

A nitrogén metabolizmusban kulcsszerepet betöltő glutamin szintetáz enzim indikátorszerepének vizsgálata abiotikus stressznek kitett búza növényekben (T 46692)

Zárójelentés

1. Bevezetés, a kutatási program áttekintése

A szárazföldi növények helyhez kötött életmódjuk miatt egy behatárolt, szűk tér erőforrásait felhasználva építik fel testük molekuláit. Metabolizmusuk két fő feladat ellátására összpontosul: a C váz felépítésére, illetve a szerves N redukciójára és szén vázhoz kapcsolására. A két oldal kémiai reakciói szoros regulációs kölcsönhatásban vannak, a C/N metabolizmus érzékenyen reagál bármelyik oldalt érintő változásokra. A növények a környezet hatásaival szemben, melyek gyakran abiotikus stresszként jelentkeznek, minél teljesebb mértékben igyekeznek homeosztázisukat fenntartani. Ennek sikere meghatározza az egyed sikerét, a növény egyedfejlődésének, életciklusának folyamatát.

A gabonafélék a legfontosabb szerepet töltik be a világelelmezésben, emberi és állati táplálékforrásként jelentőségük az ezredforduló után is tovább nő. Mérsékelt becslések szerint Földünk népessége 8-8,5 milliárdra nő 2025-re, és 10 milliárdra 2050-re, ezért az emberiség táplálékkal való ellátásához a gabonatermelés mennyiségének akkorra meg kellene duplázódnia (1). Borlaug szerint (1) mindez 80%-ban a termésátlagok, 20%-ban pedig a termőterület növelésével lehet elérhető. Véleményünk szerint a nemesítés küldetése, hogy bőtermő, a legkülönbébb környezeti stresszeknek ellenálló gabonafajtákat állítson elő. Szándékunk szerint ezt a célt jelen pályázatban ismerttetett kutatásaink jól szolgálják.

Hazánkban, mind a búza vetőmag, mind pedig az árugabona exportcikként is igen jelentős tényező. Az új, hazai, intenzív búzafajták előállítására lényegesen növelte a búza terméshozamát az elmúlt évtizedekben, és a bőséges és jó minőségű gabonatermés környezeti feltételei a Kárpát-medencében általában adottak. Ugyanakkor, a biztonságos termést veszélyeztető, igen sokféle, biotikus és abiotikus jellegű stressztényezővel a növényeknek továbbra is együtt kell élni a szántóföldön. A szélsőséges pH-jú talajokon fellépő stressztényezők a termést igen nagymértékben csökkenthetik, de súlyosabb esetben vízhiánnyal párosulva az is előfordulhat, hogy a gabonafélék még kalászosítás előtt elsárgulnak, majd elpusztulnak.

A **szárazságstressz** és az alacsony pH-jú talajokon megjelenő **alumínium toxicitás** hatásának vizsgálata kutatásunk célja. Ez a két abiotikus stressz látszólag nem vizsgálható együttesen, támadáspontjuk sokféle, az ismert tolerancia mechanizmusok nem esnek egybe.

A kutatásaink kiválasztott enzime, a **glutamin szintetáz** azonban a N metabolizmusban betöltött központi szerepe, illetve az enzimfehérje sajátos molekuláris felépítése miatt mindkét stresszhatásnak célpontja, bár eltérő módon. A glutamin szintetáz (GS, EC 6.3.1.2) a nitrogén metabolizmus esszenciális reakcióját, a legkülönbébb forrásokból származó ammónia szén vázhoz (glutaminsav) kapcsolását végzi valamennyi élőlényben (lsd. reakcióegyenlet lejjebb). Bár vannak eltérések a prokariota (dodekamer) és az eukariota (oktamer) GS felépítésében, azonban az enzim katalitikus centrumának szerkezete nagymértékben konzervált, és a reguláció is mutat hasonlóságot (46).

in vivo:



A növényekben két izoenzimet találunk, mely lokalizációban és élettani szerepében különbözik. A GS1 citoplazmatikus, szerepe a felvett ammónia, ill. a deaminációs, proteolitikus, N-mobilizációs folyamatokból származó ammónia glutaminná alakítása. A kloroplasztisban lokalizált GS2 szubsztrátja a nitrát asszimiláció eredetű ammónia, ill. a C₃-as fajokban (mint a búza is) fontos szerepe a fotorespiráció során a *Rubisco* oxigenáz aktivitása következtében termelődő ammónia re-asszimilálása, detoxifikálása. A növényekben a GS szerepét 3 fő élettani folyamathoz köthetjük: i.) primér N asszimiláció, ii.) fotorespiráció, iii.) a szenescencia katabolikus reakciói (aminosav és fehérje-lebontás, remobilizáció).

Hipotézis I.

Szárazságstressz esetén a növény C/N metabolizmusa megváltozik, a *sink/source* viszonyok átrendeződnek. A GS izoenzim arányának, aktivitásának változása alkalmas ennek kimutatására.

