A kambium bár pozíciójában és szerveződésében eltér, sok tekintetben hasonlít a csúcs merisztémákhoz. Az iniciális sejtek itt is differenciálatlan, osztódóképes állapotban maradnak. Ezt hasonló molekuláris mechanizmusok biztosítják, mint a többi merisztémában. A merisztéma identitásáért itt is egy WUS/WOX típusú homeotikus transzkripció faktor (WOX4) felelős, aminek funkcióját szintén peptidek (CLE41 és CLE44) szabályozzák egy receptor kinázon (PHLOEM INTERCALATED WITH XYLEM (PYX) keresztül. Ebben az esetben a peptid forrásai a szomszédos floém sejtek, és a receptor kináz nem gátolja, hanem serkenti a WOX4 kifejeződését. A kambium auxin tartalma magas.

4.3.3.2. A vaszkuláris sejtek differenciálódása

A prokambium kezdetben vékonyabb falú protoxilém és protofloém, majd nagyobb méretű és vastagabb falú metaxilém és metafloém sejteket hoz létre (29). A farész elemei a tracheák, a tracheidák, a farostok és a faparenchimasejtek. A tracheidák elhalt vízszállító sejtek. Sejtfa luk másodlagos vastagodása hálózatos, gödörkés, vermes gödörkés stb. lehet. A tracheák több sejt (tracheatag) harántsejtfalának felszívódásával keletkező vízszállító csövek. A zárvatermők fő vízszállító eleme.

A háncsrész alkotói a rostasejtek, a rostacsövek, a kísérősejtek, a háncsparenchima és a háncsrost. A rostasejtek a harasztok és a nyitvatermők egyedüli szállítóelemei, de a zárvatermőkben is gyakran előfordulnak. Tonoplasztjuk szétesése után sejtmagjuk tönkremegy és egy keverékplazma (mixoplazma) tölti ki a sejt üregét, amelyben az endoplazmatikus retikulum a sejtfa közelében megmarad. A rostasejtek csúcsi falán lévő sejtfa vastagodások gödörkéin plazmodezmoszok hatolnak át a szomszédos rostasejtekbe, amelyek a gyors asszimilátum-szállítást teszik lehetővé. A rostacsövek a zárvatermők jellegzetes háncselemei. Úgy keletkeznek, hogy több egymás fölött elhelyezkedő sejt (rostacsótag) harántfalai perforálódnak, ún. rostalemezt alkotva.

A vaszkuláris szövetek differenciálódása szempontjából az auxin és a citokinin hormonok kölcsönhatása meghatározó (30). A prokambium mentén periklinális osztódásokkal jön létre a vaszkuláris sejtekké differenciálódó új sejtréteg. Ez a periklinális osztódás elmarad a WOODEN LEG

(WOL) mutánsban, amely egy citokinin receptort érint, és a mutánsban nem képződik floém. A kambiumban magas az auxin tartalom, majd a floém és xilém felé fokozatosan csökken, vagyis egy sugárirányú auxin koncentráció grádiens alakul ki a szövetben (de a xilémben magasabb az auxin koncentráció, mint a floém). Egy auxin jelátvitelben szerepet játszó gén (AXR3) mutációja a protoxilém kialakulását akadályozza meg, azaz az auxin a xilém differenciálódáshoz szükséges. A gibberellin szinergisztikus hatása az auxinnal ebben a tekintetben. A brassinoszteroid hiányos mutánsokban, illetve a brassinoszteroid szintézis gátló Brasszinazollal kezelt növényekben, a floém túlféjlődik a xilém rovására. Etilén szintén a másodlagos xilém képződést serkenti.

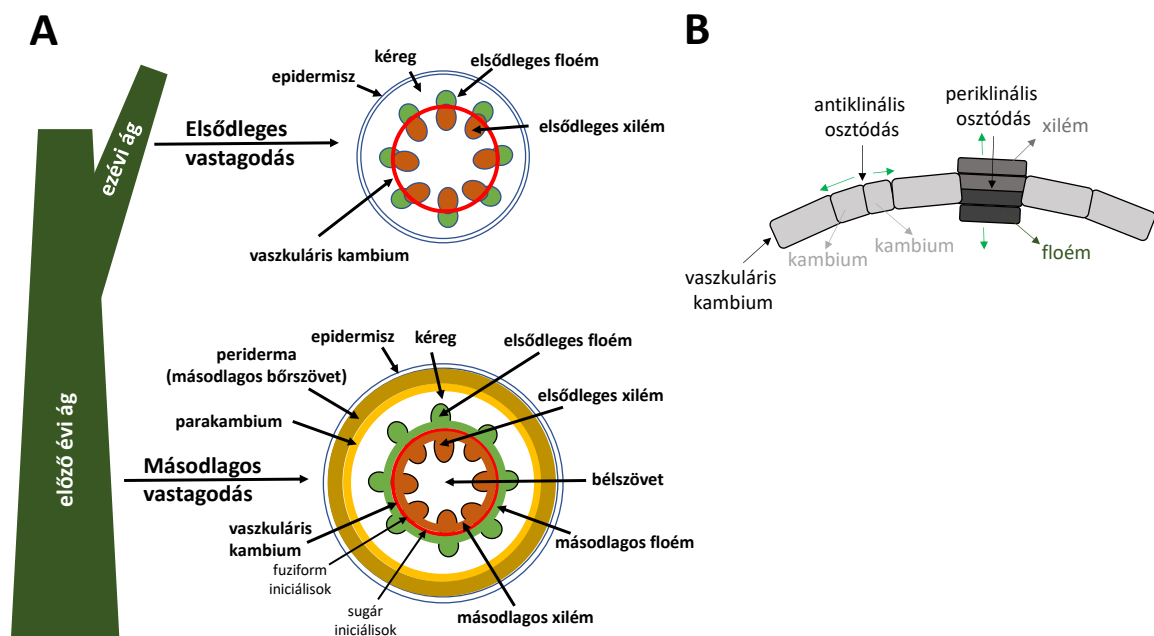
A vaszkuláris elemek differenciálódásának tanulmányozása a növényben igen nehéz. Kidolgoztak azonban egy *Zinnia* sejteken alapuló in vitro rendszert, ami megfelelő modellnek bizonyult a xilém differenciálódás (xilogenezis) vizsgálatára (31). Zinni mezofill sejtekből létrehozott sejttenyészetben a differenciálódás három fázisát különböztették meg: I. a mezofill sejtekből származó protoplaszt-eredetű sejtek sebzési válasza és differenciált funkcióik elvesztése; II. másodlagos sejtfalanyagok szintézise, és megfelelő mintázatban való lerakódásuknak valamint a sejt autolízisének kezdete; III. a sejtfal másodlagos vastagodása és lignifikációja és a vakuoláris autolízis kiteljesedése, minek eredményeként csak a sejtek másodlagosan vastagodott lignifikált fala marad meg. Auxin és citokinin egyaránt szükséges a folyamat elindításához a tenyészetben, a későbbi szakaszokban a lignifikációt és a programozott sejthalált a brassinoszteroid indukálja. Az in vitro rendszer egyetlen hiányossága, hogy a tracheatagok különállók maradnak zárt végfalakkal, míg a növényben az egymáshoz kapcsolódó elemek közötti válaszfalak eltűnnek. Feltehetően ehhez a lépéshez az egymással közvetlenül érintkező sejtek közötti kommunikáció szükséges, ami az in vitro rendszerben nem valósul meg. Egy potenciális jelölt erre a kommunikációra a proteoglikán-szerű xilogén faktor. A xilogén a prokambiumban és a xilémben halmozódik fel *Zinnia* csíranövényekben és a xilém elemek apikális falánál halmozódik fel. Ez a poláris akkumuláció és a xilogén hiányos növények megszakított, nem-folytonos tracheái utalnak arra, hogy a xilogénnek a sejtek közötti kommunikációban és a sejtek közötti válaszfalak elbontásában lehet, ha nem is kizárólagos, szerepe.

4.3.3.3. A másodlagos vastagodás

A nyitvatermők és fás- valamint nagyobb lágyszárú kétszikű zárvatermők esetében a kambium, mint az apikális-bazális tengely mentén végigfutó laterális merisztémák, sugár irányú növekedést eredményeznek a szárban és a gyökérben. Ezt a növekedést nevezzük másodlagos növekedésnek. A vastagodást a laterális merisztémák által képzett új szövetek eredményezik (32) (4.3.8. ábra). A másodlagos vastagodásban két merisztéma vesz részt (4.3.8. ábra A). 1) A vaszkuláris kambium, amely másodlagos szállítószöveti elemeket hoz létre (lásd fentebb). Két morfológiailag eltérő sejtípus alkotja: a fuziform iniciálisok és a sugár iniciálisok. 2) A parakambium vagy fellogén, amely az elsődleges bőrszövet szárvastagodás miatt történő felszakadozását követően alakul ki. Működése a másodlagos bőrszövet, a periderma megjelenését eredményezi. A fellogén (parakambium) teljes egészében de-differenciálódással keletkezik a bőrszövet, vagy az elsődleges kéreg sejtjeiből. A vaszkuláris kambium funkciójából következően jellegzetes sejtosztódási mintázattal rendelkezik (4.3.8. ábra B). Periklinális (felszínnel párhuzamos) osztódások hozzák létre kifelé a floém, befelé a xilém sejtjeit. Mivel azonban ez megnöveli a szár átmérőjét és területét, antiklinális (felszínre merőleges) osztódásokkal újabb kambium sejtek jönnek létre hozzáigazítva a kambiumot az új szár/gyökér kerülethez.

Az elsődleges és a másodlagos növekedési zóna mind térben mind időben elkülönül, könnyen felismerhető és a gyorsan növekvő fajokban, mint amilyen a nyárfa, gyorsan fejlődik. Nyárfa esetében a hajtás merisztéma által biztosított elsődleges növekedés jellemző az első nyolc internódiumra (ez kb 15 cm a hajtás merisztémától), majd a növekedés másodlagos növekedésként másodlagos xilém és floém elemek képződésével (ezt nevezzük fásodásnak is) folytatódik. A mérsékeltövi fás növényekre

rendszeres szezonális vastagodás jellemző, mivel az aktív növekedési (tavasz-ősz) és nyugalmi (tél) szakaszok szabályozottan váltják egymást. Ennek köszönhetőek a fák évgyűrűi. A kambium aktivitásának téli leállításában és tavaszi újraindításában az auxin és a gibberellin játszik szerepet. A lágyszárú kétszikűek esetében a másodlagos vastagodás (a kambium aktivitása) fejlődésüknek csak rövid szakaszára jellemző, és/vagy csak környezeti hatásokra átmenetileg következik be. Az egyszikűeknek nincs kambiuma, így nincs másodlagos növekedésük sem. A fásszárú egyszikűek, pl. pálmák, egy elsődleges periferiális vastagodási merisztémával rendelkeznek, amely a levélkezdemények alatt helyezkedik el gyűrűszerűen és extra sejtrétegeket, beleértve edénynyalábokat, hoz létre, ami biztosítja a megfelelő szárvastagság elérését.



4.3.8. ábra A vaszkuláris kambium és a másodlagos szárvastagodás. A) Az elsődleges és másodlagos vastagodás időben és térben is elválasztódik. A másodlagos növekedést a vaszkuláris kambium által létrehozott másodlagos floém és xilém okozza, illetve a vastagodás miatt felszakadó epidermisz/kéreg hatására aktiválódó másodlagos merisztéma a fellogén, ami másodlagos bőrszövetet (periderma) hoz létre. B) A kambium sejtek a másodlagosan vastagodó szárakban kétirányban osztódhatnak: antiklinálisan, hogy a szár növekvő területének megfelelően növekedjen a kambium réteg és periklinálisan, hogy sejteket hozzanak létre a differenciálódó floém (kifelé) és xilém (befelé) számára. (Fehér Attila ábrája)

4.3.4 A hajtás és a gyökérzet architektúrájának környezeti szabályozása

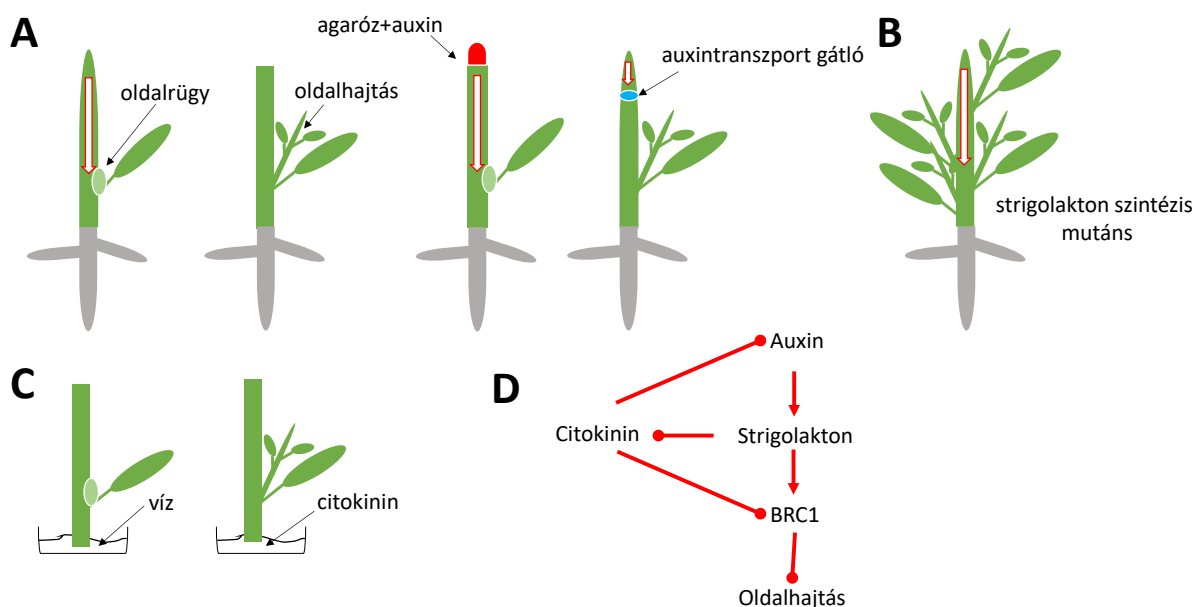
Az ősi edényes növények két elágazó egyenértékű (dichotómikus) hajtással rendelkeztek, míg a ma élő magasabb rendű növények többsége a hajtást felépítő fitomer egységek eltérő hosszának, alakjának, pozíciójának és az alvó rügyek eltérő kihajtási fokának köszönhetően igen változatos hajtásstruktúrával rendelkeznek. A genetikailag meghatározott struktúrát a környezeti viszonyok is jelentősen befolyásolják. A hajtásrendszer struktúrájának és a környezetnek megfelelő egyensúlyban kell lennie ahhoz, hogy a növény az adott körülmények között optimálisan tudjon növekedni, fejlődni.

Még inkább így van ez a gyökérzet esetében. A gyökérzetnek kell biztosítania a növény számára a szükséges vizet és tápanyagokat, rögzíteni a hajtást a talajhoz és kapcsolatot tartani a rizoszféra élőlényeivel. Mindezt nagyon eltérő talajviszonyok között. Így a gyökérzetnek sikeresen kell tudnia alkalmazkodnia nagyon különböző környezeti feltételekhez.

4.3.4.1. A hajtáselágazódás szabályozása – apikális dominancia

Az apikális dominancia jelenség lényege, hogy a csúcsi (apikális) hajtás merisztéma működése megakadályozza az alatta fejlődő laterális (axilláris) rügyek működését (kihajtását). Ha a csúcsrügyet eltávolítjuk, a nyugvó rügyek oldalhajtásokká fejlődnek. Ezt a jelenséget a kertészetben is felhasználjuk, pl. a gyümölcsfák metszésekor a fa koronájának a kialakítására.

Kísérletek igazolják, hogy az apikális dominanciát a hajtáscsúcstól a hajtás alapja felé transzportálódó auxin tartja fenn (33) (4.3.9. ábra). Ha a hajtáscsúcsot auxin transzport inhibitorral kezeljük, akkor megindul az oldalrügyek oldalhajtássá fejlődése. Ha levágott hajtáscsúcsra auxint tartalmazó agar kockát helyezünk, az oldalrügyek nem hajtanak ki.



4.3.9. ábra Az apikális dominanciában szerepet játszó hormonok. Az auxin (A), a strigolakton (B), és a citokinin (C) szerepét igazoló kísérletek, és a hormonok egymásrahatásának vázlata (D). A) A hajtáscsúcsot és így az auxin forrást eltávolítva az oldalrügyek kihajtanak, ezt a hajtáscsúcsra helyezett, auxint tartalmazó agarkocka megakadályozza. A csúcs alá cseppentett auxin transzport inhibitor hatására szintén kihajtanak az oldalrügyek. B) A strigolakton hiányos mutánsok nagyon elágaznak, az oldalrügyei kihajtanak, nincs apikális dominancia. C) Gyökér hiányában a hajtáscsúcs (auxin) eltávolítása nem váltja ki az oldalrügyek aktiválását, de citokinin adva a hajtás bazális régiójához ez megtörténik, vagyis a citokinin szükséges a rügyek kihajtásához. D) A hajtáscsúcsból származó auxin a strigolaktonnal együtt gátolja a citokinin szintézist és a BRC1 transzkripció faktor aktiválásán keresztül az oldalrügyek kihajtását. Citokinin gátolja mindkét hormon hatását, így BRC1 nem termelődik és az oldalrügy kihajt. (Fehér Attila ábrája)

Az auxinon kívül a citokinin és a strigolakton hormon is befolyásolja a hajtások elágazódását (34) (4.3.9. ábra). Az oldalrügyre helyezett citokinin aktiválja a rügyet, ami hajtássá fejlődik, vagyis a citokinin az elágazódást serkenti. A strigolakton mutánsok erősen elágazók, vagyis a strigolakton gátolja az oldalrügyek kihajtását. A strigolaktonok aktiválják a BRANCHED1 (BRC1) gént, amelynek terméke gátolja az oldalrügyek fejlődését. A három hormon egymás szintézisét és/vagy transzportját kölcsönösen szabályozva kontrollálja az oldalrügyek kihajtását. Az auxin és a strigolakton gátolja a citokinin szintézisét, a citokinin viszont az auxin strigolakton szintézist serkentő hatását gátolja.

A környezeti hatások, pl. tápanyagellátottság, a fény, a hormonok egyensúlyát megbontva befolyásolják a hajtáselágazások számát. A nitrogén- illetve foszforhiány amellet, hogy a növény

növekedését visszafogja, csökkenti a hajtáselágazások számát az oldalrügyek kihajtásának gátlásával. A tápanyagban gazdag talajon fejlődő növények számos hajtást fejlesztve bokrosodnak, míg a szegényebb talajokban fejlődők alig ágaznak el. A tápanyagok hiányát a talajban a gyökér érzékeli, aminek hatására növeli a strigolakton és csökkenti a citokinin szintézis mértékét. A strigolakton a hajtásba jutva gátolja az oldalrügyek aktiválódását, a kevesebb citokinin pedig nem képes azt serkenteni az auxin és strigolakton ellenében. Az árnyékban fejlődő növényekre a hajtások megnyúlása mellett a csökkent hajtáselágazás is jellemző, míg teljes fényben bokrosabb a megjelenésük. A felfelé törekvő növekedéssel a növény megpróbál több fényhez jutni, és az ehhez szükséges plusz tápanyagot/energiát többek között az elágazások gátlásával nyeri. Az árnyékban a vörös:távolsági vörös fény aránya alacsony, ami a fitokróm B fényreceptoron keresztül aktiválja az ún. árnyékkerülési választ (2.3.2. fejezet), melynek része a hajtás elágazások gátlása (35). Genetikai vizsgálatok alapján ebben az árnyék-indukált folyamatban az auxin és a strigolakton jelátvitelnek is szerepe van.

Újabb kísérletek alapján az oldalrügy cukor ellátottsága is fontos szerepet játszik a rügy kihajtásának kiváltásában: a hajtáscsúcsot eltávolítva az oldalrügyek cukorfelvétele megnövekszik (megszűnik a hajtáscsúcs cukor felvevő szerepe), ami jól korrelál a rügy aktivációjával (36).

4.3.4.2. A gyökérzet architektúrájának környezeti szabályozása

A gyökérzet háromdimenziós morfológiáját a gyökértípusok arányának, az egyes gyökerek növekedési sebességének és növekedés irányának, az elágazások gyakoriságának szabályozásával tudják a növények megváltoztatni (37). A gyökérzet architektúrája fajoként jellegzetesen eltér, még akkor is, ha ugyanabban a habitatban élnek. Lényeges eltérés van a kétszikűek és egyszikűek gyökérzete között (37). Utóbbiak gyökérzete komplexebb és sűrűbb. A kukorica gyökérzetében az elsődleges gyökér mellett, amely az embrió radikulájából fejlődik, már az embrionális fejlődés során megjelennek a szkutelláris nódusból fejlődő járulékos gyökerek (szeminális gyökerek) majd poszt-embrionálisan további járulékos gyökerek fejlődnek a hajtáson, a korona gyökerek. Ezek aránya és jelentősége fokozatosan növekszik a növény korával és a kifejtett növényben a gyökérzet túlnyomó részét már a korona gyökerek adják. A kétszikűekben az elsődleges főgyökér és elágazásai alkotják a gyökérzetet. Ezt kiegészítve a főgyökér alapjánál újabb „bazális” gyökerek fejlődhetnek, illetve a talaj szintje alá került hajtás is hozhat létre járulékos gyökereket.