A glutamin szintetáz fémtartalmú (Mg²⁺) enzim, minden alegységének 2-2 eltérő affinitású fémion kötőhelye strukturális ill. katalitikus tulajdonságokat határoz meg. Az enzim *in vitro* alkalmas egyes fémion stresszek, pl. az alumínium stressz tesztelésére.

Hipotézis II.

Az alumínium (szerves komplexe) GS fémkötőhelyén képes kapcsolódni, az enzim aktivitását megváltoztatni. A szerves ligandum módosítja az Al³⁺ viselkedését, toxikus hatását.

A fentiek figyelemvételével *kutatásunk célja* az volt, hogy

- a glutamin szintetáz enzim stressz-indikátor szerepét *in vivo* és *in vitro* igazoljuk;
- a N metabolizmus tanulmányozásával rámutassunk azokra a *sink/source* viszonyok átrendeződésén alapuló növényi stratégiákra, amelyek szárazságstressz esetén hatékonyan biztosíthatják a merisztémák (fejlődő szemtermés) túlélését;
- teszteljük és jellemezzük különféle búzafajtákat;
- megvizsgáljuk az Al(III) szerves komplexeinek hatását a GS aktivitására, ennek ismeretében csoportosítsuk a ligandumokat, rámutassunk a növényekben előforduló potenciális szerves ligandumok Al-toxicitást módosító hatására, az Al-toxicitás kivédésében, toleranciában való szerepükre, az Al közvetlen hatását a GS aktivitására.

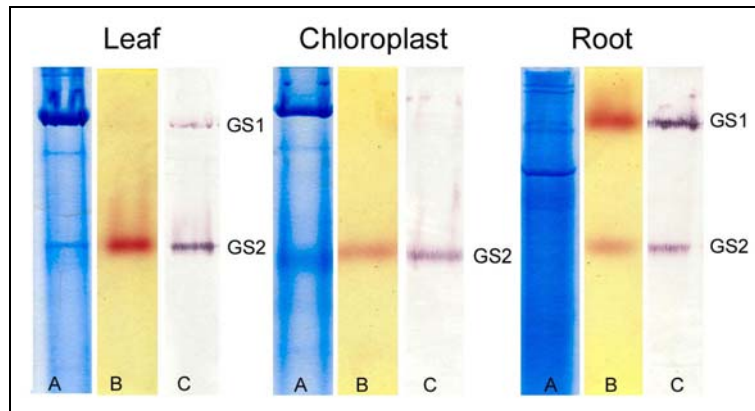
2. Eredmények

A pályázat kutatási tervében részletezett kísérleteket maradéktalanul elvégeztük. A zárójelentésben a két legjelentősebb kutatási eredményt részletezem, melyek publikálása folyamatban van.

2.1. A glutamin-szintetáz stressz indikátor szerepe a magfeltöltődés idején szárazságstressznek kitett búzafajtákban (Pécsváradi et al. 2008a)

A kísérletsorozatban szárazságstressznek ellenálló, különböző mértékben toleráns, és érzékeny fajtákat vizsgáltunk. A növényeket üvegházi körülmények között talajban neveltük fel (Guóth et al. 2008). A vízelvonást a kalászhasban állapot kezdetekor indítottuk 50% mértékben, a mintavétel az antézist követő 9. napon történt. A növényegyedek teljes levélzetét vizsgáltuk, minden levélben külön-külön megmértük a teljes glutamin szintetáz (GS, EC 6.3.1.2) aktivitást, a teljes oldható fehérjetartalmat, nem denaturáló poliakrilamid gélelektroforézissel történő elválasztást követően, mely intakt, aktív oktamerként megőrzi az enzimet, GS specifikus antitesttel azonosítottuk a GS izoformákat: a citoplazmikus GS1-et és a kloroplasztiszban lokalizált GS2 formát (1.ábra). A kimutatás forrásaként gyökérből, levélből és izolált kloroplasztiszból származó fehérjekivonatokat használtunk.

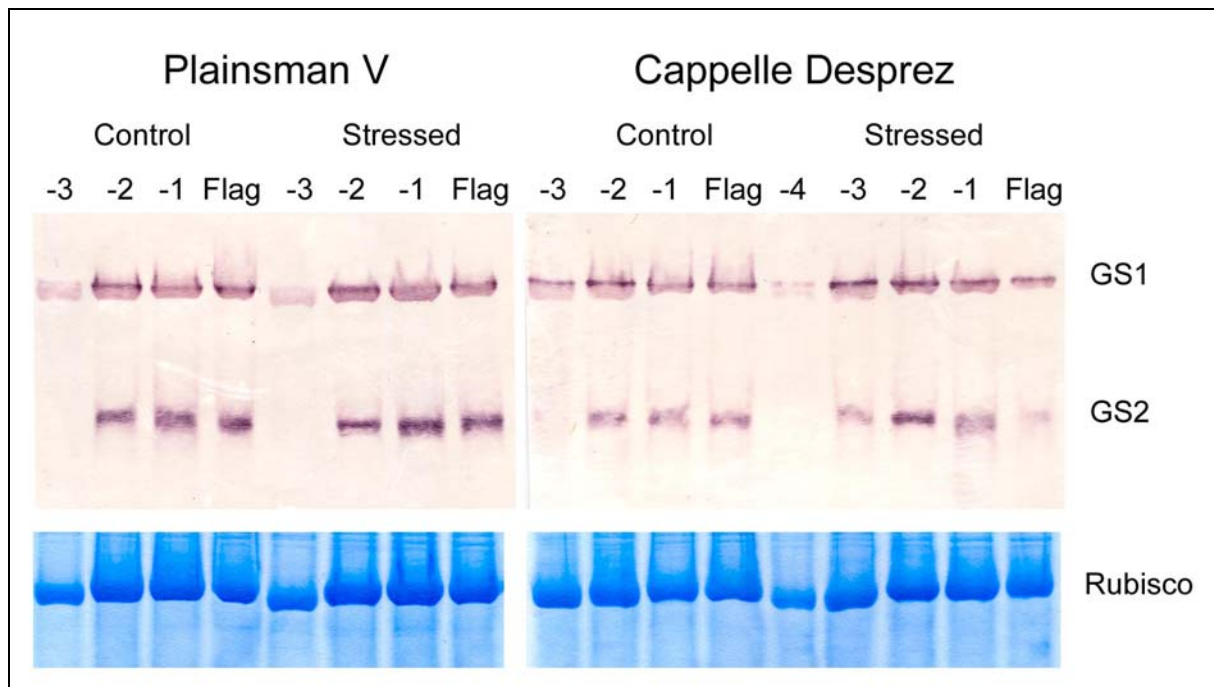
A búza levelében mindkét izoenzimből egy-egy féle fehérje fordul elő (ezt 2D elektroforézissel is igazoltuk). A levélből származó mintában mind mennyiségileg, mind az aktivitásokat tekintve a plasztidikus GS2 forma domináns, ahogy ez a C₃-as növényekre általánosan jellemző. Kifejlett, optimális életműködést mutató levélben a GS2 aktivitáshoz mérten a GS1 aktivitása csekély. Ezért a kivonatokban az *in vitro* kolorimetriás enzim teszt főként a GS2 aktivitását tükrözi.



1. ábra. A glutamin szintetáz izoenzimeinek azonosítása búza növény szerveiből származó fehérjekivonatokban, nem denaturáló poliakrilamid gélelektroforézist követően (48). A: Coomassie festés; B: a GS aktivitásának kimutatása a gélben; C: Western blot, alkalikus foszfatáz jelölés.

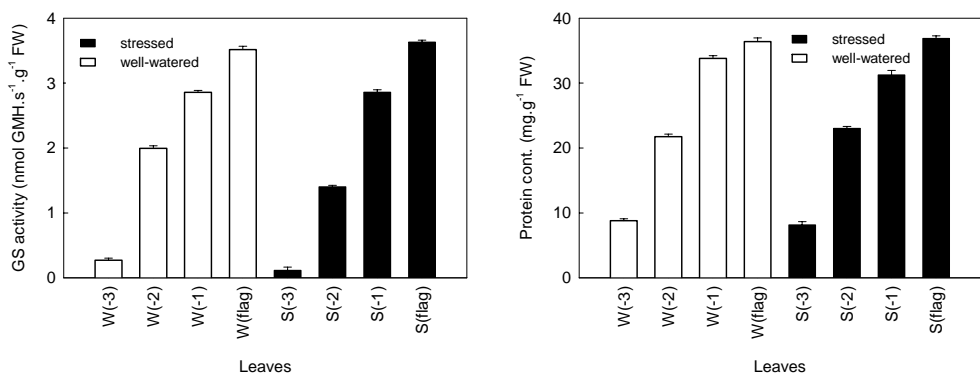
A kloroplasztisz ill. a levél legnagyobb mennyiségben található fehérjéje (főként a C_3 növényekben, így búzában is) a *Rubisco* (ribulóz-1,5-biszfoszfát karboxiláz/oxigenáz) (41, 42), amely a CO_2 és RuBP reakcióját katalizálja, a szénhidrát asszimiláció alapvető folyamatát. A *Rubisco* mennyisége elérheti a levél oldható fehérjetartalmának 50-80%-át, a benne foglalt N tartalom a teljes levélbeni mennyiség 20-30%-át (43, 44, 45). Kézenfekvő a levelekben a *Rubisco*-t a hosszú távú N raktározás egy formájának tekinteni. Más fehérjékkel összehasonlítva gyorsabban remobilizálódik a szeneszscencia során, és az asszimilált N felesleg a C asszimiláció oldal jelentősebb terhelése nélkül *Rubisco*-vá szintetizálódhat (43). Ez a fehérje a legfőbb N forrás a mag feltöltődése során.