A gyökérzet struktúráját is jelentősen befolyásolja a talaj tápanyag tartalma. Elsősorban a foszfor és a nitrogén mennyisége és hozzáférhetősége. A foszforhiány igen jellegzetes gyökérzet morfológiai és biokémiai változásokat von maga után. A foszforhiányos talajokban a kevés foszfor is megkötődik már a felső talajrétegben (pl. vas- és alumínium oxidok, agyagrészecskék kötik meg). Ennek megfelelően az ilyen talajban fejlődő főgyökér növekedése csökken, az oldalgyökerek száma és elágazása ugyanakkor növekszik, akárcsak a gyökérszőrök száma. Az oldalgyökereknek a hajtással bezárt szöge is csökken (egyesnövényekben), azaz az oldalgyökerek elsősorban oldalirányba és nem lefelé növekednek. A kötött foszfor mobilizálását a gyökerek szerves savak kiválasztásával segítik elő, ugyanakkor megnövelik a sejtmembránokban a foszfát-transzporterek számát.

A nitrogénhiány esetében a gyökérzet struktúrája eltérő változást mutat. A nitrát könnyen kimosódik a talaj felsőbb rétegeiből, így ezek között a körülmények között a növények jellegzetesen mélyebbre hatoló és kevésbé elágazó főgyökeret fejlesztenek.

A gyökérzet architektúrája lokálisan (helyileg) és szisztemikusan (teljes növény szintjén) is szabályozódik. Az egyes gyökerek környezetük tápanyag eloszlását érzékelve megváltoztathatják növekedésüket, de jelentős tápanyaghiány esetén a teljes szervezet összehangolt válaszára van szükség, ami a gyökér és hajtás közötti kölcsönös jelcserén alapul (lásd fentebb a hajtáselágazás szabályozását, mint példát).

4.3.4.3. A gravitropikus beállítási szög

A fejezetben tárgyaltuk, hogy a hajtás és a gyökér ellentétes, negatív, illetve pozitív gravitropikus választ ad, azaz a hajtás felfelé, a gyökér lefelé növekszik. Ha azonban megnézünk egy gyökérzetet vagy egy hajtásrendszert, akkor azt látjuk, hogy nem minden hajtás/gyökér fejlődik függőlegesen. Egyes fajokra jellemző lehetnek akár lefelé növekvő („lógó”) ágak is (pl. szomorú fűz), és az oldalgyökök sem függőlegesen lefelé növekednek. A szerveknek a gravitációs tengellyel bezárt szöge a gravitropikus beállítási szög („gravitropic setpoint angle”) (38). A főgyökér esetében ennek értéke megállapodás alapján 0° , a hajtás esetében 180° . Az oldalgyököké és oldalhajtásoké azonban ettől eltérő és fajonként meghatározott. Ha ezeket a szerveket a genetikailag meghatározott gravitropikus beállítási szögtől eltérítjük, akkor aktiválódik a gravitropikus válasz és a szerv ugyanebbe a szögbe áll be. Ez azt jelenti, hogy akár egy oldalgyökér is mutathat negatív gravitropikus választ (ha a beállítási szögtől lefelé térítjük el, akkor felfelé növekedve áll vissza az eredeti szögbe).

A gravitropikus beállítási szög mögött álló molekuláris/fiziológiai folyamatokat még nem sikerült feltárni.

Összefoglalás

1. A növényi merisztémák az állati őssejtekhez hasonló, magas fejlődési potenciállal rendelkező, sejteket tartalmazó speciális szervképző régiók.
2. A hajtás moduláris felépítésű, egysége a fitomer. A fitomereket a hajtás merisztéma hozza létre. A hajtás merisztéma általában indeterminált (folytonosan működik). A hajtás merisztéma identitásáért és működésének fenntartásáért a WUSCHEL (WUS) homeotikus transzkripció faktor felelős, amely a sejtek citokinin érzékenységet növeli. Az állandó merisztéma méret és a kiegyensúlyozott növekedés feltétel a WUS gén kifejeződésének lokális korlátozása és közel állandó szinten tartása. Ezt egy negatív visszacsatolási kör biztosítja, amelyben a CLAVATA fehérjék vesznek részt.
3. A merisztéma és a fejlődő levélprimórdiumok közötti határt a SHOOTMERISTEMLESS (STM) és a CUP-SHAPED COTYLEDON (CUC1, CUC2) transzkripció faktorok jelölik ki a merisztéma funkcióhoz szükséges citokinin és a levélprimórdium differenciációhoz szükséges gibberellin hormonok felhalmozódásának térbeli elválasztásával.
4. A levelek (illetve virágok, termések) elrendeződése a száron, a levélállás vagy idegen szóval fillotaxis, jellegzetes rendszertani bélyeg. A levélállás elsődleges meghatározója az auxin: a levélkezdemények lokális auxin maximumoknál fejlődnek. A fiatal levelek hosszirányú és a levéllemez széli növekedését különböző merisztematikus régiók (apikális, interkaláris, marginális) teszik lehetővé.
5. A mérsékelt égövi növények gyakran bifaciális levél struktúrával rendelkeznek: a felső adaxiális felszín alatt megnyúlt, hosszirányban szorosan egymás mellé rendeződött sejtekből álló oszlopos parenchima, míg a fonáki abaxiális felszín alatt izodiametrikus sejtek által alkotott szivacsos parenchima található. Az adaxiális szöveti szerveződés kialakításáért a hajtás merisztéma felelős. Az adaxiális és abaxiális levélpolaritás fenntartásában egymással antagonisztikus kapcsolatban álló transzkripció faktorok vesznek részt. A levél polaritása szorosan összefügg a levéllemez kialakulásával. Az auxin szintézisben szerepet játszó YUCCA gének expressziója az adaxiális-abaxiális régiók találkozásánál indukálódik, ami szükséges a levéllemez növekedéséhez.

6. A levél epidermisz alapsejtek kirakósjáték-szerű alakja a sejtek egyenlőtlen megnyúlásának köszönhető. A folyamatot az auxin szabályozza a sejtvázas szerveződésén keresztül. A közvetítő molekulák a kis-molekulasúlyú GTP-kötő fehérjék, a ROP GTPázok, melyek két antagonisztikus folyamatot (aktin polimerizáció – kitüremkedés; mikrotubulus kötegek – bemélyedés) indítanak el a szomszédos zónákban. A légcserenyílások (sztómák) zárósejtjeinek differenciálódása szintén a sejtek polarizálódásán és azt követő aszimmetrikus osztódásán alapuló folyamat. Az egyes sejtípusok közötti átmeneteket egy transzkripciósfaktor kaszkád regulálja, melynek tagjai sorban aktiválják egymás kifejeződését. A légcserenyílások differenciálódását és denzitását az epidermisz merisztematikus sejtjei, illetve mezofill által kiválasztott peptidok és az azokat érzékelő receptor kinázok szabályozzák. A trichómák (levélszőrök) egy vagy több sejtből álló epidermális nyúlványok, melyek változatos szerkezetűek és funkciójuk lehetnek. Arabidopsis esetében a trichómák szabályos távolságokban helyezkednek el egymástól, köztük olyan protoderma sejtek vannak, amelyekből nem tud trichóma fejlődni - valószínűleg maguk a trichóma iniciálisok gátolják ezekben a közbeeső sejtekben újabb trichóma keletkezését. A jázmonsav tehát a trichóma fejlődés pozitív regulátora.
7. A levél erezte nem a hajtás már meglevő szállítószövetéből kiindulva hálózta be a fejlődő levelet, hanem a levélkezdeményben fejlődő főér csatlakozik a hajtás szállítószövetéhez. A levélerek kialakulását az auxin kanalizációs elmélete alapján tudjuk magyarázni. A magas auxintartalmú sejtek pre-prokambium sejtekké differenciálódnak, melyek az auxin áramlás irányával párhuzamosan osztódva hozzák létre a prokambiumot. A már differenciálódott szállító szövet auxin gyűjtőként irányítja maga felé az auxin áramlást kialakítva a levél erek hierarchikus hálózatát.
8. Az elsődleges gyökér csúcsi része hosszanti irányban 4 különböző szövettani, fejlődési szakaszra/zónára osztható: gyökérsüveg (kaliptra), osztódási/merisztematikus zóna, megnyúlási vagy elongációs zóna, érési/maturációs zóna. A növényben az auxin a hajtás felől a gyökércsúcs felé áramlik és a gyökér merisztémában magas koncentrációt ér el. Az auxin gradienssel összhangban a PLETHORA 1 és 2 (PLT1,2) transzkripciósfaktorok határozzák meg a gyökér és fejlődési zónáinak identitását.
9. A gyökér merisztéma az embriógenézis során a hipofízis sejt lencse alakú utódsejtjéből kiindulva fejlődik. a nyugvó centrum (quiescent center), melynek sejtjei ritkán osztódnak. A nyugvó sejteket szöveti iniciális sejtek (őssejtek) veszik körül: sztéle iniciálisok (pleróma), kortex-endodermisz iniciálisok (peribléma), epidermisz/oldalsó gyökérsüveg iniciálisok (dermokaliptrogén), kolumella iniciálisok (kaliptrogén). A gyökér sejtjeinek a differenciálódása nem attól függ, hogy a merisztéma melyik iniciálisából származnak, hanem a pozíciójuktól. A gyökér merisztéma működésének fenntartásért felelős transzkripciósfaktor a hajtás merisztéma WUS transzkripciósfaktorával rokon WOX5, amelynek génje a nyugvó központban fejeződik ki, de hatását a környező sejtekben fejti ki, megakadályozva azok differenciálódását.
10. A nyitvatermőkben és a legtöbb kétszikűben az oldalgyökerek az edénynyalábokat körülvevő periciklusban indulnak fejlődésnek. A fejlődő oldalgyökér csúcsa felé auxin áramlás indul meg, amely hasonló mintázatot vesz fel, mint ami a főgyökér csúcsára jellemző. Az oldalgyökerek növekedése indeterminált és el is ágazhatnak. Az oldalgyökerek iniciációja is auxin maximumoknál történik. Arabidopsis oldalgyökerek viszonylag szabályos távolságokra, mintegy hatórás periódusokban jönnek létre. A periodikus oldalgyökér képződés mellett jellemző az oldalgyökerek megjelenése a gyökér görbületeinél, a görbület külső felszínén.
11. A gyökérszőrök fontos szerepet játszanak a növények víz és tápanyag felvételében, valamint a növénynek a talajhoz való mechanikai rögzítésében. Bizonyos növények esetében a gyökér

egyes epidermisz sejtjei képesek gyökérszőr létrehozására (trichoblasztok), mások nem (atrachoblasztok). A gyökérszőrök a trichoblasztok alsó részének kitüremkedései, melyek a csúcsuknál növekednek. Lokális sejtfal savanyodás és sejtfallazulás jelzi a folyamat a kezdetét. ROP G-fehérjék szabályozzák a növekvő csúcsnál a Ca^{2+} gradiens kialakulását és a sejtváz polarizációját. A gyökérszőrök fejlődését az auxin, etilén és jázmonsav pozitívan, a brasszinoszteroid negatívan szabályozza.

12. Az apikális dominancia jelenség lényege, hogy a csúcsi (apikális) hajtás merisztéma működése megakadályozza az alatta fejlődő laterális (axilláris) rügyek működését (kihajtását). Ha a csúcsrügyet eltávolítjuk, a nyugvó rügyek oldalhajtásokká fejlődnek. Az apikális dominanciát a hajtáscsúcsból a hajtás alapja felé transzportálódó auxin tartja fenn. Az auxinon kívül a citokinin és a strigolakton hormon is befolyásolja a hajtások elágazódását. A citokinin az elágazódást serkenti, a strigolakton gátolja. A tápanyagok hiányát a talajban a gyökér érzékeli, aminek hatására növeli a strigolakton és csökkenti a citokinin szintézis mértékét és így a hajtás elágazását. Az árnyék-indukált elágazás gátlásában az auxin és a strigolakton jelátvitelnek van szerepe.
13. A gyökérzet háromdimenziós morfológiáját a gyökértípusok arányának, az egyes gyökerek növekedési sebességének és növekedési irányának, az elágazások gyakoriságának szabályozásával tudják a növények megváltoztatni. A gyökérzet struktúráját is jelentősen befolyásolja a talaj tápanyag tartalma, elsősorban a foszfor és a nitrogén mennyisége és hozzáférhetősége. A foszforhiány felszínközeli erősen elágazó, a nitrogénhiány mélyre hatoló kevésbé elágazó gyökérzetet eredményez.
14. Ha az oldalszerveket a genetikailag meghatározott gravitropikus beállítási szögtől eltérítjük, akkor aktiválódik a gravitropikus válasz és a szerv ugyanebbe a szögbe áll be.

Ellenőrző kérdések

1. Mit jelent az, hogy a hajtás moduláris felépítésű?
2. Mi a hajtás merisztéma funkciója?
3. Mi a közös a merisztematikus szövetekben és szabályozásukban?
4. Hogyan fejlődik egy levél?
5. Mit jelent és melyik hormon szabályozza a levélállást?
6. Hogyan alakul ki a levél erezte?
7. Milyen speciális sejtek differenciálódnak a levél bőrszövetében?
8. Mit nevezünk másodlagos növekedésnek?
9. Van-e a trópusi fának évgyűrűje?
10. Mik a gyökér fejlődési zónái?
11. Miben különbözik a gyökér merisztéma felépítése a hajtás merisztémáétól?
12. Hol és mikor képződnek Arabidopsisban az oldalgyökerek?
13. Milyen lehet a gyökérszőrök elrendeződése?
14. Mi az az apikális dominancia és mely hormonok szabályozzák?
15. Mi határozza meg a gyökérzet struktúráját?
16. Mi az a gravitropikus beállítási szög?

Megvitatandó kérdések

1. A vegetatív fejlődés rugalmassága: mamutfenyő és bonsai.
2. A merisztémák szerepe a növények környezethez való alkalmazkodásában.

3. A másodlagos szárvastagodás jelentősége az erdészet/faipar/megújuló energia előállítás szempontjából.
4. Az apikális dominancia kihasználása a kertészetben.

Javasolt irodalom

1. Jones R, Ougham H, Thomas H, Waaland S (Eds) The molecular life of plants. Wiley-Blackwell, American Society of Plant Biologists, 2013.
2. Taiz L, Zeiger E, Møller IM, Murphy A (Eds) Plant physiology and development, 6th edition, Sinauer Associates, Inc., 2015
3. Buchanan BB, Gruissem W, Jones RL (Eds) Biochemistry and molecular biology of plants. Second Edition. American Society of Plant Biologists, 2015.

Felhasznált irodalom

1. Mayer KFX, Schoof H, Haecker A, Lenhard M, Jürgens G, Laux T. Role of WUSCHEL in Regulating Stem Cell Fate in the Arabidopsis Shoot Meristem. *Cell*. 1998. december 11.;95(6):805–15.
2. Lenhard M, Jürgens G, Laux T. The WUSCHEL and SHOOTMERISTEMLESS genes fulfil complementary roles in Arabidopsis shoot meristem regulation. *Development*. 2002. július 1.;129(13):3195–206.
3. Vroemen CW, Mordhorst AP, Albrecht C, Kwaaitaal MACJ, Vries SC de. The CUP-SHAPED COTYLEDON3 Gene Is Required for Boundary and Shoot Meristem Formation in Arabidopsis. *Plant Cell*. 2003. július 1.;15(7):1563–77.
4. Leibfried A, To JPC, Busch W, Stehling S, Kehle A, Demar M, és mtsai. WUSCHEL controls meristem function by direct regulation of cytokinin-inducible response regulators. *Nature*. 2005. december;438(7071):1172–5.
5. Clark SE, Williams RW, Meyerowitz EM. The CLAVATA1 Gene Encodes a Putative Receptor Kinase That Controls Shoot and Floral Meristem Size in Arabidopsis. *Cell*. 1997. május 16.;89(4):575–85.
6. Clark SE, Running MP, Meyerowitz EM. CLAVATA3 is a specific regulator of shoot and floral meristem development affecting the same processes as CLAVATA1. *Development*. 1995. július 1.;121(7):2057–67.
7. Full Text PDF (Internet). (idézi 2019. augusztus 6.). Elérhető: <https://nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1469-8137.2004.01292.x>
8. Reinhardt D, Pesce E-R, Stieger P, Mandel T, Baltensperger K, Bennett M, és mtsai. Regulation of phyllotaxis by polar auxin transport. *Nature*. 2003. november;426(6964):255–60.
9. Tsukaya H. Leaf Development. *Arab Book Am Soc Plant Biol* (Internet). 2013. június 7. (idézi 2019. augusztus 6.);11. Elérhető: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3711357/>
10. Fleming AJ. The control of leaf development. *New Phytol*. 2005;166(1):9–20.
11. Fu Y, Gu Y, Zheng Z, Wasteneys G, Yang Z. Arabidopsis Interdigitating Cell Growth Requires Two Antagonistic Pathways with Opposing Action on Cell Morphogenesis. *Cell*. 2005. március 11.;120(5):687–700.
12. Nadeau JA, Sack FD. Stomatal Development in Arabidopsis. *Arab Book Am Soc Plant Biol* (Internet). 2002. szeptember 30. (idézi 2019. augusztus 6.);1. Elérhető: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3243354/>
13. MacAlister CA, Bergmann DC. Sequence and function of basic helix–loop–helix proteins required for stomatal development in Arabidopsis are deeply conserved in land plants. *Evol Dev*. 2011;13(2):182–92.
14. Sugano SS, Shimada T, Imai Y, Okawa K, Tamai A, Mori M, és mtsai. Stomagen positively regulates stomatal density in *Arabidopsis*. *Nature*. 2010. január;463(7278):241–4.
15. Larkin JC, Young N, Prigge M, Marks MD. The control of trichome spacing and number in Arabidopsis. *Development*. 1996. március 1.;122(3):997–1005.

16. Scarpella E, Marcos D, Friml J, Berleth T. Control of leaf vascular patterning by polar auxin transport. *Genes Dev.* 2006. április 15.;20(8):1015–27.
17. Sawchuk MG, Edgar A, Scarpella E. Patterning of leaf vein networks by convergent auxin transport pathways. *PLoS Genet.* 2013;9:1003294.
18. Dolan L, Janmaat K, Willemsen V, Linstead P, Poethig S, Roberts K, és mtsai. Cellular organisation of the *Arabidopsis thaliana* root. *Development.* 1993. szeptember 1.;119(1):71–84.
19. Berg C van den, Willemsen V, Hage W, Weisbeek P, Scheres B. Cell fate in the *Arabidopsis* root meristem determined by directional signalling. *Nature.* 1995. november;378(6552):62–5.
20. Berg C van den, Willemsen V, Hendriks G, Weisbeek P, Scheres B. Short-range control of cell differentiation in the *Arabidopsis* root meristem. *Nature.* 1997. november;390(6657):287–9.
21. Mähönen AP, Tusscher K ten, Siligato R, Smetana O, Díaz-Triviño S, Salojärvi J, és mtsai. PLETHORA gradient formation mechanism separates auxin responses. *Nature.* 2014. november;515(7525):125–9.
22. Stahl Y, Wink RH, Ingram GC, Simon R. A Signaling Module Controlling the Stem Cell Niche in *Arabidopsis* Root Meristems. *Curr Biol.* 2009. június 9.;19(11):909–14.
23. Dubrovsky JG, Doerner PW, Colón-Carmona A, Rost TL. Pericycle Cell Proliferation and Lateral Root Initiation in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 2000. december 1.;124(4):1648–57.
24. Smet ID, Tetsumura T, Rybel BD, Frey NF dit, Laplace L, Casimiro I, és mtsai. Auxin-dependent regulation of lateral root positioning in the basal meristem of *Arabidopsis*. *Development.* 2007. február 15.;134(4):681–90.
25. Bhalerao RP, Eklöf J, Ljung K, Marchant A, Bennett M, Sandberg G. Shoot-derived auxin is essential for early lateral root emergence in *Arabidopsis* seedlings. *Plant J.* 2002;29(3):325–32.
26. Ditegou FA, Teale WD, Kochersperger P, Flittner KA, Kneuper I, Graaff E van der, és mtsai. Mechanical induction of lateral root initiation in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci.* 2008. december 2.;105(48):18818–23.
27. Schiefelbein JW, Somerville C. Genetic Control of Root Hair Development in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell.* 1990. március 1.;2(3):235–43.
28. Jones MA, Shen J-J, Fu Y, Li H, Yang Z, Grierson CS. The *Arabidopsis* Rop2 GTPase Is a Positive Regulator of Both Root Hair Initiation and Tip Growth. *Plant Cell.* 2002. április 1.;14(4):763–76.
29. Schuetz M, Smith R, Ellis B. Xylem tissue specification, patterning, and differentiation mechanisms. *J Exp Bot.* 2013. január 1.;64(1):11–31.
30. Fukuda H. Signals that control plant vascular cell differentiation. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2004. május;5(5):379–91.
31. Sugiyama M, Fukuda H. Zinnia mesophyll culture system to study xylogenesis. In: Lindsey K, szerkesztő. *Plant Tissue Culture Manual: Supplement 7* (Internet). Dordrecht: Springer Netherlands; 1997 (idézi 2019. augusztus 6.). o. 1017–31. Elérhető: https://doi.org/10.1007/978-94-009-0103-2_55
32. Groover A, Robischon M. Developmental mechanisms regulating secondary growth in woody plants. *Curr Opin Plant Biol.* 2006. február 1.;9(1):55–8.
33. The antagonism of auxin and kinetin in apical dominance. *Physiol Plant.* 11:62–74.
34. Ongaro V, Leyser O. Hormonal control of shoot branching. *J Exp Bot.* 2008. január 1.;59(1):67–74.
35. Finlayson SA, Krishnareddy SR, Kebrom TH, Casal JJ. Phytochrome Regulation of Branching in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 2010. április 1.;152(4):1914–27.
36. Mason MG, Ross JJ, Babst BA, Wienclaw BN, Beveridge CA. Sugar demand, not auxin, is the initial regulator of apical dominance. *Proc Natl Acad Sci.* 2014. április 22.;111(16):6092–7.
37. Smith S, De Smet I. Root system architecture: insights from *Arabidopsis* and cereal crops. *Philos Trans R Soc B Biol Sci.* 2012. június 5.;367(1595):1441–52.
38. Digby J, Firn RD. The gravitropic set-point angle (GSA): the identification of an important developmentally controlled variable governing plant architecture*. *Plant Cell Environ.* 1995;18(12):1434–40.

4.4. Fejezet Virágzásbiológia

Írta: Prof. Dr. Fehér Attila

Tanulási célkitűzések:

Tudás:

- tudja ismertetni a vegetatív-reproduktív egyedfejlődési átmenet lényegét
- össze tudja hasonlítani a hajtás, virágzati és virágmerisztémákat
- érti a virágzati struktúra kialakulásának alapvető mechanizmusát
- meg tudja fogalmazni az egyedfejlődési és környezeti jelek integrációjának fontosságát a virágzási idő meghatározásában
- össze tudja hasonlítani a nappal hosszától, illetve a vernalizációtól függő virágzásszabályozást
- ismeri a virágmerisztéma sajátosságait és a virág szerveit
- tudja ismertetni a virágfejlődés kibővített ABC modelljét

Képesség:

- fel tudja mérni, hogy adott környezeti tényezők kedvezőek-e adott növény virágzásának előmozdítására, vagy sem
- meg tud magyarázni ismeretlen virág/virágzat szerkezeteket

Attitűd:

- nyitott a virágzásbiológiai ismeretei elmélyítésére

Autonómia/felelősség:

- önállóan nyilvánít véleményt a virágok/virágzatok/virágzási idők rendkívüli változatosságával kapcsolatban
- tisztában van vele, hogy a virágok eltávolítása a növény szaporodását megakadályozza

4.4.1. A vegetatív-reproduktív egyedfejlődési átmenet a hajtás merisztémában

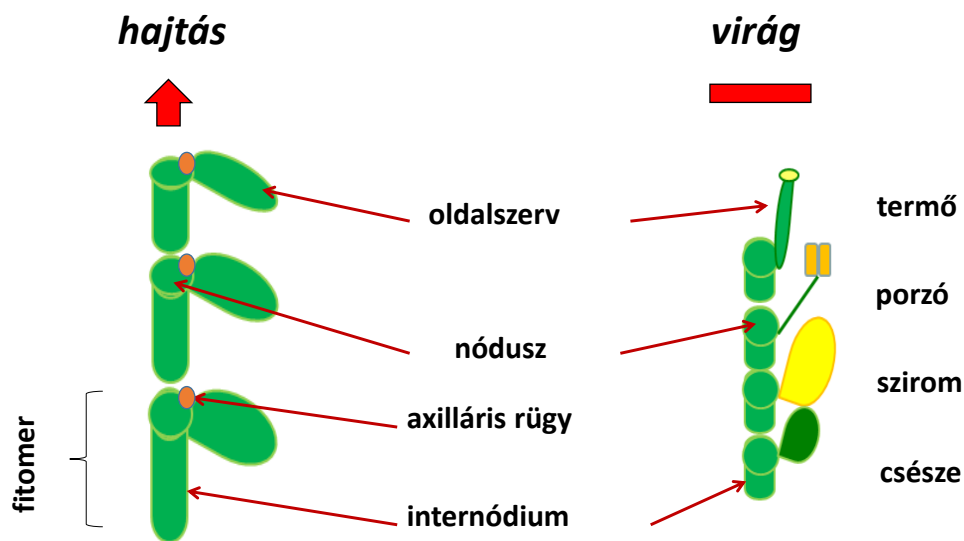
A virágzás folyamatának elindulása jelzi, hogy a magvas növények vegetatív egyedfejlődési szakaszát felváltja a reproduktív szakasz, amelynek során létrejönnek a hím és a női gametofitonok és azokban az ivarsejtek (lásd 4.1.). A vegetatív-reproduktív átmenet során a csúcs és/vagy axilláris hajtásmerisztéma átprogramozása megy végbe, melynek eredményeként virágzati, illetve virág merisztémává alakul. A virágzás eredményeként jönnek létre a virágok, amelyek specializált hajtások, specializált szervekkel. A zárvatermő növények virágstruktúrája rendkívül változatos. A virág szervei az evolúció során messzemenően alkalmazkodtak a beporzás módjához, ami nagyban hozzájárult a zárvatermők evolúciós sikeréhez és fajgazdagságához.

4.4.1.1. A hajtás-, a virágzati és a virágmerisztéma

A vegetatív növekedés során a hajtásmerisztéma által létrehozott egységek, a fitomerek, egy internódiumból, egy nódusból, egy levélből és egy axilláris rügyből állnak (lásd 4.3.1.). A hajtásmerisztéma folytonosan növekedve hozza létre a fitomer egységeket, melyekből a vegetatív hajtás felépül, azaz a hajtás növekedése indeterminált (de: lásd 4.5.4). A virágzati merisztéma a fitomer egységek helyett virágmerisztémákat és esetenként virágzati levelet hoz létre, de szintén indeterminált a fejlődése. A virágmerisztéma viszont determinált növekedésű: miután létrehozta a virág szerveit növekedése leáll. A virágmerisztéma további jellegzetessége, hogy minden nóduszon azonos, de nóduszonként más-más szervet fejleszt, ezek hónaljában nincsenek axilláris rügyek, nem ágazik el és a szervek elrendeződése mindig örvös (4.4.1. ábra). A virág nem más, mint determinált növekedésű módosult hajtás.

A reproduktív-vegetatív átmenet egyértelműen nyomon követhető az *Arabidopsis* egyedfejlődése során. A vegetatív fejlődési fázisban a növény rövid szártagokkal rendelkező el nem ágazó leveles hajtást, rozettát, hoz létre. A reproduktív átmenetet jelzi a virágzati tengely (hajtás) megjelenése, amely megnyúlt szártagokkal kiemelkedik a rozettából. A virágzati tengelyen virágok és virágzati levelek (murvalevelek) fejlődhetnek, mely utóbbiak hónaljrygeiből virágok, vagy másodlagos virágzati tengelyek fejlődhetnek, azaz a virágzati hajtás elágazhat.

A hajtás-, virágzati és virágmerisztémák funkciója tehát lényegesen eltér, ami feltételezi, hogy a hajtásmerisztémában jelentős molekuláris változásoknak kell lezajlani a vegetatív-reproduktív átmenet során. A folyamatban szerepet játszó géneket *Arabidopsis* mutánsok vizsgálatával azonosították.



4.4.1. ábra A vegetatív hajtás és a virág, mint módosult hajtás, összehasonlítása. Az indeterminált (piros nyíl) és determinált (piros sáv) fejlődés mellett lényegesek a különbségek a fitomerek jellegében. A virág minden nóduszon azonos, de nóduszonként más-más szervet fejleszt, ezek hónaljában nincsenek axilláris rügyek. (Fehér Attila ábrája)

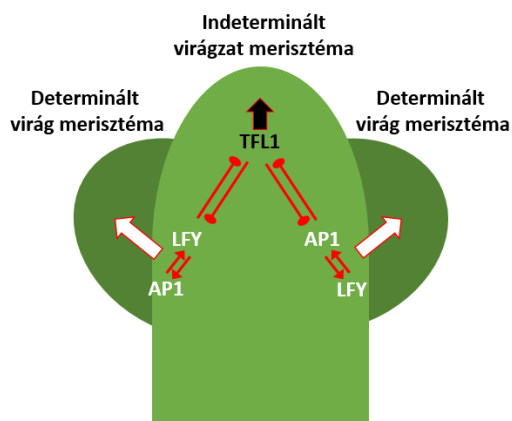
4.4.1.2. A virágmerisztéma azonosságai gének

A virágmerisztéma identitását meghatározó gének mutációjától azt várták, hogy a virágzás indukció ellenére elmarad a virágfejlődés és a virágok helyett virágzat és/vagy vegetatív hajtás-szerű struktúrák fejlődnek. A két legfontosabb ezen a módon azonosított virágmerisztéma identitási transzkripciós faktor LEAFY (LFY) és APETALA1 (AP1) (1,2). A *leafy* mutáció esetében, ahogy neve is utal rá, elmarad a virágfejlődés, a virágzati tengely alsóbb régióiban a virágok helyett vegetatív hajtások, a felsőbb régiókban a virágsszervek helyett leveleket tartalmazó álvirágok fejlődnek. Az *Arabidopsis apetala1* mutációja a virágok tengelyében másodlagos, harmadlagos, vagy akár negyedleges virágok megjelenését eredményezi, vagyis a virág és virágzati hajtás tulajdonságai keverednek. *Arabidopsis*-ban van egy másik, az AP1-hez nagyon hasonló transzkripciós faktor CAULIFLOWER (CAL). A *cauliflower* mutáns virág fenotípusa vad típusú, de a *cal* mutáció rendkívül felerősíti az *ap1* mutáció hatását karfiol (*cauliflower*)-szerű virágokat eredményezve. A karfiol (*Brassica cretica convar. botrytis* DUCH) ehhez elhússodott virágzata is egy ilyen mutáció következménye.

Az *ap1* és a *lfy* mutáció kombinációja egy növényben (*ap1 lfy* kettős mutáció) a virágok fejlődését teljesen gátolja, a virágok helyett csak vegetatív hajtások fejlődnek. Ez arra utal, hogy mind a két faktor funkciójára szükség van a virágmerisztéma kialakításához, és ezek a funkciók nem fednek át teljesen. Mindkét gén kifejeződik a virágkezdemény egészében és kölcsönösen erősítik egymás kifejeződését, ami biztosítja a virágmerisztéma identitásának fenntartását (3). AP1 és LFY szükséges a virág szerveinek fejlődését meghatározó gének megfelelő kifejeződéséhez (lásd később).

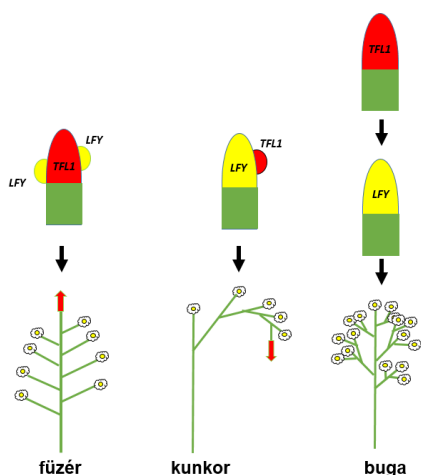
4.4.1.3. A virágzati merisztéma és a virágzati struktúra szabályozása

Azoknak a növényeknek az esetében, ahol egy terminális virág fejlődik, a hajtásmerisztéma egésze átalakul virágmerisztémává és determinálódik a növekedés. Ahol viszont virágzat fejlődik, ott a hajtásmerisztémából fejlődő virágzati merisztéma megőrzi az indeterminált növekedésre való képességet, miközben determinált virágkezdeményeket (virágmerisztémákat) hoz létre. Az *Arabidopsis terminal flower1 (tfl1)* mutációja az indeterminált virágzati merisztémát is determinált virágmerisztémává alakítja, vagyis a virágzati tengelyek csúcsán terminális virágok fejlődnek (4). Ugyanilyen fenotípust eredményez AP1 és/vagy LFY túltermelése az apikális merisztémában. Ebből arra lehetett következtetni, hogy TERMINAL FLOWER1 (TFL1) antagonisztikus hatású az AP1 és LFY transzkripciós faktorokkal (5). Ez be is igazolódott. A TFL1 fehérje a LFY és AP1 gének kifejeződését a virágzati merisztéma periferiájára, a képződő virágmerisztéma helyére korlátozza, ahol LFY és AP1 gátolja a TFL1 gén kifejeződését (4.4.2. ábra). Így a virágzati és virág merisztémák élesen elhatárolódnak: a virágzati merisztéma közepén, LFY/AP1 hiányában, fennmarad a hajtásmerisztéma jelleg (indeterminált növekedés), míg a virágzat merisztéma periferiáján a virágmerisztéma identitási faktorok, LFY és AP1, közreműködésével determinált virágmerisztéma fejlődik.



4.4.2. ábra Az indeterminált virágzati (középső régió) és a determinált virág (oldalsó régió) elkülönülését antagonisztikus transzkripciós faktorok (TERMINAL FLOWER1 - TFL1; LEAFY - LFY és APETALA1 - AP1) biztosítják. A LFY és AP1 virágmerisztéma identitási faktorok egymást pozitívan szabályozzák. (Fehér Attila ábrája)

TFL1 és a virágmerisztéma identitás gének, LFY és AP1, expressziója tehát kölcsönösen kizárja egymást. Attól függően, hogy ezeknek a géneknek a kifejeződése térben és időben hogyan viszonyul egymáshoz, alakul a virágzat szerkezete, vagyis attól, hogy ezek a gének a virágzat merisztéma melyik részén, mikor és milyen kiterjedten fejeződnek ki (6) (4.4.3. ábra). Az *Arabidopsis* esetében megfigyelt elrendeződés, vagyis TFL1 expresszió és indeterminált virágzati tengely növekedés a merisztéma középpontjában és LFY/AP1 expresszió, valamint determinált virágfejlődés a periferián, füzér típusú virágzatot eredményez, míg ennek az ellentéte (LFY/AP1 a középpontban, TFL1 a periferián) kunkor virágzatot. Ha kezdetben minden csúcsmerisztéma csak TFL1 kifejeződést és vegetatív növekedést mutat, amit egyszerre vált fel LFY/AP1 kifejeződése és a csúcsmerisztémák virágmerisztémává alakulása, akkor bugavirágzat fejlődik. Hasonlóképpen levezethető LFY/AP1 és TFL1 kifejeződése és antagonizmusa alapján a többi virágzati típus is.



4.4.3. ábra A virágzati struktúrát az indeterminált növekedésért felelős TFL1 és a determinált virágfejlődést szabályozó LFY és AP1 antagonizmusa szabja meg attól függően, hogy milyen ezeknek a faktoroknak az egymáshoz viszonyított térbeli és/vagy időbeli kifejeződése. Piros – TFL1 kifejeződés és indeterminált növekedés; sárga – LFY/AP1 kifejeződés és determinált virág fejlődés; zöld vegetatív szövetek. (Fehér Attila ábrája)

4.4.2. A virágzási idő szabályozása

A virágzás pontos időzítése nagy jelentőségű a növény sikeres szaporodása és számos gazdasági növényünk esetében az optimális termésminőség/mennyiség szempontjából is. A hatékony pollináció az idegen beporzó növények esetében az egyes egyedek virágzásának szinkronját követeli meg. Ennek egybe kell esni a pollinátorok (beporzást végző élőlények) aktivitásával, a beporzást, magfejlődést, a mag terjedését, csírázását elősegítő környezeti körülményekkel stb. Ezzel összhangban, a virágzás idejét számos belső és külső tényező befolyásolja:

Környezeti:

- Fotoperiódus (hosszú nappalos, rövid nappalos, nappalhossz semleges növények)
- Fényminőség (intenzitás, hullámhossz)
- Hideg periódus (vernalizáció, egyényári, áttelelő-egyéves, kétnyári)
- Hőmérséklet
- Víz-, tápanyag ellátottság
- Egyéb környezeti tényezők

Endogén:

- Életkor
- Gibberellin

4.4.2.1. A virágzás integrátor gének

A virágzás idejének szabályozását úgy próbálták meg feltárni, hogy olyan Arabidopsis mutánsokat kerestek, melyek hiánya késlelteti, túltermelése elindítja a vegetatív-reproduktív átmenetet (virágzást) egyéb hatásoktól függetlenül. Ilyen hatásúnak bizonyultak a *SUPPRESSOR OF CONSTANS 1 (SOC1)* és a *FLOWERING LOCUS T (FT)* gének (7). A *SOC1* gén egy ún. MADS-boksz transzkripciós faktort kódol. Az FT azonban nem transzkripciós faktor, hanem egy kis molekulású fehérje. Azonban azonosítottak egy olyan további mutációt is, ami elnyomja az FT túltermelésének a hatását. Ez a mutáció a *FLOWERING LOCUS D (FD)* transzkripciós faktor génjében történt, ami alapján megállapítható volt, hogy az FT fehérje az FD transzkripciós faktort aktiválva hat a virágfejlődésre (FT az FD koaktivátora). Mivel a virág fejlődéséhez a virágmerisztéma identitási gének, LFY és AP1/CAL, kifejeződése szükséges, mindazon faktorok, melyek befolyásolják a virágzás idejét, ezeknek a géneknek a kifejeződésére kell, hogy hassanak. Nem volt váratlan tehát, amikor kiderült, hogy az FT/FD komplex az AP1 gén, SOC1 pedig a LFY gén pozitív regulátora. Az FT, FD és SOC1 géneket virágzás integrátor géneknek nevezzük, mert mint látni fogjuk, a különböző egyedfejlődési és környezeti tényezők elsősorban ezeknek az integrátor géneknek a kifejeződését szabályozva hatnak a virágzás idejére.

4.4.2.2. A virágzás nappalhossztól függő szabályozása

4.4.2.2.1. A nappalhossz hatása a virágzásra

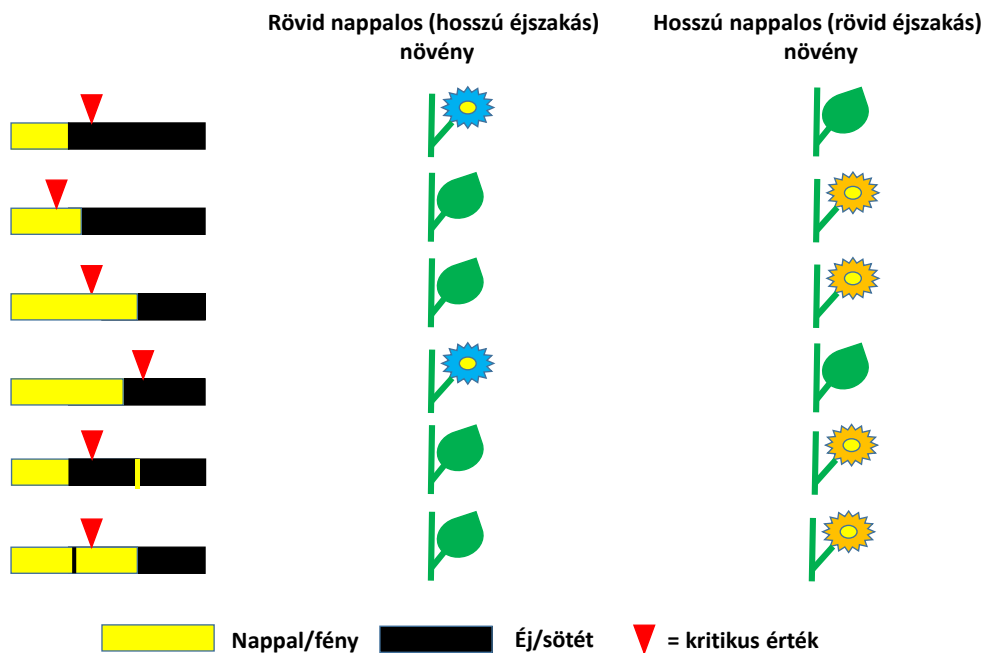
Az egyenlítőnél a nappalok és éjszakák hossza egyforma egész évben. Ahogy azonban a pólusok felé haladunk a nappalok nyaranta egyre hosszabbak, telente egyre rövidebbek lesznek, azaz a nappalhossz szezonálisan változik a földrajzi magasságtól függően. Az eltérő földrajzi régiókban élő növények alkalmazkodtak a nappalhossz megfelelő váltakozásaihoz (fotoperiodizmus), ahhoz igazítva számos életfolyamatukat pl. növekedési és nyugalmi periódusaikat, a tápanyagok raktározását, és nem utolsósorban a virágzásukat és szaporodásukat.

Azt, hogy a nappalhossz befolyásolja a növények virágzását, az 1920-as években Gartner és Allard amerikai kutatók fedezték fel (8). Egy mutáns dohány változat, a „Maryland Mammoth”, növekedését és virágzását vizsgálták: ez a növény nyáron nem virágzott csak növekedett elérve akár az öt méteres magasságát is. Télen, üvegházban, természetes fényviszonyok mellett viszont virágzott. A kutatók a növényeket nyáron letakarva és így rövid nappalokat imitálva igazolták, hogy a nappalok hossza az, ami kiváltja ennél a változatnál a virágzást. Azt is bizonyították, hogy ez nem a hosszabb nappalok alatt fotoszintetizált több szervesanyagnak köszönhető, hanem közvetlenül a nappal hossza a meghatározó. Ezt a virágzás szabályozást azután számos más faj esetében is igazolták.

Attól függően, hogy a fotoperiodizmustól miként függ a növény virágzása, a növényeket három nagy csoportba sorolhatjuk: hosszú nappalos, rövid nappalos és nappalhossz semleges növények.

A hosszú nappalos növények csak akkor virágoznak, ha a nappal hossza meghalad egy kritikus értéket több napon keresztül, a rövid nappalos növények pedig csak akkor, ha nappal hossza rövidebb egy kritikus értéknél (4.4.4. ábra). A kritikus érték abszolút értéke fajokként rendkívül változatos (nem 12 óra!), így a fajok besorolása egyik vagy másik kategóriába csak úgy lehetséges, ha virágzásukat több nappalhossz melletti is megvizsgáljuk. A későbbiekben látni fogjuk, hogy a növények igazából nem a nappal, hanem az éjszaka hosszát mérik, de tradicionális okokból továbbra is a hosszú nappalos és rövid nappalos kifejezéseket használjuk. A nappalhossz semleges növények virágzása értelemszerűen nem érzékeny a nappalhossz változásaira. Ilyenek például az egyenlítő környékén élő növények, ahol a virágzást belső egyedfejlődési folyamatok szabályozzák, vagy a sivatagi növények, ahol a víz az elsődleges faktor, ami kiváltja a gyors csírázást, növekedést és virágzást.