A levél oldható fehérjetartalmában a *Rubisco* a domináns fehérje, ezért úgy gondoljuk, hogy a fehérjetartalom meghatározása alkalmas a *Rubisco* mennyiségi változásának egyszerű jellemzésére. A nem denaturáló gélelektroforézis egyetlen telített domináns sávként mutatja ki ezt a fehérjét: a levélből és kloroplasztiszból származó kivonatokban a GS1 felett Coomassie-vel festődő sáv (1. ábra *Leaf A*, és *Chloroplast A*). Az optimális vízellátású, ill. szárazságstressznek kitett mintákban ezek a paraméterek jelentős eltérést mutattak a fajta szárazságtoleranciája, érzékenysége szerint. A Plainsman V (toleráns), Cappelle Desprez (érzékeny) fajtákban is meghatároztuk ezeket a jellemzőket (2.-5. ábra).

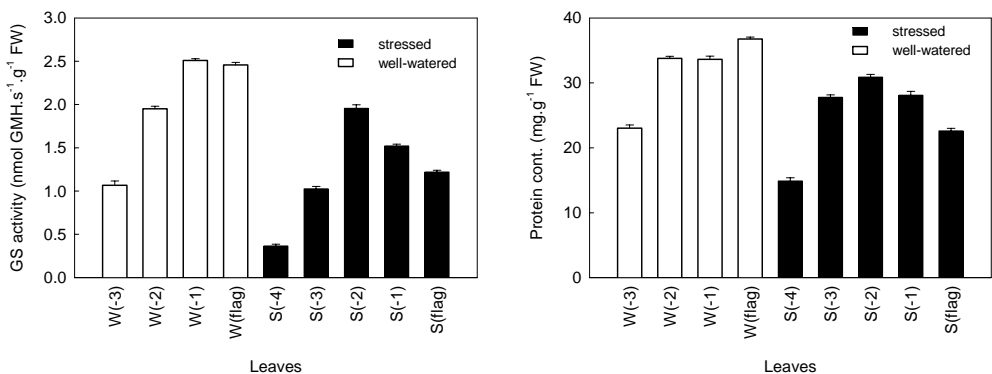


2. ábra. A glutamin szintetáz izoenzimek és a *Rubisco* mennyiségének alakulása az optimálisan öntözött (*Control*) és szárazságstressznek kitett (*Stressed*) búza növények leveleiben (a zászlós levél (Flag), ill. az alatta levő levélszintek (-1, -2, -3, -4)). GS: GS specifikus antitesttel végzett Western blot; *Rubisco*: Coomassie festés.

A 2., 3. ábra adatai azt mutatják, hogy mind a GS aktivitás mind a fehérjetartalom, ezen belül a *Rubisco* mennyisége, a kontroll (jól öntözött) mintákban, az idősebb levelektől a legfiatalabb, kifejlett levélig (zászlós levél) egyenletesen emelkedő gradienst mutat. Az idős levelekben (-3, -2) ezek a paraméterek egyértelműen bizonyítják a szenescencia különböző mértékben előrehaladott folyamatát: alacsony GS összaktivitás, degradált GS2 forma, alacsony fehérjetartalom, csökkent *Rubisco* mennyiség azt jelzik, hogy a levél asszimilációs „source” jellege degradatív „source” jellegűvé vált, ezekben az öregedő levelekben iniciálódott és folyamatban van a plasztiszban raktározott fehérjék lebontása, mobilizálása, transzlokálása a fiatal „sink” szervek felé. A GS1 sávjának jellegzetes felerősödése is alátámasztja ezt, mivel szerepe a plasztisz degradálásából származó ammónium transzlokálható N formává, első lépésben glutaminná történő alakítása. A GS1 és GS2 arány eltolódása a GS1 javára egyértelmű indikátora a kloroplasztisz funkcionális hanyatlásának. Ezt a párhuzamosan végzett fotoszintézis, ABA tartalomvizsgálatok is alátámasztják (Guóth et al. 2008).



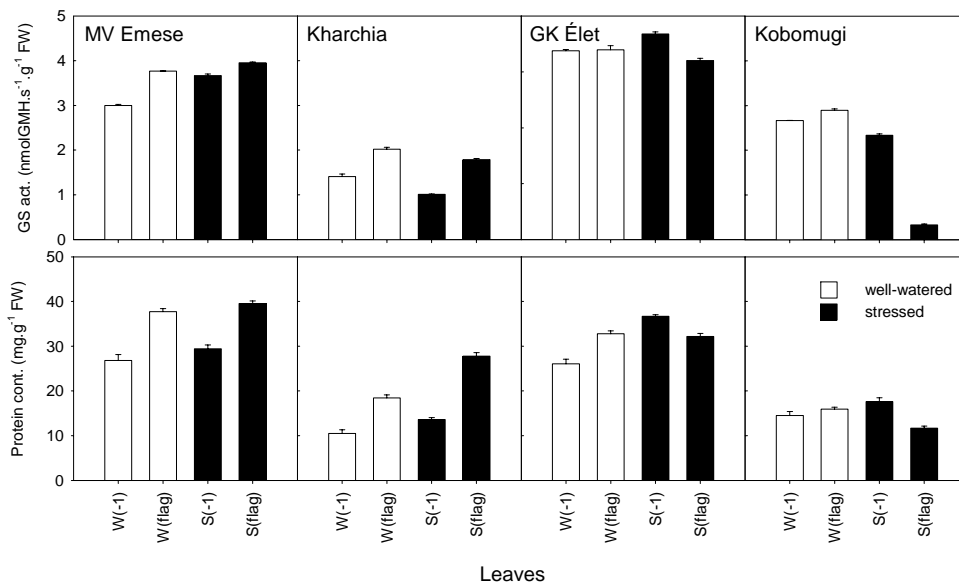
3. ábra. Glutamin szintetáz aktivitás (balra) és a fehérjetartalom (jobbra) a szárazságnak ellenálló Plainsman V búzafajta leveleiben.