A hosszú nappalos növények többsége tavasszal vagy nyáron virágzik, mindaddig elhalasztva a virágzását, amíg a nappalhossz meg nem halad egy kritikus értéket. Ezzel szemben a rövid nappalos növények többsége nyár végén vagy ősszel virágzik, amikor a nappalok hossza kellő mértékben lerövidült. Azonban a nappalhossz önmagában nem egyértelmű virágzási szignál, hiszen ugyanaz az érték évente kétszer is előfordul, így a tavasz és az őszi megkülönböztetése ez alapján nem lehetséges. A növények számos „módszert fejlesztettek ki” ennek a kétértelműségnek a kiküszöbölésére. Az egyik további feltétel lehet a növény fejlettsége: az egyik évszakban a növény még fiatal (juvenilis) és nem kompetens a virágzási jelre (lásd később). Egy másik lehetőség a nappalhossz és a hőmérséklet kombinálása: ha hosszabb és jelentősebb hideg periódust követ a hosszú nappalos szakasz, akkor az a tavasz. Például az őszi búza nem reagál a fotoperiodikus hatásra, mindaddig, míg egy megfelelő hideg kezelést nem kap. Ez a jelenség a vernalizáció, amiről a későbbiekben részletesebben is lesz szó. Sok növény a nappalhossz változásának tendenciáját is érzékeli: a hosszú-rövid nappalos növények csak akkor virágoznak, ha hosszabb hosszú nappalos periódust követnek a fokozatosan rövidülő nappalok (ezek késő nyáron vagy ősszel virágoznak); a rövid-hosszú nappalos növények pedig az ellenkező esetben, azaz, ha rövid nappalos periódust követnek a hosszú nappalok (kora tavaszi virágzás).



4.4.4. ábra A fotoperiodizmus (nappal/éjszaka hossz) hatása a virágázásra „rövid nappalos” illetve „hosszú nappalos” növények esetében. Minden esetben a sötét periódus kritikus értékhez viszonyított hossza szabja meg, hogy a növény virágzik-e vagy sem (a „rövid nappalos” növény akkor virágzik, ha a sötét periódus hossza meghaladja a kritikus értéket, a „hosszú nappalos” akkor, ha nem). Az éjszaka fényimpulzussal való megszakítása újra indítja a sötét periódus mérését, a nappal sötéttel való megszakításának nincs hatása. (Fehér Attila ábrája)

4.4.2.2.2 A nappalhossz mérése az éjszaka hosszán alapul

Természetes körülmények között a napi fény- és sötét szakaszok hossza együttesen 24 órát tesz ki. A növények a nappalhosszt akár közvetlenül a nappal (fényszakasz) vagy közvetve, az éjszaka (sötét szakasz) időtartamának mérésével is meghatározhatják. A kísérletek ez utóbbit igazolták, azaz a növények a sötétperiódus hosszát mérik, érzékelik (9) (4.4.4. ábra). Például, rövid nappalos növények esetében a kritikus értéknél hosszabb fényszakasz esetében is kiváltható virágzás, ha azt megfelelően hosszú sötét szakasz követi. Megfordítva: hiába növekszik a rövid nappalos növény rövid fényszakasz mellett, ha az éjszaka is rövid, akkor nem virágzik. Vagyis nem a rövid nappal, hanem a hosszú éjszaka az, ami kiváltja a virágzást. Ezek alapján a „rövid nappalos növények” helyes elnevezése „hosszúéjszakás növények” lenne: ezek a növények akkor virágoznak tehát, ha az éjszaka hossza meghalad egy kritikus értéket. A hosszú nappalos növények esetében hasonló a helyzet: rövid nappalhossz mellett is virágoznak, ha az éjszaka kellően rövid, és hosszú nappalhossz mellett sem virágoznak, ha az éjszaka túl hosszú. Ezeknek a növényeknek a virágzásához, tehát egy kritikus értéknél rövidebb sötét szakasz (éjszaka) szükséges.

Az éjszaka hosszának a mérését támasztják alá azok a kísérletek is, amikor a rövid nappalos növényeket rövid nappal és hosszú éjszaka mellett nevelve megszakítjuk az éjszakát egy rövid fény szakasszal (10) (4.4.4 ábra). Ekkor a virágzás elmarad. Az éjszakai megvilágítás, legyen akár csak néhány percig tartó, megtöri a hosszú sötét szakasz hatását. Ugyanez fordítva nem érvényesül: hosszú nappalos növények esetében a hosszú nappal hatását nem töri meg egy sötét periódus közbeiktatása.

Az, hogy a rövid nappalos növények virágzásának indukciója rövid éjszakai fényimpulzusokkal megszakítható, nagyon megkönnyítette a virágzás nappalhossz függésének vizsgálatát (11). Különböző

hullámhosszú fényimpulzusokat különböző időpontban alkalmazva és a virágzásra gyakorolt hatást vizsgálva a kutatók több fontos megállapítást tettek:

- a hatás függ a megszakító fény hullámhosszától.
- a hatásos hullámhossz egybeesik a fitokrómok elnyelési hullámhosszával
- az éjszaka hatását vörös a fény, illetve a Pfr fitokróm forma törli, a távoli vörös fény (Pr forma) nem
- több egymást követő vörös és távoli vörös fényimpulzus közül mindig az utolsó hatása érvényesül
- az éjszakát megszakító fény hatásossága függ attól, hogy mikor alkalmazzák, leghatásosabb egy 16 órás sötét szakasz közepe táján alkalmazva
- mesterségesen meghosszabbított sötét peridusban is ciklikus a megvilágításra való érzékenység

Ezek a megállapítások a fitokróm fotoreceptoroknak (lásd 2.3.2.) és a belső ún. cirkadián biológiai órának (lásd alább) az éjszaka hosszának mérésében betöltött fontos szerepére utalnak.

4.4.2.2.3. A cirkadián óra

A biológiai folyamatok jelentős része mutat valamiféle többé-kevésbé szabályos ismétlődést, periodicitást, illetve ritmicitást. Egy-egy biokémiai, illetve anyagcsere ciklus ideje nagyon rövid (néhány perc vagy óra), míg az egyedfejlődési ciklusoké (pl. nyugalmi periódus, virágzás) nagyon hosszú (éves) is lehet. Az egy napnál (24 óránál) rövidebb periódusúak az ultradián, a hosszabb periódusúak az infradián ritmusok. Kitüntetett jelentőséggel bírnak a Föld tengelykörüli forgásával közel megegyező periódussal rendelkező ciklusok az ún. cirkadián ritmusok. Az élőlények anyagcseréje, fiziológiája, viselkedése és fejlődése nappal és éjszaka jelentősen eltér. Az élőlények a napszakok váltakozásához oly módon alkalmazkodtak, hogy a nappalra már az éjszaka, az éjszakára már a nappal során felkészülnek. Azaz az életfolyamatoknak ezt az ún. diurnális váltakozását a fény (napfelkelte és napnyugta) nem közvetlenül szabályozza. Ha az élőlényeket elzárjuk a napszakok váltakozásának nyomon követését lehetővé tevő külső ingerektől, pl. folyamatos sötétbe, vagy fénybe helyezzük őket hosszabb időre, számos életfolyamatuk kb. 24 órás ritmicitása akkor is megmarad. Ez arra utal, hogy nem a külső ingerek, hanem egy belső (endogén) időmérő mechanizmus tartja fenn a ritmust. Ezt nevezzük belső, vagy cirkadián, biológiai órának. Ilyen cirkadián órával a növények is rendelkeznek (12). Napi ritmust mutat Arabidopsisban a (szik)levél mozgás, a hipokotil és szár növekedés, a stressz érzékenység, a fotoszintézis stb. Az Arabidopsis génjeinek kb. 10% mutat cirkadián ritmusú kifejeződést.

A cirkadián ritmus alapvető paraméterei:

- a fázis (a ciklus egy adott pontja)
- „zeit geber time” (ZT) vagy időjelző (a ciklus utolsó beállításától eltelt idő, általában a hajnalt vesszük ZT=0 értéknek és az ettől kezdve eltelt idő függvényében ábrázoljuk a fázist)
- a periódus (egy ciklus befejezéséhez szükséges idő)
- amplitúdó (a ciklus csúcspontja és bázisa közötti távolság fele)
- szubjektív nappal/éjszaka: az az időszak, ami a belső óra által jelzett nappal/éjszaka időszakának felel meg állandó körülmények között

Ahhoz, hogy egy biológiai folyamat esetében a belső óra által szabályozott cirkadián ritmicitásról beszélhessünk, három követelménynek kell, hogy a folyamat megfeleljen. Ebből kettőt már fentebb említettünk: 1) közel 24 órás periódus; 2) a ritmicitás fennmaradása állandó külső körülmények mellett

is. A harmadik az ún. hőmérséklet kompenzáció: 3) a periódus hossza széles külső hőmérsékleti tartományban is állandó marad.

Bár a cirkadián biológiai ritmus a külső ingerek hiányában is fennmarad (a ritmus „szabadon futó”-vá válik), ilyen körülmények között a ciklus kifulladás, azaz az amplitúdó folyamatosan csökken. A ciklus fenntartásához, és a belső óra külső körülményekhez való igazításához, szükség van külső jelekre. Ezeket a jeleket a fény és a sötétség közötti átmenet biztosítja, természetes körülmények között a hajnal és az alkonyat. Ezeket a jeleket „időjelzőnek”, idegen szóval „zeit geber”-nek nevezzük. Az élőlények a belső órájukat a hajnalhoz/naplementéhez igazítva állítják be, hogy az pontosabban kövesse a nappal és az éjszaka hosszának változásait.

A növények cirkadián órájának alapvető működési mechanizmusát már jól ismerjük, elsősorban Arabidopsis-val végzett kutatásoknak köszönhetően. Az óra több komponensű molekuláris oszcillátorokon alapul. Az óra működésének elvei hasonlóak az egyes organizmusok esetében: az oszcillációt minden esetben molekuláris visszacsatolási hurkok tartják fenn. Az óra elemei azonban az egyes élőlénycsoportok között lényegesen eltérnek: a növényekben más órafehérjék működnek, mint élesztőben vagy az állatokban.

A cirkadián óra három fő funkcionális egységre osztható:

- bemeneti oldal (input; a környezeti beállításhoz szükséges jeleket (fény, hőmérséklet) továbbítja az óra felé)
- központi oszcillátor (elemei negatív visszacsatolások révén kb. 24 órás ciklusban szabályozzák önmaguk és egymás mennyiségét/működését)
- kimeneti oldal (output; magában foglalja az óra által befolyásolt folyamatokat)

Az Arabidopsis cirkadián óra központi oszcillátora két transzkripció faktorból (CIRCADIAN AND CLOCK ASSOCIATED1 (CCA1) illetve LATE ELONGATED HYPOCOTYL (LHY)) és egy ún. átválaszregulátor („pseudo-response regulator”, PRR) fehérjéből (TIMING OF CAB EXPRESSION 1 (TOC1)) áll. A CCA1 és LHY fehérje szintek reggel magasak, és ekkor a két fehérje gátolja a *TOC1* gén kifejeződését. Nappal a CCA1 és LHY faktorok foszforilálódnak majd degradálódnak így a *TOC1* gén fokozatosan felszabadul a gátlás alól, a *TOC1* fehérje szintje este ér el magas szintet és ekkor egy megfelelő transzkripció faktoron keresztül stimulálja CCA1 és LHY kifejeződését, melyek az éjszaka folyamán felhalmozódva kapcsolják a *TOC1* gént. Ez a ciklus, melyet további poszttranszlációs folyamatok finomítanak, kb. 24 órát vesz igénybe. A központi oszcillátorhoz további napszak-függő molekuláris visszacsatolási hurkok kapcsolódnak, melyeknek CCA1 és LFY szintén központi elemei, így képesek a CCA1 és LFY központi szabályozók nagyszámú inputot és outputot napszak specifikusan szabályozni.

A bemeneti (input) oldalt fényreceptorok (fitokrómok, kriptokrómok) képviselik (lásd 2.3.2.). A kimeneti oldal elemei közé tartozik mindaz, amire az oszcillátor közvetve hatást gyakorol. Ide tartoznak az óra által szabályozott gének, biokémiai és fiziológiai folyamatok. A cirkadián óra biztosítja, hogy ezek a folyamatok a legoptimálisabb napszakra legyenek időzítve biztosítva a maximális hatékonyságukat.

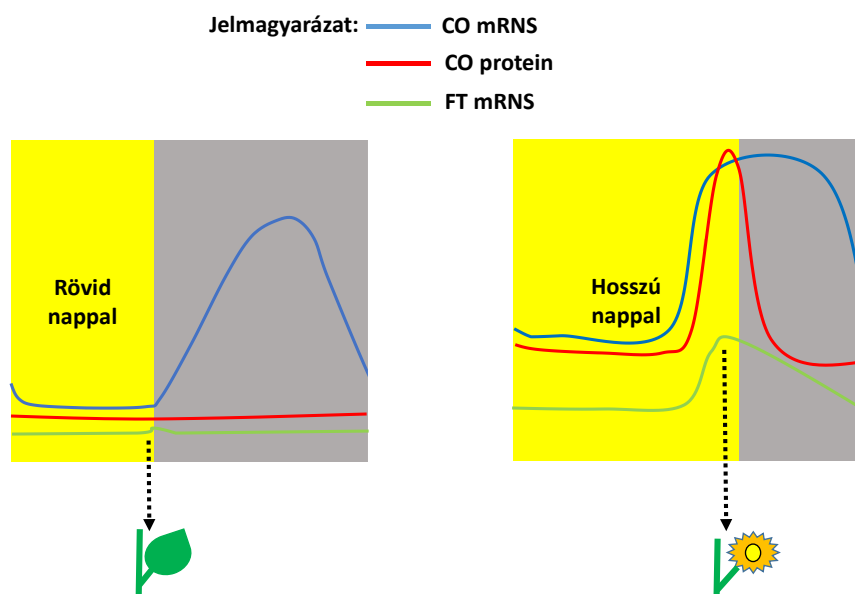
4.4.2.2.4. A virágzás nappalhossztól való függésének modelljei

A virágzás nappalhossz általi szabályozásának magyarázatára a jelenség felfedezői, Gartner és Allard, az ún. „homokóra modell”-t javasolták (11). A homokóra modell szerint egy kémiai anyag fokozatos felszaporodása során elér egy határmennyiséget, amit, ha meghalad, kiváltja a virágzási választ (serkenti vagy gátolja). Az anyag mennyiségét lebomlás is szabályozza, pl. fényre felszaporodik és sötétben lebomlik (de lehet fordítva is). Az anyag szintje minden éjszaka visszaáll az alapértékre. Ha a nappal elég hosszú, az anyag meghaladja a küszöbszintet és kiváltja a választ, ha a nappal rövid, akkor

a határérték elérése előtt indul el a lebomlása és nem váltja ki a választ. A homokóra modell nem magyarázza meg azt a megfigyelést, hogy az éjszakát megszakító fényre való érzékenység folyamatos sötétben is cirkadián ritmitást mutat. Erre a megfigyelésre alapozta a virágzásszabályozási modelljét Erwin Bünning (1936), aki felvetette, hogy a fényre, mint virágzási jelre való érzékenység cirkadián ritmust mutat és este/alkonyatkor a legmagasabb (Bünning hipotézis) (11). Hosszú nappalos körülmények között a fény még késő este is jelen van, így egybeesik a belső érzékenységgel, kiváltva a virágzási választ (hosszú-nappalos növények esetében a virágzást, rövid nappalos növények esetében annak gátlását). Ezért ezt a virágzásszabályozási modellt „egybeesési modell”-nek nevezzük (11).

4.4.2.2.5. A virágzás nappalhossz általi szabályozásának molekuláris modellje

Arabidopsis-val végzett genetikai és molekuláris kutatások sokban megerősítették a Bünning-hipotézist és az „egybeesési modell”-t. Azonosítottak egy olyan mutáns Arabidopsis növényt, mely hosszú nappalon is ugyanakkor virágzik, mint rövid nappalon, azaz a virágzásának fotoperiodikus szabályozás elveszett. A mutáció egy transzkripciósfaktort érint, melyet CONSTANS-nak (CO) neveztek el (13). A CO gén kifejeződése cirkadián ritmitást mutat (a cirkadián óra egyik kimeneti -output-faktora), mégpedig esti/kora éjszakai maximummal (14) (4.4.5. ábra). Hosszú nappalos körülmények között a CO gén esti kifejeződése még egybeesik a fényszakasz végével és ekkor kiváltódik az Arabidopsis hosszú nappalos virágzása. Rövid nappalos körülmények között azonban CO csak sötétben termelődik és ekkor nincs virágzás indukció. A CO transzkripciósfaktor tehát megfelel annak, amit a Bünning-hipotézis „virágzási jelre való érzékenység”-ként fogalmazott meg. Két kérdés várt még megválaszolásra: 1) ha CO egy transzkripciósfaktor, milyen géneket aktivál, melyek elindítják a virágzás folyamatát; 2) a sötétben átíródó CO gén miért nem indítja el a folyamatot, vagyis mi a fény szerepe?

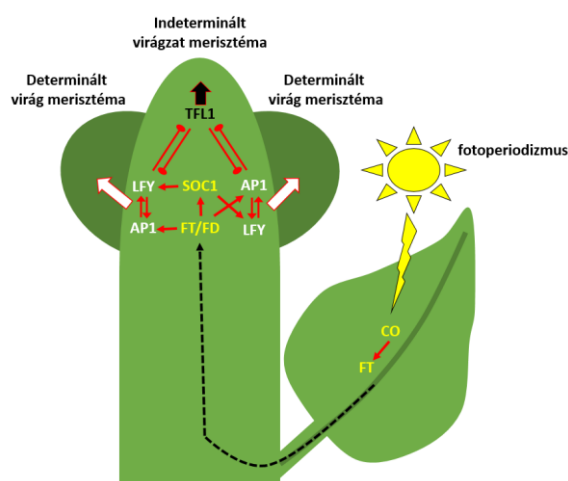


4.4.5. ábra A hosszú nappalos növények virágzásának nappalhossztól-függő molekuláris szabályozása a Bünning hipotézist (külső egybeesési modell) támasztja alá. Rövid nappalon a CONSTANS (CO) gén expressziója sötét periódusra esik, a termelődő fehérje lebomlik és így CO nem indukálja a virágzás integrátor FT gén kifejeződését, nincs virágzás. Hosszú nappalon a CO gén aktivitása részben egybeesik az esti fény szakasszal, a képződő CO fehérjét a fény fotoreceptorok aktiválásán keresztül stabilizálja, a felhalmozódó fehérje bekapcsolja az FT gént, és a képződő FT fehérje kiváltja a virágzást. (Fehér Attila ábrája)

Miután sikerült megismerni a virágmerisztéma identitási és virágzás integrátor géneket, csak meg kellett keresni ezek közül azt, amelyiknek a kifejeződése a *constans* (*co*) mutánsban lecsökken, illetve a CONSTANS túlermelésének hatására megnövekszik. Ezeknek a paramétereknek a virágzás integrátor *FLOWERING LOCUS T* (*FT*) gén felelt meg. A CO tehát az *FT* gént kapcsolja be. Azonban, erre nem a hajtásmerisztémában kerül sor. CO gén ugyanis nem fejeződik ki a hajtásmerisztémában. Továbbá, ha *co* mutánsban a vad típusú CO gént olyan promóterrel fejeztetjük ki, amely csak a hajtásmerisztémában aktív, akkor a mutációt nem tudjuk komplementálni (kijavítani). A CO gén magas kifejeződést a levelekben a floémkísérő sejtekben mutat. Ha egy ezekben a sejtekben aktív promóterrel végezzük a fenti mutáns komplementációt akkor az hatékony lesz. Azaz a virágzási jel nem a hajtásmerisztémában képződik, hanem a levélben. Ez nem újkeletű megfigyelés. Már nagyon régen megfigyelték, hogy ha egy növényben indukálják a virágzást, akkor ennek a levelét áttolva egy nem-indukált növényre, az is virágozni fog. Ezek a megfigyelések arra utalnak, hogy a levélben képződő virágzási jel egy mobilis molekula, ami a levélből a hajtáscsúcsba jutva váltja ki a virágzást. Egy orosz botanikus, Mikhail Chailakhyan, 1937-ben virágzási hormonnak, florigénnek, nevezte el ezt a feltételezett mobilis szignált. Ma már tudjuk, hogy a „florigén” nem más, mint az FT fehérje. Ha az FT fehérjét egy zölden-fluoreszkáló fehérjével (GFP) fuzionálva termeltetjük meg Arabidopsis levélben, akkor a fluoreszcencia kimutatható a hajtáscsúcsban is, igazolva az FT fehérje mobilis voltát.

De miért nem váltja ki a CO fehérje sötétben az *FT* gén kifejeződését? Erre a kérdésre a választ a CO fehérje stabilitásának vizsgálata szolgáltatta. A CO fehérje ugyanis sötétben hiába termelődik viszonylag nagy mennyiségben, gyorsan le is bomlik, így nem tudja kellően aktiválni az *FT* gént (4.4.5. ábra). Hajnalban a fitokróm B közvetítésével fény hatására degradálódik a képződő CO fehérje. Az esti fény ezzel szemben, fitokróm A és kriptokróm fotoreceptorokat aktiválva, stabilizálja a CO fehérjét, így az ki tudja váltani a virágzási választ (15).

A hosszú nappal tehát a következőképpen serkenti az Arabidopsis növények virágzását (4.4.6. ábra): A CO transzkripció faktor hosszú nappal mellett az esti fényben felhalmozódik a levélben és beindítja az *FT* termelődést a levelekben. FT eljut a floém áramban a hajtáscsúcsba, ott kölcsönhat az FD transzkripció faktorral és így elindítja az *AP1* és *SOC1* gének működését. *SOC1* (AGL24-vel kölcsönhatva) aktiválja *LFY* expresszióját. *AP1* és *LFY* megváltoztatja a hajtásmerisztéma identitását, elindítva a virágfejlődés folyamatát.



4.4.6. ábra Az Arabidopsis növény fotoperiodikus virágzás szabályozásának integrált modellje. A mobilis virágzási jel, a „florigén”, ami nem más, mint az FLOWERING LOCUS T (*FT*) fehérje a levélben képződik CONSTANS (*CO*) közvetítésével (lásd 4.4.5. ábra), és a floém árammal jut el a hajtásmerisztémába, ahol az FD transzkripció faktor aktiválva és a virágmerisztéma identitás géneket (*LFY*, *AP1*) bekapcsolva kiváltja a virágzást. Részletes magyarázatot lásd a szövegben. (Fehér Attila ábrája)

Rövid nappalos növények közül a rizs fotoperiodikus virágzásszabályozását ismerjük részletesebben (16). Rizsben is azonosították a CO és FT fehérjéket, de itt a nevük HEADING DATE 1 (*Hd1*) illetve HEADING DATE 3a (*Hd3a*). Amíg Arabidopsisban CO nincs is jelen nem-induktív (rövid nappalos) körülmények között, addig rizsben a CO-homológ *Hd1* hosszú nappalon represszálja, rövid nappalon

serkenti a Hd3a (FT) expresszióját. Amíg Arabidopsisban a fény a CO fehérje degradációját szabályozza, rizsben a fény a Hd1 gén (CO) aktivitását módosítja: aktivátorból represszorral alakítja. Rizsben van egy „hosszú nappalos florigén” is, RFT1, ami szükséges a hosszú nappalon való késői virágzáshoz.

4.4.2.3. A vernalizáció

A vernalizáció az a jelenség, amikor a virágzás gátlásának feloldásához hidegkezelésre van szükség (17). A vernalizáció aktív metabolizmust igényel: nedves magok vagy vegetatív növények érzékenyek a kezelésre, száraz magok nem. Az áttelelő egyéves növények általában már a csírázás előtt, de mindenképpen egy korai életszakaszban már érzékennyé válnak a vernalizációs hatásra, míg a kétéves növényeknek el kell érniük egy bizonyos vegetatív fejlettségi állapotot, ahhoz, hogy ez bekövetkezzen.

A vernalizációra a hajtáscsúcs (magban az embrió apikális régiója) érzékeny. Ha csak a hajtáscsúcsot kezeljük hideggel, bekövetkezik a hatás, függetlenül a növény többi részének hőmérsékletétől. Az aktív anyagcsere mellett sejtosztódás és DNS replikáció is szükséges a hatás kialakulásához.

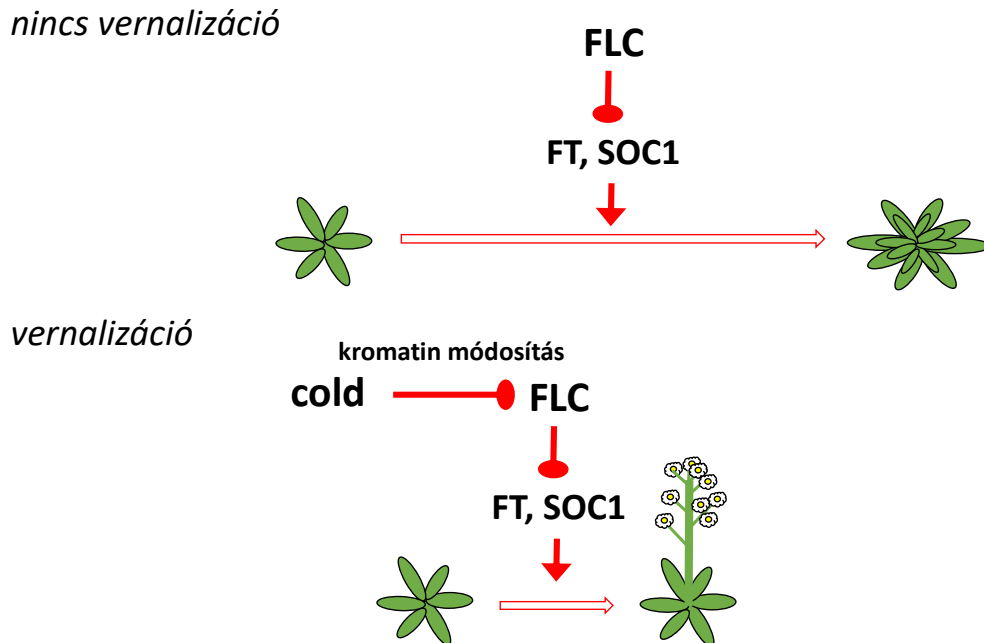
A vernalizációs hidegkezelés hőmérséklete közvetlenül a fagypont alatti hőmérséklettől kb. 10 °C-ig terjed, de az optimum 1-7 °C között mozog. A kezelés hosszával a válasz hatékonysága is növekszik, az ún. telítési vagy szaturációs pontig. Általában több hét az optimális időtartam, de ez fajonként és fajtánként jelentősen eltérhet.

A vernalizáció virágzásra kifejtett hatása lényegesen eltér a nappalhossz hatásától. Amíg a nappalhossz kritikus értéke azonnal elindítja a virágzás folyamatát, a hidegkezelés csak kompetenssé (képesé) teszi a növényt a virágzásra, de a folyamatot önmagában nem indítja el, ahhoz egyéb szignálok szükségesek. A vernalizációs igényű növények a hidegkezelés nélkül késve, vagy egyáltalán nem virágoznak és érzéketlenek a virágzásindukcióra, például a nappalhosszra. A vernalizáció és a hosszú nappalosság gyakran kombinálódik, hiszen a hideget követő hosszú nappalok egyértelműen jelzik a tavaszi/kora nyári időszakot. Ez azt is jelenti, hogy a vernalizációs hatás sokáig fennmarad. Minél hosszabb a vernalizációs kezelés tartama, annál tartósabban marad fenn. Egyes növényekben, pl. Arabidopsisban is, a vernalizáció hatása a növény egész további életében megmarad.

A vernalizáció feltételezhetően megváltoztatja a hajtáscsúcsban a gének kifejeződését. Azokat a génexpressziós változásokat, melyek tartósan fennmaradnak és a sejtosztódások során átadódnak a leánysejteknek, de nem genetikai mutáció következményei, epigenetikus változásoknak nevezzük. Az epigenetikus szabályozás a kromatin (fehérjékkel körülvett DNS) szerkezetét változtatja meg (lásd 2.1.3.). A kromatin szerkezete egy adott lókuszon lehet nyílt vagy laza, ami lehetővé teszi, hogy transzkripciós faktorok elindítsák az adott lókuszon a gén(ek) átíródását (eukromatin), és lehet zárt vagy kompakt, ami megakadályozza ezt (heterokromatin). A kromatin szerkezetét többek között a DNS-hez kapcsolódó hiszton fehérjék poszttranszlációs módosulásai (acetiláció, metiláció, foszforiláció stb.) és a DNS (citozin) metilációja befolyásolja.

Az Arabidopsis növénynek vannak vernalizációs igényű áttelelő és vernalizációt nem igénylő gyors életciklusú változatai. A két típus között az eltérést az adja, hogy a vernalizációs igényű változatok hajtáscsúcsában erőteljesen kifejeződik egy gén, a gyors ciklusú változatok esetében ezt egy mutáció megakadályozza. Ez a gén a FLOWERING LOCUS C (FLC) fehérjét kódolja, amely egy transzkripciós faktor. Az FLC fehérje egy hatékony virágzási represszor (18), célgénjei a levélben az *FT* gén, a hajtásmerisztémában a *SOC1* és *FD* gének (4.4.7. ábra). Az áttelelő Arabidopsis változatokban az FLC gén hideg általi kikapcsolása teszi lehetővé, hogy a virágzást a hosszú nappal később kiválthassa. A hideg, megfelelő enzim komplexek génjeit aktiválva, az FLC lókuszon megváltoztatja a kromatin állapotát (19): eltávolítja a transzkripcionálisan aktív eukromatinra jellemző hiszton módosításokat (specifikus lizinek acetilációja) és azokat felváltja tartósan fennmaradó transzkripciót gátló módosításokkal (specifikus lizinek metilációja). A vernalizált Arabidopsis növény egész életében

kompetens marad a virágzásra, mivel az FLC lókuszt transzkripció aktivitása csak a következő generációban áll vissza.



4.4.7. ábra Az Arabidopsis növény vernalizációs virágzás szabályozásának vázlata. A szabályozás központjában a FLOWERING LOCUS C (FLC) virágzási represszor fehérje áll, ami gátolja a virágzás integrátor gének (FT, SOC1) kifejeződését. A hideg periódus (vernalizáció) úgy módosítja az FLC lókuszt kromatin szerkezetét, hogy az FLC gén tartósan működésképtelenné válik, ezzel felszabadítja a gátlás alól a virágzási géneket. A virágzáshoz azonban még a virágzási gének (FT/SOC1) indukciója is szükséges. (Fehér Attila ábrája)

A vernalizációs szabályozás többször, függetlenül alakult ki az evolúció során, ami eltérő mechanizmusokat tételez fel. A gabonafélékben nincs *FLC* gén, a virágzási represszor szerepét a VERNALIZATION 2 (VRN2) tölti be (17).

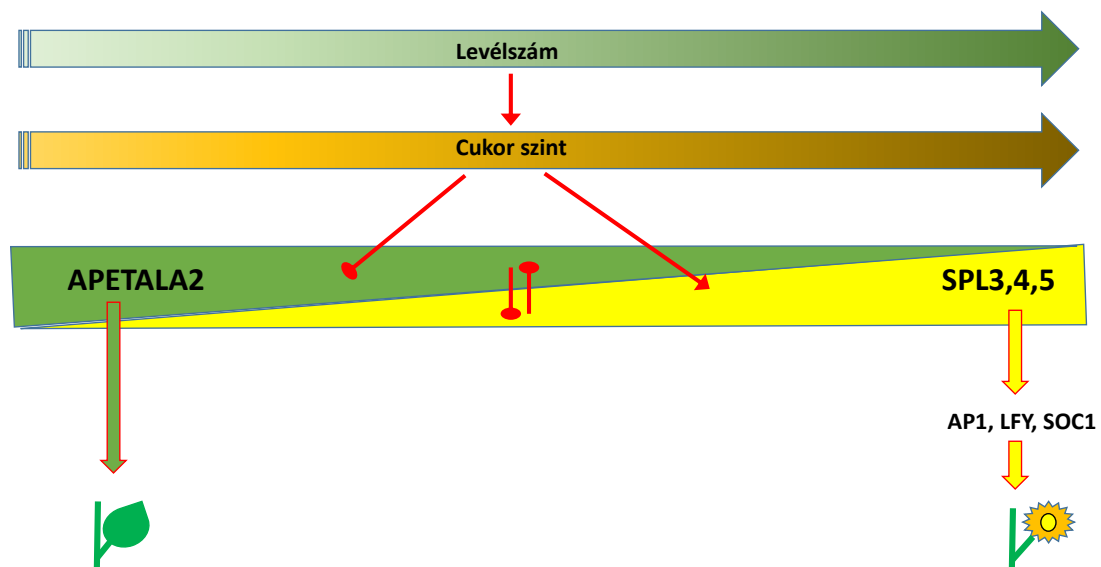
4.4.2.4. A virágzás egyedfejlődési szabályozása

A növények nagyon eltérő korban virágoznak. Bár néhány kivételes esetben a virág már a csírázás után elkezdi differenciálódni (pl. *Chenopodium rubrum*, *Senecio vulgaris*), a virágzást általában megelőzi a növények vegetatív növekedési szakasza. Az egyéves növények hetekig/hónapokig, a kétévesek egy-két évig, az évelő növények több évig/évtizedig növekednek, mielőtt virágoznak.

A reproduktív fejlődési fázist megelőző vegetatív növekedési fázist juvenilis (fiatal kori) életszakasznak nevezzük, a maturitást (kifejlett, érett felnőtt kort) a növény akkor éri el, amikor képessé válik a virágzásra (20). A virágzás hiánya azonban nem egyértelmű jele a juvenilis állapotnak, hiszen érett növények sem mindig virágoznak, ha a körülmények nem megfelelőek, ha intenzív a vegetatív növekedésük stb. A maturitást gyakran a vegetatív szervek morfológiai változásai jelzik, főleg évelő fás szárú növényeknél: pl. levél alak változás, levél elrendeződés változás, tüskesség stb. Egy- és kétéves lágyszárú növények esetében sokszor egy adott levélszám elérése szükséges a virágzáshoz (21). A dohány például mindig azonos számú, 41 nódusz létrehozása után virágozik. Ha a csúcsról 5 nóduszt eltávolítunk, azokat újra létrehozza mielőtt virágozik. Ha 13-at távolítunk el, 13-at hoz újra létre. A kifejlett növény felső néhány nódusza determinált a virágzásra, az alatta lévők nem. Ha a 41 nóduszt

tartalmazó hajtás felső részét levágjuk és meggyökereztetjük, nem hozza létre a hiányzó alsó nóduszokat, hanem virágzik. Felmerülhet a kérdés, hogy hogyan képes a növény számontartani a levelei számát? Kísérletek arra utalnak, hogy Arabidopsisban a több levél fotoszintézise által termelt több szénhidrát lehet a maturitást kiváltó egyik paraméter (22). Az Arabidopsis növények korát molekuláris óra is méri (20): két antagonisztikus transzkripció faktor szintje ellentétesen változik a növény korával. Az APETALA 2 (AP2) transzkripció faktor szintje fokozatosan csökken, míg a SQUAMOSA PROMOTER BINDING PROTEIN-LIKE (SPL3,4,5) transzkripció faktorok mennyisége fokozatosan növekszik (4.4.8. ábra). Ez utóbbiak szintje virágzáskor éri el a maximális szintet. Célgénjeik a hajtás merisztémában a virágzási gének: *LFY*, *AP1*, *SOC1*, *AGL24*, a levélben *FT*. Juvenilis korban az SPL faktorok kifejeződését egy mikroRNS (miRNA156) gátolja, melynek szintje a levelek által előállított cukor mennyiségtől függ (4.4.8. ábra).

A fenti megfigyelések, kísérletek arra utalnak, hogy nem a növény vegetatív fejlődésének tényleges időtartama, hanem a növény biológiai kora, fejlettsége az, ami a virágzáshoz szükséges. A megfelelő biológiai kor elérése azonban nem váltja ki a virágzást, csak kompetenssé (képesé) teszi a növényt a virágzásra.



4.4.8. ábra A virágzás egyedfejlődési szabályozásának vázlatos modellje Arabidopsisban. A levélszám növekedésével növekszik a növény cukor produkciója, ami negatívan hat a juvenilitást fenntartó APETALA2, és pozitívan a virágzási kompetenciát biztosító SPL3,4,5 transzkripció faktorokra, melyek egymást negatívan szabályozzák. SPL3,4,5 cél génjei a virágzás integrátor és virágmerisztéma identitás gének, melyeknek az aktiválásához azonban még egyéb faktorok is szükségesek. Zöld – juvenilis jelleg - APETALA2 kifejeződés; sárga – érett jelleg - SPL3,4,5 kifejeződés. Tompa nyilak gátlás, hegyes nyilak serkentés. (Fehér Attila ábrája)

4.4.2.5. A gibberellin, mint virágzási hormon

A növényi hormonok közül a gibberellin hat leginkább a virágzásra (23). Arabidopsisban a GA szintézis a levelekben megnő a virágzást indukáló körülmények hatására. Külső gibberellin kezelés rövid nappalon, nem-induktív fotoperiódus mellett, indukálja a hosszúnappalos Arabidopsis (és más hasonló rozettás növények) gyors virágzását. Gibberellin hiányos, illetve jelátviteli Arabidopsis mutánsok rövid nappalos körülmények mellett egyáltalán nem virágoznak.

GA és vernalizáció közötti összefüggésre utal, hogy néhány kétéves növényben a GA virágzást indukál hidegkezelés nélkül is. Azonban a GA bioszintézis vagy jelátvitel defektusa nem akadályozza meg a vernalizációs hatást. GA Arabidopsisban nem befolyásolja az FLC expressziót még akkor sem amikor virágzást indukál. Azaz a vernalizáció és GA külön utakon hatnak, és a külső GA kezelés megkerüli a vernalizációs utat.

A gibberellin jelátvitel különböző útvonalakon keresztül szabályozza a *LFY*, a *SOC1* és a *SPL3* virágzási gének kifejeződését.

4.4.2.6. Az autonóm virágzásszabályozás

Számos olyan mutációt azonosítottak Arabidopsisban, melyek befolyásolják a virágzás idejét, de egyik fenti szabályozási útvonalhoz sem tartoznak. Ezekről a mutációkról kiderült, hogy olyan általános molekuláris folyamatokat érintenek, melyek közvetlenül vagy közvetve befolyásolják az FLC virágzási represszor szintjét, és ezen keresztül a virágzás idejét. Bár az ezekkel a mutációkkal érintett gének nem tartoznak egy összefüggő szabályozási útvonalhoz, összefoglalva a virágzás szabályozás „autonóm útja” néven szokás őket említeni (24).

4.4.3. A virágfejlődés szabályozása

A megfelelő környezeti és egyedfejlődési jelek hatására megindul a virág fejlődése. A virágzási jeleket a virágzás integrátor gének (*FT*, *SOC1*) egyesítik és ennek megfelelően a hajtáscsúcsban aktiválják a virágmerisztéma identitási gének (*LFY*, *AP1/CAL*) kifejeződését. A virágmerisztéma fejlődésnek indulva létrehozza a virágot. A virág determinált növekedésű módosult hajtás, amely az egyes nóduszain meghatározott specializált szerveket hoz létre. A következőkben azt tekintjük át, hogy ez hogyan történik. Modellként itt is az Arabidopsis növényt használjuk.

4.4.3.1. A virág felépítése és szervei

Az Arabidopsis virágmerisztéma négyféle szervet hoz létre: csészeleveleket, szirmleveleket, porzókat, és a két termőlevélből összenőtt termőt. Ezek egy-egy örvben fejlődnek, vagyis a virág négy örvből áll: kívül, az első örvben helyezkedik el a négy zöld csészelevél, a következő második örvben a négy fehér szirmlevél, a harmadik örvben a hat porzó (hím ivarlevél, porzószálon ülő portok) melyek közül kettő rövidebb, a negyedik örvben az egyetlen termő, ami azonban egy komplex szerv, a magkezdeményeket tartalmazó magház két termőlevélből nőtt össze, bibeszálban folytatódik, majd a bibében végződik.

Az egyes szervek jelentősen eltérnek egymástól, ami feltételezi, hogy fejlődésüket eltérő gének szabályozzák, melyek az egyes örvökben specifikusan fejeződnek ki.

4.4.3.2. A virágfejlődés ABC modellje

Arabidopsis mutánsok vizsgálata vezetett el a virágszervek azonosságát meghatározó gének felfedezéséhez (25). Ezekben a mutánsokban a virágszervek nem a megfelelő örvben jelentek meg. Azokat a mutációkat, melyek az egyes szerveket nem megszüntetik, hanem azok kialakulásának helyét, számát befolyásolják homeotikus mutációknak nevezzük. Az Arabidopsis virágfejlődését érintő öt homeotikus mutáció a mutáns virágok fenotípusa alapján három csoportba tartozik. Az első „A”-jelű csoportba az *APETALA 1* (*AP1*) és *APETALA 2* (*AP2*) gének mutációi tartoznak (az *AP1* és *AP2* transzkripció faktoroknak emellett más szerepük is van, lásd korábban). Az *ap1* és az *ap2* mutáns virágokban a csésze és a szirmlevelek helyett is termők és porzók fejlődnek („apetala” jelentése szirmtalan). A második „B” csoportba is két mutáció (gén) tartozik, *APETALA 3* (*AP3*) és *PISTILLATA* (*PI*). Ezek a mutációk olyan virágokat eredményeznek, melyekben csak csészelevél és termő képződik a szirmok és porzók helyén is („pistillata” jelentése soktermős). A harmadik „C” csoportba csak egy mutáció (gén) tartozik, *AGAMOUS* (*AG*), ami ivarlevél nélküli (ezt jelenti az „agamous”) virágok fejlődését okozza, ahol a porzók és termők helyét csésze és szirmlevelek foglalják el. Az egy-egy

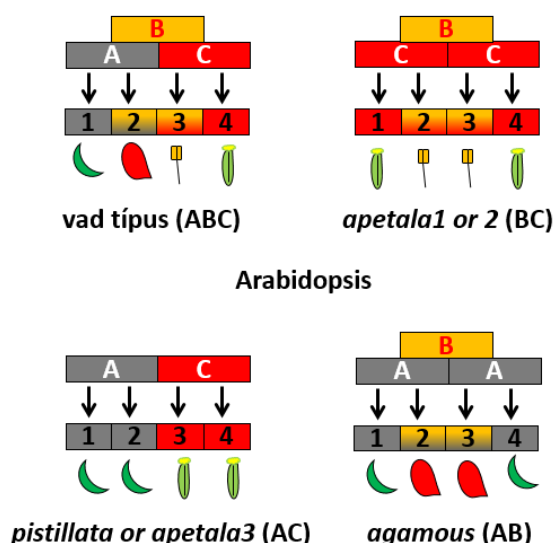
csoportba tartozó gének feltételezhetően ugyanazon funkcióért felelősek, melyeket A, B, és C funkcióknak neveztek el.