4. ábra. Glutamin szintetáz aktivitás (balra) és a fehérjetartalom (jobbra) a szárazságérzékeny Cappelle Desprez búzafajta leveleiben.

A toleráns fajták levélzetében a tolerancia mértékétől függően ezek a gradiensek fennmaradnak. A kevésbé toleráns fajta levélzetében meredekebbé válik, amit korai öregedésként, felgyorsult szenescenciaként értelmezhetünk. Lényeges azonban, hogy a toleráns fajtákban a zászlós levél asszimilációs „source” jellege megmarad, és a többi még részlegesen funkcionális levéllel együtt hosszabb ideig támogatni képes a magfeltöltődés folyamatát.

A szárazságstresszre érzékeny fajta (Cappelle Desprez) levélzetében a szukcesszív öregedés megváltozik. A 2., 4. ábra adatai azt mutatják, hogy ez a fiziológiai és metabolikus gradiens megtörik, elkezdődik a legfiatalabb (zászlós) levél öregedése. A korai degradatív „source”-szá alakulás, a levél C és N tartalmának mobilizálása csökkenti a lehetséges termés mennyiségét, csak korlátozott szemfeltöltődést tesz lehetővé. Ez a reakció a felső levelek gyors öregedéséhez vezet, a mobilizálódás az alsóbb levelekben nem válik teljessé. A szenzitív fajok stratégiája ellentétes a toleráns fajtákban kimutatott szukcesszív öregedés és C, N mobilizálás stratégiájával.



5. ábra. Glutamin szintetáz aktivitás (fent) és a fehérjetartalom (lent) néhány eltérő szárazságérzékenyséű búzafajta felső két levelében.

A kísérleteink eredményei azt mutatják, hogy az *in vitro* GS assay, amely a két GS izoforma összaktivitását jelzi, önmagában alkalmas, egyszerű eszköz a búzafajták szárazságstressz toleranciájának jellemzésére. Egy olyan kísérleti összeállításban, amelyben öntözött kontroll is rendelkezésre áll, legalább a két legfelső kifejlett levél vizsgálata értékelhető eredményt ad, lehetővé teszi a toleráns fajták összehasonlítását (5. ábra). Az érzékeny fajtákat vizsgálva szántóföldi minta esetében akár öntözött kontroll nélkül is alkalmazható a GS enzimaktivitás mérése az érzékenység megállapítására: a teljes levélzetben mért aktivitásgradiens megléte bizonyos mértékű toleranciát bizonyít.

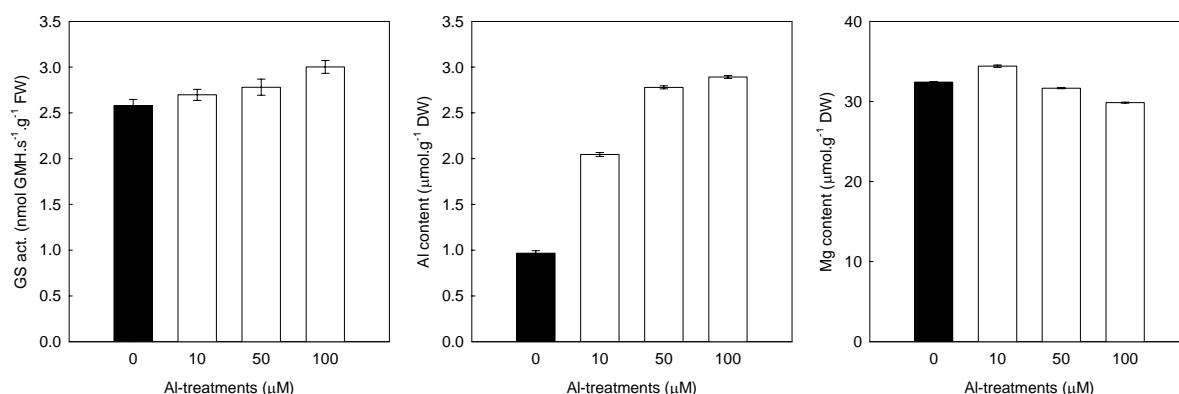
A glutamin szintetáz indikátor szerepének igazolása az alapja annak, hogy a szárazságstressz tolerancia tesztelésére kifejlesztendő DNS chip tartalmazza majd a GS1 GS2 géneket is.

2.2. A glutamin-szintetáz aktivitás részletes vizsgálata alumíniumkezelésnek kitétt növényekben (Pécsváradai et al. 2008b)

A talaj savassága önmagában is stressztényező, ami gyakran jár együtt alumínium toxicitással. A növény gyökérzete mindig érintkezhet az alumínium valamely formájával. Szerencsére a legtöbb Al ártalmatlan oxid vagy alumino-szilikátként fordul elő (3). Az alumíniumot nem tekintjük esszenciális tápelemnek, azonban alacsony

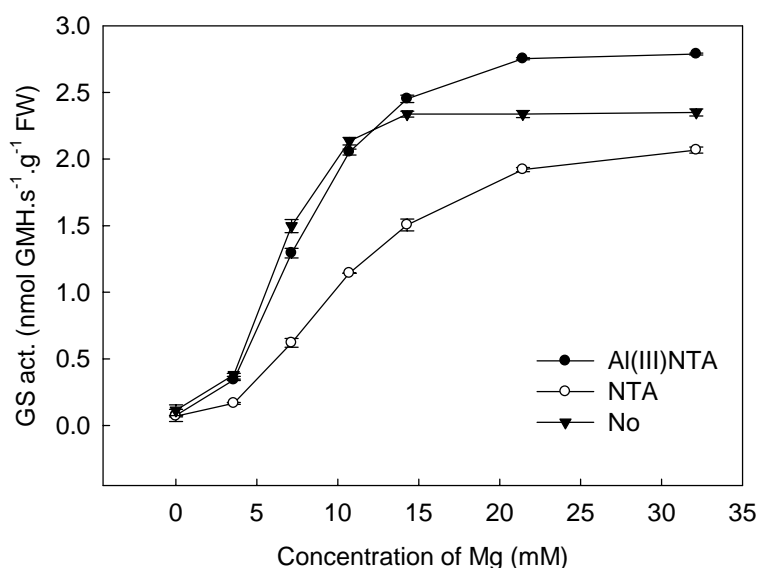
koncentrációban néha jótékony hatással van a növények növekedésére (4, 5, 6). Az alumínium toxicitás fontos tényezővé válik alacsony pH-jú talajokon, és ez a Föld megművelhető területeinek mintegy 40%-át jelenti. A $\text{pH} < 5,0$ környezetben az alumínium oldódik és a legtoxikusabb trivalens kationként (Al^{3+}) mikromoláris koncentrációban a legkülönbébb módon gátolja a növények életműködéseit (7 - 11). A legszembeötlőbb Al toxicitás szimptóma a gyökér növekedésének gyors gátlása (12 - 17, 47). Az alumínium toxicitás molekuláris mechanizmusa nem ismert. Általánosságban, gátolja a gyökércsúcsi és oldalgyökér merisztéma osztódását, keresztkötéseket hoz létre a sejtfal pektinmolekulái között, fokozza a sejtfal rigiditását, a DNS cukor-foszfát gerincéhez kötődve csökkenti a replikációt, merevvé teszi a kettős hélixet, talajban immobilizálja a foszfátot, csökkentve a felvehetőségét, gátolja a membrántranszportot, csökkenti egyes esszenciális elemek (Ca, Mg, K, P és Fe) felvételét és transzportját (18 - 26) és ismert, hogy több enzim aktivitását, regulációját is megváltoztatja (27 - 30).

Vannak Al-toleráns növényfajok és fajták, amelyek hatásos biokémiai mechanizmussal rendelkeznek, és képesek túlélni a toxikus Al-specieseket tartalmazó környezetben. A toleranciában központi szerepe van azoknak a szerves savaknak, amelyek stabil Al(III) komplexet képesek fenntartani mind extracelluláris, mind a magasabb intracelluláris pH-n. Több mint egy tucatnyi toleráns növényt írtak le, amelyek ellenálló képessége ezen az elven alapul, gyökereik szerves savakat szekretálnak (31, 32). Búzában és kukoricában a citrát és malát anionok szekréciónak mutatták ki (33, 34). A szerves sav kiválasztás az alumíniumkezelést követő 30 percen belül kimutatható volt (33, 35). Létezik specifikus transzport rendszer a szerves savak számára a plazmamembránban, búzában és kukoricában azonosítottak erre célra alkalmas anion csatornákat, melyeket Al^{3+} kationok aktiválnak (36 - 39). Al-toleráns búzában ezt egyetlen lokuszként azonosították (36). A szerves ligandumok alapvetően meghatározzák az Al növénybeli viselkedését (40).



6. ábra. A glutamin szintetáz aktivitás, az alumínium és magnézium az in vivo alumíniummal kezelt búza csíranövények leveleiben. A növényeket hidroponikusan neveltük 3 fázisban: 2 d $0,5 \text{ mM CaSO}_4$ ($\text{pH } 5,6$), 2 d komplett tápoldat (2), 5 d $0,5 \text{ mM CaSO}_4 + 1 \text{ mM KNO}_3 + (\text{pH } 4,0) + \text{Al}^{3+}$. Az első teljesen kifejlett levelet használtuk a tesztekhez.