Az, hogy a négy örvben fejlődő négyféle szervhez csak három funkció társítható azt jelzi, hogy a virágszervek azonosságát nem lehet egy-egy specifikus génhez kötni. A látszólagos ellentmondás feloldására Coen és Meyerowitz 1991-ben megalkotta a virágfejlődés „ABC modell”-jét (25,26) (4.4.9. ábra). A modell alapvetése, hogy az A, B, és C funkció génjei két-két szomszédos virágörvben, részben átfedve fejeződnek ki, és az egyes szervek identitását a három funkció bizonyos kombinációi határozzák meg.

Az első két örvben fejeződnek ki az „A” funkció génjei *AP1* és *AP2*, a másodikban és a harmadikban a „B” funkció génjei *AP3* és *PI*, a harmadikban és negyedikben pedig a „C” funkcióért felelős *AG*. Így minden örvben egyedi kombináció alakul ki (4.4.9. ábra): az első örvben csak „A” (csészelevél), a másodikban „A és B” (sziromlevél), a harmadikban „B és C” (porzó), a negyedikben „C” (termő) funkció lesz jelen. Ez a modell megmagyarázza, hogy három géncsoport hogyan tud négyféle szervet meghatározni, de nem magyarázza meg a mutációk fenotípusát. Ahhoz még egy feltételnek kell teljesülnie: annak, hogy az „A” és „C” funkciók egymás kifejeződését korlátozzák, azaz, hogyha az egyiket eltávolítjuk, a másik kiterjed a virágmerisztéma egészére.

A virágfejlődés ABC modellje alapján a mutációk fenotípusa tökéletesen megmagyarázható (4.4.9. ábra). Az „A” funkció kiesésével (*ap1* vagy *ap2* mutációja) a „C” funkció (*AG* kifejeződése) kiterjed az első két örvre is, így az első és negyedik örvben is csak „C” (*AG*) lesz jelen így termő fejlődik, a második és harmadik örvben „B” és „C” (*AP3*, *PI*, *AG*) is jelen lesz, így porzók fejlődnek. Ebben a virágban tehát nem fejlődik sem csésze, sem szirom. A „C” funkció kiesésével (*ag* mutációja) az „A” funkció (*AP1* és *AP2* kifejeződése) kiterjed belső két örvre is, így az első és negyedik örvben is csak „A” (*AP1* és *AP2*) lesz jelen így csésze fejlődik, a második és harmadik örvben „A” és „B” (*AP1*, *AP2*, *AP3*, *PI*) is jelen lesz, így szirmok fejlődnek. Ebben a virágban tehát nem fejlődik sem porzó, sem termő. A „B” funkció hiánya esetén (*ap3* vagy *pi* mutáció) az külső két örvben csak „A” (*AP1* és *AP2*), a belső két örvben csak „C” (*AG*) lesz jelen, így kívül két kör csésze, belül két kör termő fejlődik.

Felvetődhet a kérdés, hogy ugyanazok a virágmerisztéma identitási faktorok (*LFY* és *AP1/CAL*) hogyan tudnak a különböző örvökben más és más géneket aktiválni. Erre az a magyarázat, hogy az egyes örvökben más-más ko-faktorokhoz kapcsolódnak, ami megváltoztatja az általuk felismert gének körét az „ABC modell”-nek megfelelően.



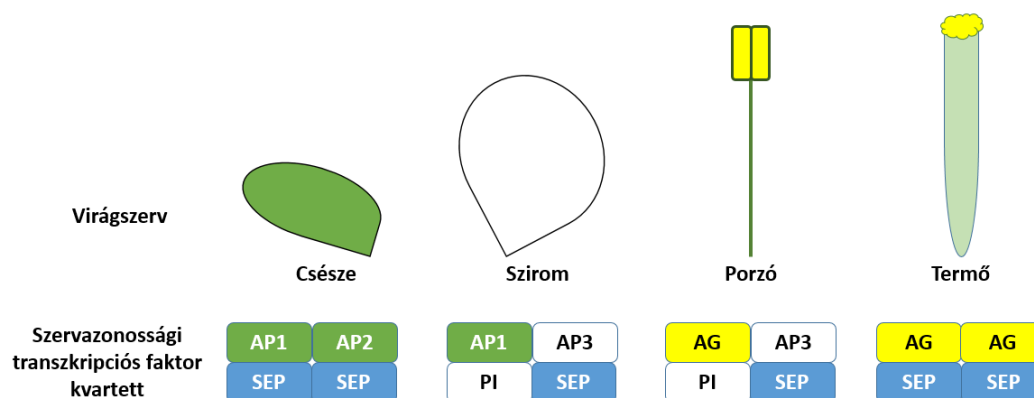
4.4.9. ábra A virágfejlődés ABC modellje vad típusú és a virágszerv-fejlődési homeotikus *Arabidopsis* mutánsok esetében. A számok a virág örvét jelölik kívülről befelé, az A, B és C betűk a virág szervek fejlődését befolyásoló három funkciót, melyeket az öt *Arabidopsis* mutáció (*apetala1,2* és *3*, *pistillata* és *agamous*) révén azonosítottak. A funkciók génjei az ábrán jelzett módon átfedve fejeződnek ki az örvökben, így minden örvben egy specifikus kombináció alakul ki, ami meghatározza, hogy az adott örvben milyen szerv fejlődjön. Ha az egyes funkciók mutáció miatt megszűnnek, a szervek az ABC modellnek megfelelően alakulnak át az érintett örvökben. Az A és a C funkciók egymást korlátozzák, így ha az egyiket eltávolítjuk a másik kiterjed az összes örvre, befolyásolva a szervek kialakulását. (Fehér Attila ábrája)

4.4.3.3. Az ABC modell kibővítése – az „E” funkció és a kvartett modell

Ha a fenti öt virágszerv azonossági mutációit egyetlen növényben kombináljuk, a virág helyett álvirág fejlődik, melynek mind a négy örvében zöld levélszerű szerv fejlődik. Ez is igazolja, hogy a virág szervei módosult levelek, melyek fejlődését a virág szerv azonossági gének módosítják. Ha ez így van, feltételezhető, hogy ezeknek a géneknek a levélkezdeményben való kifejeztetésével a levél virágszervvé alakítható. Ezt kísérletek nem igazolták. A kutatók ezért feltételezték, hogy valamilyen egyéb „merisztéma faktor”-ra is szükség van a virágszervek fejlődéséhez. Ezt a faktort újabb Arabidopsis mutációk segítettek azonosítani (27). Az Arabidopsis genom négy átfedő funkciójú SEPALLATA (SEP) transzkripció faktor kódol. Ha mutációval mind a négy gént elrontjuk, álvirágokat kapunk, vagyis a SEP faktorokra is szükség van a virágszervek kifejlődéséhez. A kiterjesztett ABC modellben a SEPALLATA faktorok képviselik az „E” funkciót (a „D” funkció elnevezést a magkezdemény fejlődését szabályozó transzkripció faktorokra korábban már lefoglalták).

Hogyan kapcsolódik az „E” funkció az ABC funkciókhoz? Erre a „kvartett modell” ad választ (28) (4.4.10. ábra). A „kvartett modell” szerint minden örvben egy négy tagú (kvartett) transzkripció faktor komplex vesz részt a szervazonosság kialakításában, és ezeket a komplexeket SEP faktorok tartják össze, azaz a SEP faktorokra minden örvben szükség van.

Ha levélkezdeményben virág szerv azonossági géneket együtt fejeztetünk ki egy SEP transzkripció faktorral, akkor a levél helyett az ABC modellnek megfelelő virágszerv fog fejlődni, ami igazolja a „kvartett modell” érvényességét (29).



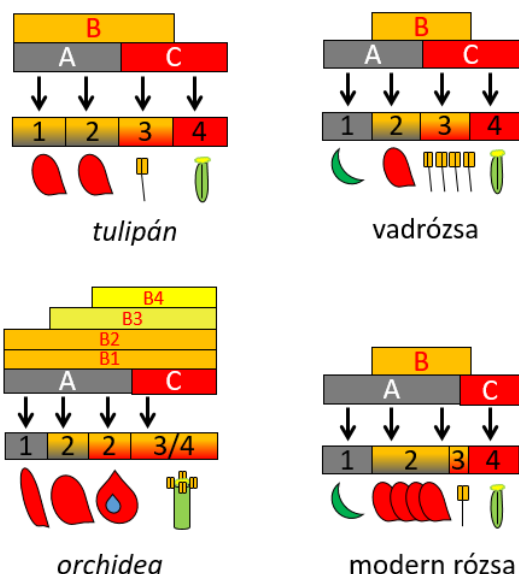
4.4.10. ábra A virágfejlődés kvartett modellje. Minden virág örvben egy transzkripció faktor négyes (kvartett) funkciója szükséges az adott virágszerv kialakulásához. A kvartettek tagjai a virág szervazonossági faktorok (AP1,2,3, PI; AG) az ABC modellnek megfelelően és a SEPALLATA (SEP) transzkripció faktorok („E” funkció) a kiterjesztett ABC modell alapján. A SEP faktorok minden kvartettben szerepelnek, az ABC faktorok önmagukban, az E faktor nélkül, nem képeznek funkcionális transzkripció faktor komplexet. (Fehér Attila ábrája)

4.4.3.4. A virág determinált növekedése

A virág determinált fejlődésű, azaz a négy örv létrehozása után a virágmerisztéma középpontjában megszűnik a merisztematikus aktivitás. Mint láttuk, a hajtás merisztéma indeterminált növekedésért a WUSCHEL (WUS) transzkripció faktor felel (lásd 4.3.1.). Ez a faktor a virágmerisztéma kezdemény középpontjában is aktív. A WUS gén kikapcsolásáért a merisztéma középpontjában, a negyedik örvben kifejeződő AGAMOUS transzkripció faktor felelős, amelynek funkciója így kettős: a termő azonosságának meghatározása mellett a merisztéma funkcióját is determinálja.

4.4.3.5. Az ABC modell általános érvényessége

Az ABC modellt az Arabidopsis növény szabályos keresztes virágára írták le. Mivel nagyon sokféle virágtípus, virág szerkezet létezik, kérdés, hogy az ABC modell mennyire általánosítható. Az eddigi kutatások azt igazolják, hogy az ABC modell általános érvényű, bár az „A” funkció kevésbé konzerválódott, mint a „B” és a „C” (30). Az egyes virágok közötti különbségeket gyakran a virágazonosságú gének kifejeződésének térbeli és időbeli eltérései, illetve az egyes géneknek az evolúció során történt megsokszorozódása (általában a „B” funkciót érintő géneké) és az egyes génváltozatok új funkciói eredményezték. Egy egyszerű példa a tulipán virága: a „B” funkció génjeinek kifejeződése kiterjedt a legkülső örvre is, így ott is szirmlevelek képződnek csészelevelek helyett. Az orchideák különleges virága annak köszönhető, hogy négy *AP3* génre tettek szert az evolúció során melyek a virágmerisztéma különböző régióiban kifejeződve eltérő szirmlevelek fejlődését eredményezik, illetve a porzók és termők összenövését termőoszloppá. A rózsza nemesítése során a nemesítők a nagyobb szirmszámú változatokat szelektálták. Ezek a változatok azért jelentek meg, mert az „A” és „C” funkciók határa nem mereven meghatározott. Az „A” funkció a „C” rovására kiterjedve több szirmlevelet és kevesebb porzót eredményezett. A folyamatos szelekció hatására az „A” funkció kiterjedése egyre növekedett, ami a sokszirmú modern rózsafajták kialakulásához vezetett. Az ABC modell a fűfélék virágára is alkalmazható, bár ott más külső virágszervek (toklász, pelyva) fejlődnek.



4.4.11. ábra Az ABC modell nem csak az Arabidopsis virágfejlődésére érvényes, hanem általános érvényű. A változatos virág morfológiáért az ABC faktorok kifejeződési mintázatának és számának, valamint célgénjeiknek az eltérései felelősek. Tulipán esetében a B funkció első örvre való kiterjedése felel a csésze helyett is szirmok fejlődéséért. Orchideában a B funkció génjei megsokszorozódva és regionálisan kifejeződve az egyes csésze ill. szirmleveleknek speciális morfológiát adnak, illetve a porzók és termők termőoszloppá való összenövését eredményezik. A modern rózsza változatokban az A funkció a C rovására kiterjed, így a porzósám rovására a szirmlevelek száma növekedett meg. (Fehér Attila ábrája)

4.4.4. A MADS-box transzkripciós faktorok és a virág evolúciója

A zárvatermők komplex és változatos virágzásszabályozása és virágfejlődése viszonylag gyors evolúciós változásoknak köszönhető. A LEAFY (LFY) kulcs virágmerisztéma identitási gén minden embriófitában megtalálható, és alap funkciója a levélfejlődéshez kapcsolódott. A zárvatermőkben ez a funkció részben megmaradt, de szert tett egy új fontos szerepre a virágmerisztéma identitás meghatározásával. LFY mellett nagy szerepet játszottak a virág evolúciójában az ún. MADS-box transzkripciós faktorok, melyek megsokszorozódva különböző a virágzással, virágfejlődéssel kapcsolatos funkciót vettek fel (31). MADS-box típusú transzkripciós faktorok egyébként az eukariótákban általánosan elterjedtek, nevüket is egy-egy képviselőjük kezdőbetűjéből hozták létre (Mcm1 – élesztő; AGMAMOUS – Arabidopsis; DEFICIENS – oroszlánszáj; Srf1 – ember).

A virágzásban szerepet játszó legfontosabb MADS-boksz típusú transzkripció faktorok:

Virág szervazonossági gének:

APETALA1, PISTILLATA, APETALA3, AGAMOUS, SEPALLATA 1-4

Virágmerisztéma azonossági gének:

APETALA1, CAULIFLOWER

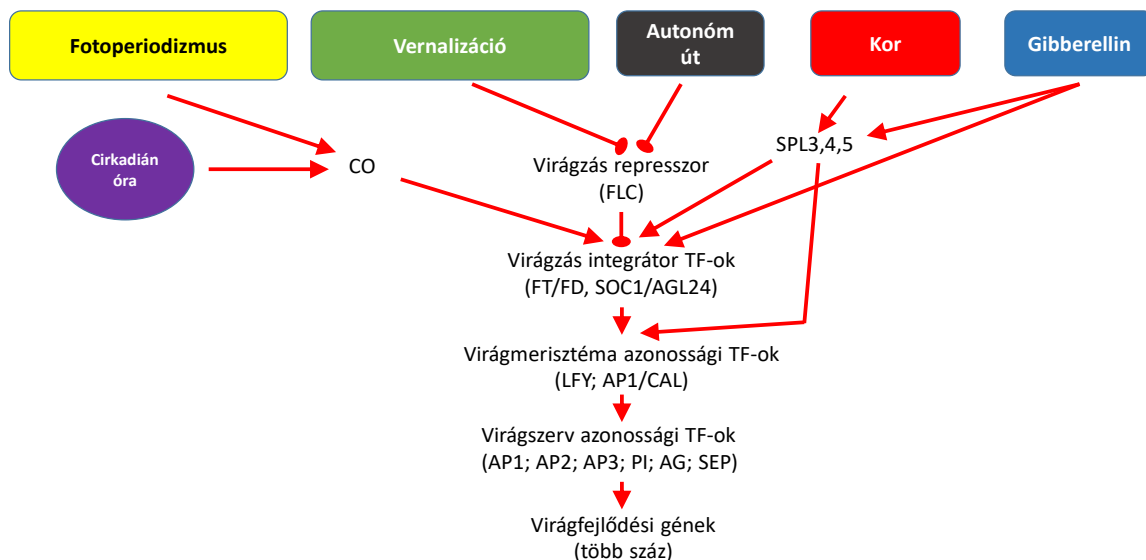
Virágzás integrátor gének:

SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS 1 (SOC1), AGAMOUS-LIKE 24 (AGL24)

Kivételek: LEAFY, APETALA2, FLOWERING LOCUS D

4.4.5. A virágzási idő és a virágfejlődés szabályozásának integrációja

Elsősorban az Arabidopsis mutánsokkal végzett fentebb ismertetett kísérleteknek köszönhetően megállapíthatjuk, hogy a környezeti és egyedfejlődési jelek hatására bekövetkező virágfejlődést egy többszintű transzkripció faktor kaszkád szabályozza, melynek fókuszpontjában az ún. virágzás integrátor faktorok állnak. Ezt az integrált szabályozási kaszkádot mutatja be vázlatosan a 4.4.12. ábra.



4.4.12. ábra Az Arabidopsis virágzás szabályozásának integrált modellje. (Fehér Attila ábrája)

Összefoglalás

1. A virágzás környezeti hatásoktól és egyedfejlődési állapottól függő elindulását (vegetatív-reproduktív átmenet) és a virág szerveinek fejlődését transzkripció faktorok egymásra épülő sora szabályozza (4.4.12. ábra).
2. A vegetatív-reproduktív átmenet során a csúcs és/vagy axilláris hajtásmerisztéma átprogramozása megy végbe, melynek eredményeként virágzati, illetve virág merisztémává alakul.

3. A hajtás és a virágzati merisztéma folytonos, indeterminált, növekedésű, a virágmerisztéma növekedése viszont, miután létrehozta a virág szerveit, leáll (determinált növekedésű). A virágmerisztéma további jellegzetessége, hogy minden nóduszon azonos, de nóduszonként más-más szervet fejleszt, ezek hónaljában nincsenek axilláris rügyek, nem ágazik el és a szervek elrendeződése örvös.
4. A virágmerisztéma identitását meghatározó gének mutációjától azt várták, hogy a virágzás indukció ellenére elmarad a virágfejlődés és a virágok helyett virágzat és/vagy vegetatív hajtás-szerű struktúrák fejlődnek. A két legfontosabb ezen a módon azonosított virágmerisztéma identitási transzkripció faktor LEAFY (LFY) és APETALA1 (AP1).
5. A virágzati és virág merisztémák elhatárolódnak: a virágzati merisztéma közepén TERMINAL FLOWER1 (TFL1) gátolja az AP1 és LFY transzkripció faktorok kifejeződését, fennmarad a hajtásmerisztéma jelleg (indeterminált növekedés), míg a virágzat merisztéma periferiáján a virágmerisztéma identitási faktorok, LFY és AP1, közreműködésével determinált virágmerisztéma fejlődik. Attól függően alakul a virágzat szerkezete, hogy az antagonisztikus TFL1 illetve LFY/AP1 géneknek a kifejeződése térben és időben hogyan viszonyul egymáshoz.
6. A virágzás idejét számos belső és külső tényező befolyásolja. A virágzás integrátor gének (SUPPRESSOR OF CONSTANS 1 (SOC1) és FLOWERING LOCUS T (FT)) hiánya késlelteti, túlermelése elindítja a vegetatív-reproduktív átmenetet (virágzást) egyéb hatásoktól függetlenül.
7. Attól függően, hogy a fotoperiodizmustól miként függ a növény virágzása, a növényeket három nagy csoportba sorolhatjuk: hosszú nappalos, rövid nappalos és nappalhossz semleges növények. A hosszú nappalos növények csak akkor virágoznak, ha a nappal hossza meghalad egy kritikus értéket több napon keresztül, a rövid nappalos növények pedig csak akkor, ha nappal hossza rövidebb egy kritikus értéknél. A növények valójában a sötétperiódus hosszát mérik. Rövid nappalos növények esetében, például, a kritikus értéknél hosszabb fényszakasz esetében is kiváltható virágzás, ha azt megfelelően hosszú sötét szakasz követi.
8. Az éjszakai megvilágítás, legyen akár csak néhány percig tartó, megtöri a sötét szakasz hatását a virágzásra. Az éjszakát megszakító fény hatásspektruma megegyezik a fitokrómok elnyelési spektrumával és a fényre való érzékenység folyamatos sötétben is cirkadián (kb. 24 órás) ritmicitást mutat. Az „egybeesési modell” alapján a virágzási szignálra való érzékenységet a belső cirkadián óra szabályozza. A virágzás attól függ, hogy az érzékenység és a fény jelenléte az esti órákban egybeesik-e. Molekuláris genetikai vizsgálatok alapján a virágzási szignálra való érzékenységet a CONSTANS (CO) transzkripció faktor génjének cirkadián óra által szabályozott expressziója jelenti, a kifejeződés fényvel való egybeesése pedig a CO fehérje stabilitásához szükséges.
9. Ahhoz, hogy egy biológiai folyamat esetében a belső óra által szabályozott cirkadián ritmicitásról beszélhessünk, három követelménynek kell, hogy a folyamat megfeleljen. 1) közel 24 órás periódus; 2) a ritmicitás fennmaradása állandó külső körülmények mellett is; 3) a periódus hossza széles külső hőmérsékleti tartományban is állandó. A cirkadián óra működése több összekapcsolt molekuláris oszcillátoron alapul. Az oszcillációt molekuláris (transzkripció és/vagy transláció) visszacsatolási hurkok tartják fenn.
10. A virágzást kiváltó szignál a levelekben képződik és onnan jut el a floémában a hajtásmerisztémába. A virágzási szignált közvetítő mobilis „virágzási hormon” vagy „florigén” a FLOWERING LOCUS T (FT) fehérje, melynek kifejeződését a CO transzkripció faktor szabályozza. FT a hajtásmerisztémába jutva a virágzást kiváltó transzkripció faktorokat kapcsolja be.
11. A vernalizáció az a jelenség, amikor a virágzás gátlásának feloldásához hidegkezelésre van szükség. A vernalizáció aktív metabolizmust igényel, a hajtáscsúcsban eredményez tartós génexpressziós változást. A hidegkezelés csak kompetenssé (képesé) teszi a növényt a virágzásra, de a folyamatot önmagában nem indítja el. A vernalizáció a FLOWERING LOCUS C (FLC) fehérje génjét kapcsolja ki oly módon, hogy az FLC lókuszon megváltoztatja a kromatin

állapotát gátolva a génátíródást (epigenetikus szabályozás). A vernalizációs igény többször függetlenül kialakult az evolúció során.