Rövid időtartamú alumíniumkezelésnek kitett búza csíranövények leveleiben meghatároztuk a GS aktivitást (6. ábra, bal), és azonos mintában parallel az Al és Mg tartalmat (ICP-AES) (6. ábra, középső, jobb). Ez az alumínium kezelés szignifikánsan emelte a levél GS aktivitását. A Mg tartalmat belső referenciának tekintve, megbecsültük a levélbeli Al^{3+} koncentrációt, amit a későbbi in vitro tesztekben alkalmaztunk. Ez millimoláris nagyságrendűnek adódott.

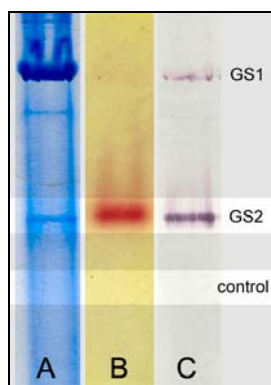


7. ábra. Az Al(III)NTA 1:1 komplexszel kezelt glutamin szintetáz aktivitása, növekvő magnézium koncentráció mellett. A GS tartalmú fehérjekivonatot 7 napos búza csíranövények első leveléből készítettük. A reakcióelegyhez 10 mM alumínium komplexet (Al(III)NTA) vagy a ligandumot (NTA), vagy vizet (No) adtunk. Az Al(III)NTA növelte az enzimaktivitást, amit a γ -glutamil monohidroxamát (GMH) képződéssel detektáltunk.

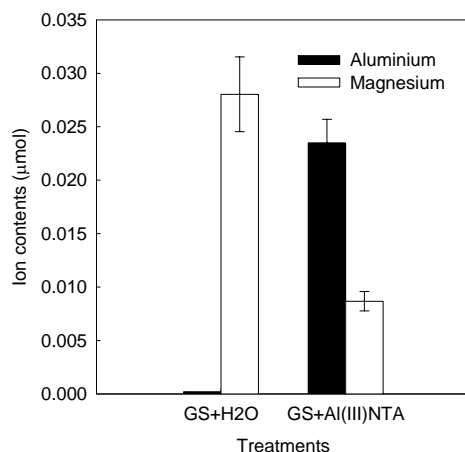
In vitro kinetikai kísérletben 9 féle szerves ligandumot vizsgáltunk. Közülük a laktát, a nitrilo-triacetát (NTA), az imino-diacetát (IDA) Al(III) komplexe aktiváló hatásának bizonyult (7. ábra). Az NTA a növények számára 10 mM koncentrációban sem toxikus, biológiailag lebontható kelátor (49 - 53). Az Al(III)komplexek aktiváló hatása szorosan összefügg az adott pH értéken tapasztalható speciációjukkal. A GS in vitro reakció pH-ja 7,2, ezen a pH értéken az Al(III)NTA komplex stabil, $AlA(OH)$ (89,7 mol%) és az $AlA(OH)_2$ formák (9,61 mol%) a domináns specicsenek. Összevetve ezt a többi aktiváló komplexével, az $AlA(OH)_2$ forma jelenléte felelős az aktiváló hatásért. Ez azt jelenti, hogy a kinetikai tesztben alkalmazott 10 mM helyett csak 0,96 mM a hatásos forma koncentrációja (ez jól egyezik az in vivo kalkulált adattal). A kinetikai görbék azt mutatják, hogy az Al funkcionálisan nem helyettesíti a magnéziumot, ez a görbék azonos felszálló ágából látható, ill. nem kompetitívek, a növekvő Mg^{2+} koncentráció nem csökkenti az Al(III)NTA aktiváló hatását. Ezek az eredmények azt mutatják, hogy a két

fémion két eltérő fémkötő helyet foglal el, mely végső soron az aktivitás növekedését okozza.

In vitro Al(III)NTA komplexszel kezelt fehérjekivonatból, nem denaturáló poliakrilamid gélelektroforézist követően izoláltuk a GS2 sávot, és ebből ICP-AES segítségével szimultán meghatároztuk a Mg és Al tartalmát. (Minden gél egy részében detektáltuk a GS2 aktivitás pozícióját, ennek alapján izoláltuk az intakt gélmaradékból a GS2-t tartalmazó sávot) (8. ábra).



8. ábra. A plasztidikus glutamin szintetáz (GS2) elektroforetikus elválasztása és azonosítása. A 7 napos búza csíranövények leveleiből származó fehérjekivonatot, nem denaturáló poliakrilamid gélelektroforézissel elválasztottuk (48), a GS izoformákat anti-GS-elsődleges antitesttel detektáltuk. A: Coomassie festés; B: GS aktivitás kimutatása a gélben; Western blot, alkalikus foszfatáz jelölés. A világos sávok jelzik a fémanalízisre kimetszett gélcsíkokat.