12. A reproduktív fejlődési fázist megelőző vegetatív növekedési fázist juvenilis (fiatal kori) életszakasznak nevezzük, a maturitást (felnőtt kort) a növény akkor éri el, amikor képessé válik a virágzásra. A megfelelő biológiai kor, fejlettség elérése nem váltja ki a virágzást, csak kompetenssé (képesse) teszi a növényt a virágzásra.
13. A növényi hormonok közül a gibberellin hat leginkább a virágzásra. Külső gibberellin kezelés nem-induktív fotoperiódus mellett is indukálja a virágzást. Külső GA kezeléssel megkerülhető a vernalizációs út, FLC kifejeződésének változása nélkül. A gibberellin jelátvitel több virágzási gén kifejeződését serkenti.
14. A virág szervazonosságai gének mutációjának hatására a virágszervek nem a megfelelő örvben jelentek meg. A virágfejlődés „ABC modell” -jének alapja, hogy a virág szervek fejlődését meghatározó A, B, és C funkció génjei két-két szomszédos virágörvben, részben átfedve fejeződnek ki, és az egyes szervek identitását a három funkció bizonyos kombinációi határozzák meg. A szervazonosságai gének mutációi által okozott fenotípusok magyarázatához még egy feltételnek kell teljesülnie: az „A” és „C” funkciók egymás kifejeződését korlátozzák, azaz, ha az egyiket eltávolítjuk, a másik kiterjed a virágmerisztéma egészére. A „kvartett modell” szerint minden örvben egy négy tagú transzkripció faktor komplex vesz részt a szervazonosság kialakításában, és ezeket a komplexeket a SEPALLATA (SEP) transzkripció faktorok („E” funkció) tartják össze, azaz a SEP faktorokra minden örvben szükség van.
15. Az ABC modell általános érvényű. Az egyes virágok közötti különbségeket a virágazonosságai gének kifejeződésének térbeli és időbeli eltérései, illetve azonosságai géneknek az evolúció során történt megsokszorozódása és a génváltozatok új funkciói eredményezik.
16. A virágzás és a virágok evolúciója során az ún. MADS-box transzkripció faktorok megsokszorozódása és a virágzással, virágfejlődéssel kapcsolatos új funkcióik kialakulása fontos szerepet játszott.

Ellenőrző kérdések

1. Mit jelent a vegetatív-reproduktív átmenet?
2. Miben különbözik a hajtás, a virágzati és a virágmerisztéma?
3. Melyek a virágmerisztéma azonosságai gének?
4. Hogyan magyarázható a különböző virágzati struktúrák kialakulása?
5. Milyen környezeti és egyedfejlődési tényezők befolyásolják a virágzás idejét?
6. Hogyan azonosíthatók a virágzási jeleket integráló gének?
7. Hogyan befolyásolhatja a nappalhossz a virágzást? Mi ennek a jelentősége?
8. A nappalhosszra érzékeny növények a nappal, vagy az éjszaka hosszát mérik?
9. Mi történik, ha egy rövidnappalos növényt egy 16 órás éjszaka közepén néhány percig vörös fénnel megvilágítunk? És ha ugyanezt távoli vörös fénnel tesszük?
10. Mi tartja fenn és mi a jelentősége a cirkadián biológiai ritmusoknak?
11. Mi az a „florigén”, hol képződik és hogyan hat?
12. Mit jelent a vernalizáció?
13. Mik a hatékony vernalizáció feltételei?
14. Hasonlítsa össze a fotoperiodikus és a vernalizációs virágzás szabályozás alapvető jellegzetességeit!
15. Meddig nevezzük a növényeket juvenilisnek (fiatalnak)?
16. Hogyan hat a gibberellin hormon a virágzásra?
17. Ismertesse a virágfejlődés ABC modelljét!
18. Milyen géneket kell egy levélkezdeményben kifejeztetni, hogy virágszervvé fejlődjön?
19. Mi a „kvartett modell” lényege?

20. Mennyire általános a virágfejlődés ABC modellje?
21. melyik transzkripció család tagjai játszottak fontos szerepet a virágzás evolúciója során?

Megvitatandó kérdések

1. A virágzási idő szabályozásának a jelentősége a szántóföldi és a kertészeti növénytermesztésben.
2. A gabonafélék virágzásának specifikus vonásai.

Javasolt irodalom

1. Erdei László (szerk.). Növényélettan – Növekedés - és fejlődéstudomány. JATEPress Szeged, Magyarország, 2011.
2. Jones R, Ougham H, Thomas H, Waaland S (Eds) The molecular life of plants. Wiley-Blackwell, American Society of Plant Biologists, 2013.
3. Taiz L, Zeiger E, Møller IM, Murphy A (Eds) Plant physiology and development, 6th edition, Sinauer Associates, Inc., 2015
4. Buchanan BB, Gruissem W, Jones RL (Eds) Biochemistry and molecular biology of plants. Second Edition. American Society of Plant Biologists, 2015.

Felhasznált irodalom

1. Weigel D, Alvarez J, Smyth DR, Yanofsky MF, Meyerowitz EM. LEAFY controls floral meristem identity in Arabidopsis. Cell. 1992. május 29.;69(5):843–59.
2. Irish VF, Sussex IM. Function of the apetala-1 gene during Arabidopsis floral development. Plant Cell. 1990;2:741–53.
3. Blázquez MA, Ferrándiz C, Madueño F, Parcy F. How floral meristems are built. Plant Mol Biol. 2006. április;60(6):855–70.
4. Shannon S, Meeks-Wagner DR. A Mutation in the Arabidopsis TFL1 Gene Affects Inflorescence Meristem Development. Plant Cell. 1991. szeptember 1.;3(9):877–92.
5. Liljegren SJ, Gustafson-Brown C, Pinyopich A, Ditta GS, Yanofsky MF. Interactions among APETALA1, LEAFY, and TERMINAL FLOWER1 specify meristem fate. Plant Cell. 1999. június;11(6):1007–18.
6. Prusinkiewicz P, Erasmus Y, Lane B, Harder LD, Coen E. Evolution and development of inflorescence architectures. Science. 2007. június 8.;316(5830):1452–6.
7. Parcy F. Flowering: a time for integration. Int J Dev Biol. 2005;49(5–6):585–93.
8. Garner WW, Allard HA. 1920. Effect of the relative length of day and night and other factors of the environment on growth and reproduction in plants. J Agric. 18:553–606.
9. Song YH, Shim JS, Kinmonth-Schultz HA, Imaizumi T. Photoperiodic Flowering: Time Measurement Mechanisms in Leaves. Annu Rev Plant Biol. 2015;66(1):441–64.
10. Hamner KC, Bonner J. Photoperiodism in Relation to Hormones as Factors in Floral Initiation and Development. Bot Gaz. 1938;100(2):388–431.
11. Lagercrantz U. At the end of the day: a common molecular mechanism for photoperiod responses in plants? J Exp Bot. 2009;60(9):2501–15.
12. de Montaigu A, Tóth R, Coupland G. Plant development goes like clockwork. Trends Genet TIG. 2010. július;26(7):296–306.

13. Putterill J, Robson F, Lee K, Simon R, Coupland G. The CONSTANS gene of Arabidopsis promotes flowering and encodes a protein showing similarities to zinc finger transcription factors. *Cell*. 1995;80:847–57.
14. Suarez-Lopez P, Wheatley K, Robson F, Onouchi H, Valverde F, Coupland G. CONSTANS mediates between the circadian clock and the control of flowering in Arabidopsis. *Nature*. 2001;410:1116–20.
15. Valverde F, Mouradov A, Soppe W, Ravenscroft D, Samach A, Coupland G. Photoreceptor regulation of CONSTANS protein in photoperiodic flowering. *Science*. 2004;303:1003–6.
16. Lee Y-S, An G. Regulation of flowering time in rice. *J Plant Biol*. 2015. december 1.;58(6):353–60.
17. Kim DH, Doyle MR, Sung S, Amasino RM. Vernalization: winter and the timing of flowering in plants. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2009;25:277–99.
18. Rouse DT, Sheldon CC, Bagnall DJ, Peacock WJ, Dennis ES. FLC, a repressor of flowering, is regulated by genes in different inductive pathways. *Plant J Cell Mol Biol*. 2002. január;29(2):183–91.
19. Song J, Angel A, Howard M, Dean C. Vernalization – a coldinduced epigenetic switch. *J Cell Sci*. 2012;125:3723–31.
20. Hyun Y, Richter R, Coupland G. Competence to Flower: Age-Controlled Sensitivity to Environmental Cues. *Plant Physiol*. 2017. január 1.;173(1):36–46.
21. Hempel FD, Welch DR, Feldman LJ. Floral induction and determination: where is flowering controlled? *Trends Plant Sci*. 2000. január;5(1):17–21.
22. Cho L-H, Pasriga R, Yoon J, Jeon J-S, An G. Roles of Sugars in Controlling Flowering Time. *J Plant Biol*. 2018. június 1.;61(3):121–30.
23. Mutasa-Göttgens E, Hedden P. Gibberellin as a factor in floral regulatory networks. *J Exp Bot*. 2009. május 1.;60(7):1979–89.
24. Simpson GG. The autonomous pathway: epigenetic and post-transcriptional gene regulation in the control of Arabidopsis flowering time. *Curr Opin Plant Biol*. 2004. október 1.;7(5):570–4.
25. Coen ES, Meyerowitz EM. The war of the whorls: genetic interactions controlling flower development. *Nature*. 1991. szeptember 5.;353(6339):31–7.
26. Irish V. The ABC model of floral development. *Curr Biol*. 2017. szeptember 11.;27(17):R887–90.
27. Pelaz S, Ditta GS, Baumann E, Wisman E, Yanofsky M. B and C floral organ identity functions require SEPALLATA MADS-box genes. *Nature*. 2000;405:200–3.
28. Theißen G, Saedler H. Floral quartets. *Nature*. 2001. január;409(6819):469–71.
29. Pelaz S, Tapia-López R, Alvarez-Buylla ER, Yanofsky MF. Conversion of leaves into petals in Arabidopsis. *Curr Biol*. 2001. február 6.;11(3):182–4.
30. Litt A, Kramer EM. The ABC model and the diversification of floral organ identity. *Semin Cell Dev Biol*. 2010. február;21(1):129–37.
31. Masiero S, Colombo L, Grini PE, Schnittger A, Kater MM. The emerging importance of type I MADS box transcription factors for plant reproduction. *Plant Cell*. 2011. március;23(3):865–72.

4.5. Fejezet Szeneszscencia és a növények halála

Írta: Ördögné Dr. Kolbert Zsuzsanna

Az előző fejezetekben bemutatásra került az, hogy bár a növények helyváltoztató mozgásra nem képesek, mégis egész életen át tartó (indeterminált) növekedéssel nagymértékben tudnak a környezeti feltételekhez alkalmazkodni. Felmerül a kérdés azonban, hogy ha a növények növekedése moduláris és indeterminált, nincsenek pótolhatatlan szerveik, és képesek az önmegújításra, akkor hogyan és miért öregednek és hálnak meg? Ebben a fejezetben erre a kérdésre adunk választ.

Tanulási célkitűzések:

Tudás:

- ismeri a szeneszscencia fogalmát
- fel tudja sorolni a növényi szeneszscencia értelmezésének szintjeit
- tudja ismertetni a növényi programozott sejthalál (PCD) jellemzőit
- képes felismerni a növényi és állati PCD közötti lényegi különbségeket
- el tudja különíteni és értelmezni a növényi PCD két folyamatát
- ismeri az autofagocitózis jelenségét, és tudja magyarázni azt
- ismeri és értse a levélöregedést szabályozó molekuláris és hormonális folyamatokat
- tudja értelmezni az egy/kétéves valamint az évelő növények öregedési folyamatai közötti különbségeket

Képesség:

- képes felismerni egy öregedő növényt/növényi szervet
- képes a növényi szeneszscencia folyamatának vizsgálatára a sejt, a szerv, és a növény szintjén

Attitűd:

- nyitott a növények öregedési folyamatainak mélyebb tanulmányozására

Autonómia/felelősség:

- kiáll az idős fák védelmének szükségessége mellett
- önállóan érvel amellett, hogy a növényi öregedési folyamatok a hozamot/termést pozitívan is befolyásolhatják

4.5.1. A szeneszscencia fogalma és szintjei

A szeneszscencia a növényi fejlődési program utolsó szakasza, egy degeneratív folyamat, ami időben szabályozott módon zajlik le. A kutatók régóta úgy gondolják, hogy egy evolúciósan szerzett stratégiáról van szó, ami szorosan összefügg a reprodukcióval és a túléléssel (1). A szeneszscencia további jellemzői, hogy energia-függő és autolitikus folyamat, amely a környezet és az egyedfejlődési program kölcsönhatásának az eredménye. Adott pontig visszafordítható, azon túl a szervezet pusztulásához vezet. Meg kell különböztetnünk a nekrozis fogalmát, ami külső hatásra, valamilyen fizikai károsodás miatt közvetlenül bekövetkező károsodás tünetegyüttese. A szeneszscencia több szinten értelmezhető és vizsgálható. Az egyedi sejtek belső öregedési programjának aktiválódása a programozott sejthalál (programmed cell death, PCD) folyamata. Az egyedi szervek öregedése kapcsán a levélszeneszscencia folyamata a leginkább ismert, emellett azonban a teljes növényegyed öregedéséről is beszélhetünk.

4.5.2. Programozott sejthalál

A többsejtű állatoknak és növényeknek időnként szükséges a feleslegben lévő, akadályt képező vagy potenciálisan veszélyes sejtjeiktől megszabadulniuk. Ezt egy genetikailag szabályozott folyamattal, a programozott sejthalállal (PCD) viszik véghez, ami együtt jár sejtek a protoplazmájának, és növényi sejtek esetén néha a sejtfallal az autolízisével.

A PCD szükséges a normális fejlődéshez, a szerv/növény szenteszcencia egyik alapvető folyamata, valamint biotikus/ abiotikus stresszre is indukálódhat. A PCD normál növekedésben betöltött szerepére találhatunk példát a megasporogenezis során, az endospermium és aleuron lebontása során, a trachea differenciálódás során, és a gyökérsüveg sejtek cseréje során. Az árasztás során bekövetkező átszellőztető alapszövet (aerenchima) képződés is a gyökér kéreg sejtjeinek programozott sejthalála révén valósul meg, csakúgy, mint az avirulens patogén fertőzésre indukálódó hiperszenzitív reakció (HR) során bekövetkező lokális sejthalál.

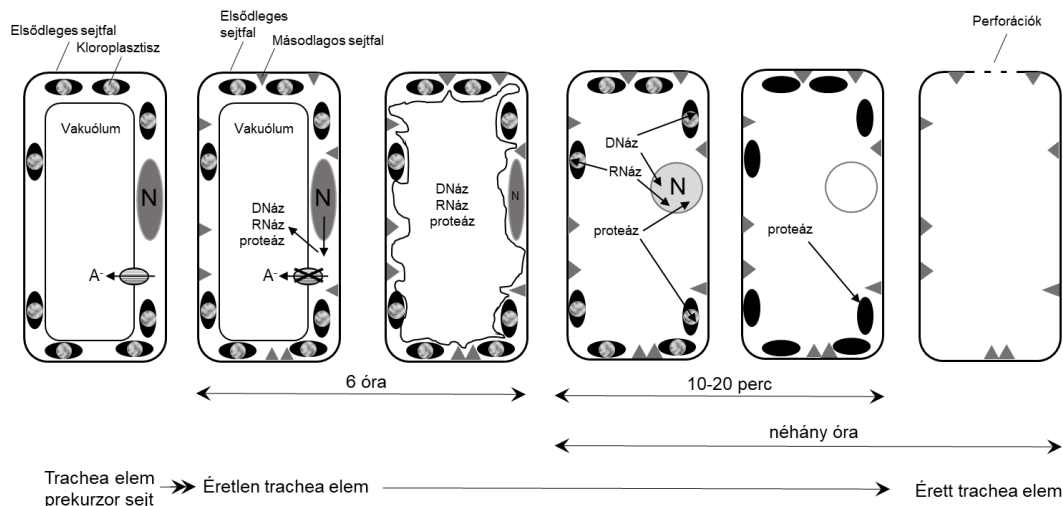
Habár a programozott sejthalál folyamatát növényi sejtek esetén írták le először, a PCD-hez vezető jelátviteli útvonalak felderítésére akkor irányult jelentős figyelem, mikor felismerték, hogy több humán betegség (pl. tumorok) kialakulása köthető a PCD jelátvitel zavarához. Ezért ismereteink többsége állati és humán sejtvonalakra vonatkozik (2).

A PCD-t fejlődési jelek vagy valamely, potenciálisan halálos esemény váltja ki, mint pl. patogén támadás vagy a sejtosztódás során a DNS replikációban bekövetkező hibák. Az állati sejtekben a PCD általában együtt jár egy sor morfológiai és biokémiai változással, amit összefoglaló néven apoptózisnak nevezünk (a görög szó a falevelek hullását jelenti, így tehát az elmúlásra utal). Az állati apoptózis fogalmát 1972-ben definiálták először (3), mely során jellemző morfológiai változás a sejtterület csökkenése, a membránok buborékosodása, citoplazma kondenzáció, kromatin kondenzáció, DNS degradáció (gélben "létraként" jelentkeznek), valamint az apoptotikus testek kialakulása. Az apoptotikus testek olyan vezikulák, amik a sejtmaradványokat tartalmazzák, és ezeket makrofágok távolítják el fagocitózissal. A folyamat egyúttal a mitokondriumok membránjában az ún. PT pórusok (permeability transition pores) kialakulásával, melyeken keresztül citokróm c kiáramlás történik. Ennek következtében aktiválódnak a kaspázok, melyek specifikusan az apoptózisban szerepet játszó cisztein-aszparát proteázok.

Néhány növényi sejt, különösképp az öregedő szöveteket alkotók, az állatokban leírtakhoz hasonló változásokat szenvednek el. Például a trachea elemek differenciációja során nukleázok és proteázok aktiválódása révén a sejtmag és a kromatin lebomlik és a citoplazma felszívódik. Általánosságban elmondható, hogy a növényi PCD hasonló az állati sejtek apoptózisához, de attól mégis eltér, hiszen ennek során nincs klasszikus apoptózis, nem alakulnak ki apoptotikus testek, viszont előfordulhatnak sejtmaradványok. A növényekben nincsenek kaspázok sem, csak kaspáz-szerű aktivitást mutató enzimek (metakaspázok) és egyéb proteázok (pl. metalloproteázok).

A növényi PCD két folyamatát írták le ezidáig. **Vakuoláris típusú** PCD jellemzi a floém tracheidák képződését. A PCD iniciációját követően a központi vakuólum hidrolitikus enzimeket (DNáz, RNáz proteáz) halmoz fel. A szerves anionok vakuólumba irányuló transzportja csökken, a vakuólum megduzzad. A másodlagos sejtfallal megjelenik, a vakuólum pedig összeesik, így a tonoplaszt áteresztővé válik, aminek következtében a hidrolitikus enzimek a citoplazmába kerülnek. A vakuólum összeesését követő 10-20 percen belül a floém tracheidák DNS állománya lebomlik. Néhány óra elteltével a trachea elemek közötti perforációk is megjelennek, és a sejtek elveszítik a plazmatartalmukat (2; 5.5.1. ábra).

A patogén támadásra bekövetkező folyamatok során bizonyos növényfajokban bekövetkezik az ún. **hiperszenzitív reakció (HR)**, mely a trachea differenciációtól eltérő molekuláris folyamatokkal jellemezhető. A HR egy gyors, lokális PCD, ami a patogén gomba vagy baktérium növényi szövetben való terjedését hivatott megakadályozni. A HR a patogén érzékelését követően aktiválódik, és nem csak a növényi sejtek programozott elhalását foglalja magában, hanem a patogén támadásra adott szabályozott növényi válaszokat is, mint amilyen az oxidatív és nitroztatív robbanás, fitoalexinek bioszintézise, a sejtfallal megerősítése, valamint helyi és szisztémás védelmi folyamatok.

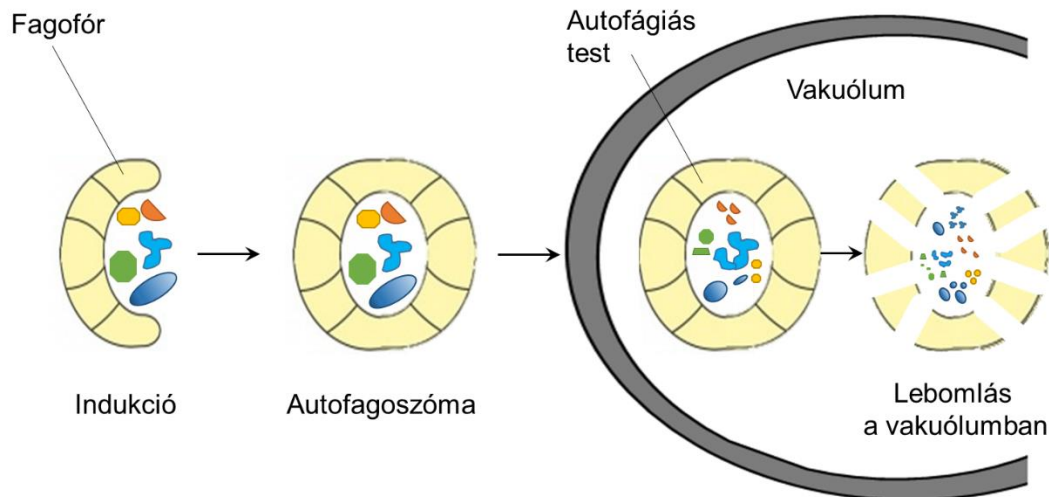


5.1.1. ábra A trachea elemek képződése PDC-vel. A PCD előrehaladásával a trachea elemek hidrolitikus enzimeket (DNázok, RNázok, proteázok) akkumulálnak a központi vakuólumukban. A szerves anionok (A^-) vakuólumba irányuló transzportja csökken. A trachea elemek vakuoláltsága fokozódik, a növekvő vakuólum a sejtmagot a falnak nyomja. A másodlagos sejtfal láthatóvá válik, és a vakuólum összeesik, aminek következtében a hidrolitikus enzimek kiszabadulnak a citoplazmába. A DNS gyorsan lebomlik. Néhány óra elteltével megjelennek a perforációk és az immár érett trachea elemek elveszítik plazmatartalmukat. (Ördögné Dr. Kolbert Zsuzsanna ábrája)

Az autofagocitózis (vagy autofágia) a károsodott fehérjék vagy organellek „turn over”-ét biztosító, az eukarióták körében konzervált folyamat. Károsodott, hibás vagy toxikus fehérjék, sejtorganellek kettős membránnal körülvett vezikulákba csomagolódnak és a lizoszómákba vagy a vakuólumba szállítódnak, ahol lebomlanak. A lebontásból származó melléktermékek újra felhasználódhatnak. Az autofagocitózisnak szerepe lehet a homeosztázis fenntartásában, hiszen a hibás, előregedett sejtszervek, molekuláris komponensek eltávolításán túl, az alkotóelemeik reciklizálását is lehetővé teszi. Szerepe lehet a növények fejlődése során is, hiszen a fejlődési átmenet során a feleslegessé vált sejtalkotók eltávolítását és reciklizálását végzi. Továbbá az autofagocitózis szerepet játszik a stresszfolyamatokban is a sejtalkotók alkotóelemeinek újrahasznosításában a védekezés fenntartásához (pl. HR során) (2). Ennek megfelelően az autofagocitózis indukciós jele többféle lehet pl. korokozók, oxidatív stressz, szárazság vagy szeneszcencia. Első lépésben az endoplazmatikus retikulumból csésze alakú ciszterna képződik, ez a fagofór. Ezután a fagofór kijelöli a megsemmisítendő citoplazmatikus komponenseket és záródik. Kialakul az autofagoszóma, megtörténik a vezikula transzportja majd degradációja. Az autofagocitózis folyamatában az ún. „AuTophagy related” (ATG) fehérjék vesznek részt, melyek homológjai növényekben is megtalálhatóak (4; 5.1.2. ábra).

4.5.3. Szerv szeneszcencia - a levél öregedése

A levél fejlődése során három fázison megy keresztül. A korai fejlődés során a levél tápanyagokat kap a növény más részeiből mindaddig míg el nem éri teljes fotoszintetikus kapacitását. Ezt követően a reproduktív fázisban a levél a növény fő forrásává lép elő, majd a szeneszcencia fázisába lép, mely során a legtöbb anyaga eltávolításra és újrafelhasználásra kerül. A levélöregedés tehát a levél fejlődés végső stádiuma. A növény fitnesze szempontjából lényeges folyamat, hiszen biztosítja a tápanyagok újra elosztását a szeneszcens szövetekből a reproduktív-, fiatal- vagy akár raktározó szövetekbe.



5.1.2. ábra Az autofagocitózis folyamata. Első lépésben az endoplazmatikus retikulumból fagofór alakul ki, mely kijelöli a bontásra ítélt sejtkomponenseket. A fagofór autofagoszómmá záródik, majd ennek membránja fúzionál a tonoplaszttal. Az autofagoszóma a vakuólumban lebomlik. (Ördögné Dr. Kolbert Zsuzsanna ábrája)

A növényvilágban nagy különbségek fedezhetők fel a levélszenescencia sebességét illetően. Pl. a kék hajnalka (*Ipomoea tricolor*) szíromlevelei a kinyílás után egy nappal már elhalnak, míg a simatűjű szálkásfenyő (*Pinus longaeva*) levelei 45 évig is életképesek maradhatnak (5). A levélöregedés három típusa különíthető el. A **szekvenciális** és a **szezonális szenescencia** az idősebb alsó levelekben kezdődik, míg a **stressz-indukált szenescencia** a stresszt elszenvedett régióból indul ki. A levélszenescencia célja a tápanyagok remobilizálása a floémen keresztül a növény növekvő részeibe vagy a termésbe. Genetikailag programozott folyamat, ami citológiai és biokémiai változásokat foglal magában. Sejtszintű mechanizmusai az autofagocitózis és vakuoláris PCD. A szenescencia-asszociált biokémiai folyamatok között említhetjük a klorofill tartalom csökkenését, RNS-, DNS-, lipid- és fehérje degradációt, antocianinok képződését. A fehérjék proteázok általi degradációja nitrogén remobilizációt tesz lehetővé aszparagin/glutamin aminosavak formájában. A lipidek lebontása a peroxisomális β -oxidáció folyamatában zajlik. A nukleinsavak nukleáz enzimek révén bomlanak le, mely folyamat lehetővé teszi a foszfor remobilizálását, míg a szénhidrátok lebontása energia felszabadulással jár. A levélöregedés szintén jellemző folyamata bizonyos esszenciális mikrotápelemek (pl. Fe, Zn, Mo) újraelosztása. A cukrok, nukleozidok, aminosavak a floémen keresztül szállítódnak a felhasználási helyekre, ahol újrahasznosulnak az anabolikus folyamatok során.

A szenescenciára kijelölt levél érzékeli a fejlődési vagy a környezeti jeleket, majd a fehérjebontás következtében nitrogén gyűjtőből (sink) nitrogén forrássá (source) válik, fotoszintetikus kapacitása csökken, és korai jelátviteli folyamatok indulnak be benne (**iniciáció**). A **degenerációs fázisban** a levél sejtek sejtalkotói és makromolekulái lebomlanak. A **termináció** során a levélsejtek integritása megszűnik, nukleáris és mitokondriális degeneráció, majd sejthalál és végül levélhullás következik be. Kiemelendő, hogy a sejtmag és mitokondrium ép marad a szenescencia terminációs fázisáig, hiszen a sejthalál új gének expresszióját és energiát is igényel.

A zöld levelekben a kloroplasztisz az első és fő célpontja az öregedésnek. Mind minőségi mind pedig mennyiségi változások történnek a pigmentekben, makromolekulákban, molekuláris szerkezetekben, tilakoid szerveződésben és a CO_2 fixálásban résztvevő enzimekben. A kloroplasztisz jellegzetes morfológiai változásokon megy keresztül, melyek eredményeként gerontoplasztisszá alakul: a gránumok szétesnek, a tilakoid membrán lebomlik, a lipidekből plasztoglobulinok alakulnak ki. A

gerontoplasztiszok osztódó képesek, és visszafordítható a fejlődésük, amíg el nem érnek egy végső terminációs szakaszt (5).

A kloroplasztiszokban a klorofill az ún. light harvesting komplexek (LHC) formájában található meg, melyek nagyméretű, membrán-asszociált klorofill-fehérje komplexek. Az LHC szeneszscencia-indukált lebontásáért a STAY GREEN fehérje (SGR) a felelős. Az enzimreakció eredményeként a fehérjerész felszabadul és újrahasznosulhat, a pigment molekula pedig több lépéses, enzimatis degradáción megy keresztül. A klorofill degradációs termékei fotoreaktívak és potenciálisan toxikusak, ezért sok lépéses biztonságos lebontásra és tárolásra (vakuólum) van szükség. Az SGR proteinnél kiderült, hogy destabilizálja a komplexet, ami szükséges előfeltétele a LHCP II apoprotein és a klorofill lebontásának. Ezt alátámasztja, hogy az öregedő *sgt* mutáns lúdfű zöld marad, a klorofill nem tud lebomlani, mert komplexben marad az LHCP-vel (6).

A lúdfű modellnövény levél öregedése során 827 gén expressziójának több mint háromszoros mértékű megváltozását mutatták ki. Az ún. **SAG gének** (senescence-associated genes) kifejeződése fokozódik. Ezek közé tartoznak stressz-kapcsolt gének, autofagocitózisban szereplő gének, reaktív oxigénforma (ROF) válasz gének, sejtfal és lipid lebontásban, valamint hormonális jelátvitelben szereplő gének. A gének egy másik csoportjának (pl. fotoszintézisben szereplő gének, háztartási gének) kifejeződése alulszabályozott a levélöregedés során, ezeket **SDG géneknek** (senescence-downregulated genes) nevezzük. A szeneszscencia kapcsolt gének kifejeződését a WRKY és NAC típusú transzkripciós faktorok szabályozzák. Guo és mtsai (7) azt találták, hogy az öregedő lúdfű levélben 130 transzkripciós faktor fejeződik ki.

A levélöregedés egy több hormon által szabályozott folyamat (8). Az öregedést serkentő (etilén, ET; abszcizinsav, ABS; jázmonsav, JA; brasszinoszteroid, BS; szalicilsav SA) és az anti-szeneszscencia (citokinin, CK; auxin, gibberellinsav, GS) hormonok egyensúlya szabja meg az öregedési folyamatok elindulását és sebességét. A hormonok szeneszscenciára gyakorolt hatása függ az adott szervtől ill. a kiváltó októl. Az ABS esetében amíg a külsőleg adott hormon levél szeneszscenciát okoz, addig az endogén ABS szeneszscenciát gátol. Ez utóbbit támasztja alá az ABS szintézisben hibás lúdfű vonal vad-típusnál korábbi levélöregedése. Más növényi részben a hormonhatás ettől eltérő. Például a magvak aleuron rétegének sejtjei PCD-t szenvednek el GS jelenlétében, az ABS viszont gátolja a folyamatot. Az ET az öregedés pozitív regulátora, amit alátámaszt az, hogy az ET jelátviteli mutánsok (*etr1*, *erf4/8*) a vad-típusnál később mutatnak levélszeneszscenciát. Továbbá ET gázzal történő kezelés a vad-típussal ellentétben nem okoz öregedést az ET-inszenzitív *etr* mutánsban, ami szintén arra utal, hogy funkcionális ET jelátvitel szükséges a levélöregedés folyamatához. Az ET hatásával kapcsolatban megemlíthető az ún. szeneszscencia ablak elmélet, mely szerint a fiatal növény még nem érzékeny, az idős növényegység pedig már nem érzékeny az ET szeneszscencia indukáló hatására. Vagyis a növény fejlődésében van egy ET-függő öregedési periódus ("ablak"), amit egy ET-független szeneszscencia szakasz követ (9). A CK a tápanyagok áramlását irányítja, hiszen magas CK koncentráció tápanyag (nitrogén) „vonzást” eredményez („sink” aktivitás). Ezáltal a magas CK tartalmú növényi részek (virágok, fejlődő termések, rügyek) öregedése a tápanyagok többlete miatt lelassul, míg az idősebb levelek szeneszscenciája fokozódik (10). A citokininnel ellentétben a SA előmozdítja a levélszeneszscenciát, hiszen jelátviteli mutánsa ill. hiánya késlelteti az öregedést. Kimutatták azt is, hogy a klorofill lebomlásával egy időben nő a SA endogén koncentrációja a levélben. A SA kezelés szeneszscencia-kapcsolt WRKY transzkripciós faktorokat aktivál, ezáltal szükséges számos SAG gén expressziójához. Továbbá a SA koncentráció- és időfüggő módon serkenti a ROF (H₂O₂) képződést a szeneszscens levélben (8).

A levélszeneszscencia kapcsán említést kell tenni a levélleválás folyamatáról is. A mérsékelt övi lombhullató fák fontos alkalmazkodási folyamata ez, melyet az ET és az auxin hormonok kölcsönhatása szabályoz. A levélfenntartási fázisban a levéllemez nagy auxin koncentrációja csökkenti az abszcissziós zóna ET érzékenységet. A levélleválás indukciós fázisában az auxin mennyiségének csökkenése az abszcissziós zóna ET érzékenységének fokozódását okozza, így a levél leválása indukálódik. Az abszcissziós fázisban a levélnyel sejtjeinek falkomponenseit az ET-által indukált enzimek bontják, a megduzzadó sejtek elválnak egymástól, a levél pedig leszakad (10).

4.5.4. Teljes növény szenescencia

A növényvilág fajainak élettartama nagyban különbözik, hiszen ismert olyan faj (pl. *Thymus chamaedrys*), mely élettartama csupán néhány hét, míg más -főként fás szárú- fajok (pl. *Pinus longaeva*) egyes példányai több ezer évig is élhetnek (11).

Az egyéves növények (pl. búza, kukorica, szója) röviddel a terméshozás után öregednek majd elpusztulnak, míg a kétéves növények (pl. káposztafélék, petrezselyem, sárgarépa) az első év vegetatív növekedése és tápanyag felhalmozása, valamint a második év reprodukciós periódusa után mutatnak szenescenciát. Ezeket az életük során egyszer magot hozó, egy- és kétéves növényeket monokarpikus növényeknek, az öregedési folyamatukat pedig **monokarpikus szenescenciának** nevezzük. Ahhoz, hogy a monokarpikus szenescencia megtörténjen, három eseménynek kell bekövetkeznie: 1. a hajtás apikális merisztéma növekedésének leállása, és lehetséges szenescenciája, 2. a szomatikus szervek (pl. levél) és szövetek szenescenciája, 3. a hónaljgyök növekedésének gátlása, ezáltal pedig az újabb növekedési folyamatok megakadályozása (12).

Mint az előzőekben is láttuk, a szenescencia oka a tápanyagelosztásának megváltozása, vagyis a tápanyagok vegetatív szervektől virágba majd termésbe áramlása. Ennek magyarázata az lehet, hogy a növény „feláldozza magát” a szaporodás, vagyis az utódok sikeressége érdekében. Ennek kísérletes igazolására példa a szója virágainak eltávolítása következtében fennmaradó zöld állapot. A **polikarpikus, élő növényfajok** képesek fenntartani a vegetatív állapotukat a virágzást követően is. Az esetükben a hajtás merisztéma nem determinálódik, annak folytonos növekedése megakadályozza az öregedést (13). A kötelező érvényű kivételek közé tartozik a közönséges agavé (*Agave americana*) és a bambusz (*Phyllostachis bambusoides*), melyek élőek, de monokarpikus szenescenciát mutatnak. A polikarpikus élő növények esetében programozott, egész növényt érintő szenescencia nem mutatható ki. Ezek a polikarpikus élő növények tehát elvileg halhatatlanok, amit bizonyít, hogy a legidősebb, jelenleg is élő fák tartoznak közéjük (pl. simatőjű szálkásfenyő, tiszafenyő). A polikarpikus élőek halálát rövidebb-hosszabb idő alatt bekövetkező és általánossá váló működési elégtelenségek okozzák (mint pl. víz- ill. tápanyagfelvételi probléma, sérülés, kórokozók, stressz, tűz), ami miatt nem tudják a homeosztázisukat fenntartani. A hanyatlás általános tünetei a levél hiány, ágelhalás, lombkorona elvékonyodása, levél sárgulás és hullás a lombkorona csúcsától kiindulva (11).

Összefoglalás

1. A szenescencia (öregedés) a növényfejlődés utolsó szakasza, energia-igényes, programozott folyamat. Értelmezhető a sejtek szintjén (programozott sejthalál, PCD), egy szerv szintjén (pl. levélöregedés) és a teljes növény szintjén is.
2. A PCD részt vesz:
3. a normális fejlődésben (pl. megasporogenezis, trachea képződés)
 - i. -a szerv/növény szenescenciában
 - ii. -a biotikus és abiotikus stresszben
4. A növényi és állati PCD közötti eltérések: növényekben nem alakulnak ki apoptotikus testek, nincsenek kaszpázok.
5. A növényi PCD két típusa: vakuoláris és hyperszenzitív reakció (HR)
6. Az autofagocitózis (vagy autofágia) a károsodott fehérjék vagy organellek „turn over”-ét biztosító folyamat, mely során a lebontandó anyagok kettős membránnal határolt fagoszómába csomagolódnak, majd lebomlanak.
7. A levélszenescencia három típusa: szekvenciális, szezonális, stressz-indukált.
8. A levélszenescencia három szakasza: iníciáció, degeneráció, termináció.
9. A zöld levelekben a kloroplasztisz az első és fő célpontja az öregedésnek. Morfológiai és biokémiai átalakulások révén gerontoplasztisszá alakul.

10. A fotokémiai rendszerek fénybegyűjtő klorofill-protein komplexei destabilizálódnak a STAY GREEN fehérje aktivitása révén.
11. A levélszenescencia során indukálódó géneket SAG géneknek (senescence-associated genes, pl. sejtfal-, lipidbontó gének), az alulszabályozottakat SDG (senescence downregulated genes, pl. fotoszintézis gének) géneknek nevezzük.
12. Öregedést serkentő hormonok: etilén, abszizinsav, jázmonsav, brasszinoszteroid, szalicilsav és anti-szenescencia hormonok: citokinin, auxin, gibberellinsav.
13. Az életük során egyszer magot hozó, egy- és kétéves növényeket monokarpikus növényeknek, az öregedési folyamatukat pedig monokarpikus szenescenciának nevezzük.
14. A polikarpikus, évelő növényfajok képesek fenntartani a vegetatív állapotukat a virágzást követően is. Az esetükben a hajtás merisztéma nem determinálódik, annak folytonos növekedése megakadályozza az öregedést.
15. A polikarpikus évelők halálát rövidebb-hosszabb idő alatt bekövetkező és általánossá váló működési elégtelenségek okozzák (mint pl. víz- ill. tápanyagfelvételi probléma, sérülés, kórokozók, stressz, tűz).

Ellenőrző kérdések

1. Mely sejtorganellumoknak van szerepe a növényi és az állati PCD-ben?
2. A PCD-n kívül milyen folyamatokat foglal magában a HR?
3. Mely sejtalkotónak van kiemelt szerepe az autofagocitózis során?
4. Mi a levélszenescencia célja?
5. Melyek a szenescencia-asszociált biokémiai folyamatok a levélöregedés során?
6. Mely fehérjék játszanak szerepet a LHC komplexek szenescencia-indukált destabilizációjában?
7. Mi az a „szenescencia ablak”, és mely hormon hatását magyarázza?
8. Melyik hormon a levélleválás negatív regulátora?
9. Mivel magyarázható a polikarpikus, évelő növények kvázi „halhatatlansága”?

Megvitatandó kérdések

1. Milyen tényezőktől függ egy sejt, szerv vagy növényegyed öregedése?
2. Ha a növények indeterminált növekedésűek, hogyan és miért öregszenek?
3. Mi lehet az oka, hogy a növényi és állati PCD eltér?
4. Miért fontos a növényi szenescencia kutatása?

Javasolt irodalom

1. Gan S (szerk.) Senescence processes in plants. Blackwell Publishing, UK. 2007.
2. Taiz L, Zeiger E (szerk.). Plant Physiology – 5th edition. Sinauer Associates Inc., USA, 2010.

Felhasznált irodalom

1. Wu RH, Masclaux-Daubresse C, Lim PO. Plant senescence: how plants know when and how to die. *J. Exp. Bot.* **69**, 715–718 (2018).
2. Palavan-Unsal N, Buyuktuncer E-D, Tufekci MA. Programmed cell death in plants. *J. Cell Mol. Biol.* **4**, 9-23 (2005).

3. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br. J. Cancer.* **26**, 239–257 (1972).
4. Kwon S, Park OK. Autophagy in Plants. *J. Plant Biol.* **51**, 313–320 (2008).
5. Thakur N, Sharma V, Kishore K. Leaf senescence: an overview. *Ind. J. Plant Physiol.* **21**, 225–238 (2016).
6. Grassl J, Pružinská A, Hörtensteiner S, Taylor NL, Millar AH. Early Events in Plastid Protein Degradation in stay-green *Arabidopsis* Reveal Differential Regulation beyond the Retention of LHCII and Chlorophyll. *J. Proteome Res.* **11**, 5443–5452 (2012).
7. Guo Y, Cai Z, Gan S. Transcriptome of Arabidopsis leaf senescence. *Plant Cell Environ.* **27**, 521–549 (2004).
8. Khan M, Rozhon W, Poppenberger B. The Role of Hormones in the Aging of Plants – A Mini-Review. *Gerontology* **60**, 49–55 (2014).
9. Graham LE, Schippers JHM, Dijkwel PP, Wagstaff C. Ethylene and Senescence Processes. In: McManus MT (Ed) *Annual Plant Reviews Volume 44: The Plant Hormone Ethylene*, 2012. pp 305–341.
10. Erdei László (szerk.). *Növényélettan – Növekedés - és fejlődésélettan*. JATEPress Szeged, Magyarország, 2011.
11. Munné-Bosch S. Aging in Perennials, *Critical Reviews in Plant Sciences*, **26**, 123–138 (2007).
12. Davies PJ, Gan S. Towards an Integrated View of Monocarpic Plant Senescence. *Russian J. Plant Phys.* **59**, 467–478 (2012).
13. Albani MC, Coupland G. Comparative Analysis of Flowering in Annual and Perennial Plants. *Current Topics in Developmental Biology* **91**, 323–348 (2010).