9. ábra. A gélből izolált GS2 enzim magnézium és alumínium tartalma. A búza levelekből származó fehérjekivonathoz 10 mM végkoncentrációban Al(III)NTA komplexet adtunk, ill. a kontroll esetében ezt vízzel helyettesítettük. Az így kezelt kivonatot nem denaturáló poliakrilamid gélen elválasztottuk, a GS2-t tartalmazó sávot izoláltuk, a fémtartalmát ICP-AES segítségével meghatároztuk.

A 9. ábra mutatja az így izolált GS fehérjék fémion tartalmát. A kezeletlen GS2 kizárólag Mg-ot tartalmaz, az Al(III)NTA-val a futtatás előtt kezelt és a gélből izolált GS2-ben pedig

mindkét fémion jelen van. Látható, hogy a fémkötő helyek egy részét alumínium, ill. magnézium foglalja el. Összegezve a két ion mennyiségét, megközelítőleg a kontrollra jellemző Mg értékét ($0,0282 \pm 0,0035$ és $0,0322 \pm 0,0031$ μmol) kapjuk, ami azt bizonyítja, hogy mindkét fémion kötődése a GS oktamer specifikus fémkötő helyein történt.

Saját publikációk:

Zsoldos, F., Vashegyi, Á., Pécsváradi, A. and Bóna, L.

Aluminium toxicity in roots: correlation between root elongation and potassium fluxes in aluminium-sensitive and aluminium-tolerant cereal species.

Acta Acad. Paed. Agrimensis, Sectio Biologiae, 25: 159-167, 2004.

Fábián, A., Zsoldos, F., Vashegyi, Á., Bóna, L. and Pécsváradi, A.

Experiments on posttranslational regulation of glutamine synthetase activity. 7th International Symposium on Inorganic Nitrogen Assimilation. Wageningen – The Netherlands, June 23-27, 2004.

Abstracts, P-11, p: 69, 2004.

Zsoldos, F., Vashegyi, Á., Pécsváradi, A. and Bóna, L.

Influence of phosphate supply on aluminium toxicity in cereal species.

Cereal Res. Commun., 32: 509-516, 2004.

Pécsváradi, A., Vashegyi, Á., Hadár, E., Varga, B., Bóna, L. and Zsoldos, F.

Response of rice seedlings to aluminium stress with varying phosphate supplies. (poster lecture) VIII. Magyar Növényélettani Kongresszus, VI. Magyar Fotoszintézis Konferencia, Szeged, 2005. augusztus 22-25.

Pécsváradi, A., Vashegyi, Á., Hadár, E., Varga, B., Bóna, L. and Zsoldos, F.

Response of rice seedlings to aluminium stress with varying phosphate supplies.

Acta Biol. Szeged., 49: 107-109, 2005.

Guóth A., Tari I., Gallé Á., Csiszár J., Pécsváradi A., Cseuz L. and Erdei L.

Drought response strategies under grain filling in wheat. Changes in physiological parameters, ABA levels and grain yield

Physiol. Plant. (2008) (in preparation)

Pécsváradi A., Varga A., Guóth A., Gallé Á., Zsoldos F., Bóna L. and Erdei L.

Drought response strategies under grain filling in wheat. Indicatory role of glutamine synthetase

Physiol. Plant. (2008a) (in preparation)

Pécsváradi A., Nagy Z., Vashegyi Á., Labádi I., Galbács G. and Zsoldos F.

Chloroplastic glutamine synthetase is activated by direct binding of aluminium

Plant Physiol. Bioch. (2008b) (submitted)

Felhasznált irodalom

- [1] Borlaug, NF and Doswell CR (1996) The acid lands: one of agricultures's last frontiers Abst. Keynote Address p ii. Plant Soil Interaction at Low pH Int. Symp. March 17-24, 1996. Belo Horizonte, Brazil.
- [2] Zsoldos F., Haunold E., Vashegyi Á. (1989) The effects of phosphate supply on uptake of potassium ions, 2,4-D and atrazine by wheat and maize, *Physiol. Plant.* 68 154-158.
- [3] Ma, JF, Ryan, PR, Delhaize, E (2001) Aluminium tolerance in plants and the complexing role of organic acids. *Trends in Plant Sci.* 6: 273-278.
- [4] Foy, CD (1983) The physiology of plant adaptation to metal stress, *Iowa State J. Res.* 57 :355-391.
- [5] Foy, CD, Fleming, AL (1982) Aluminium tolerance of two wheat cultivars related to nitrate reductase activities, *J. Plant. Nutr.* 5: 1313-1333.
- [6] Foy, CD, Chaney, RL, White, MC (1978) The physiology of metal toxicity in plants, *Annu. Rev. Plant Physiol.* 29: 511-566.
- [7] Kochian, LV (1995) Cellular mechanisms of aluminum toxicity and resistance in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 46: 237-260.
- [8] Alam, SM, Adams, WA (1979) Effects of aluminum on nutrient composition and yield of roots. *J. Plant Nutr.* 1: 365-375.
- [9] Foy, CD (1974) Effect of aluminium on plant growth, in: Carson, E.W. (Ed.), *The Plant Root and its Environment*, Charlottesville, Univ. Press, Virginia, pp. 601-642.
- [10] Foy, CD (1988) Plant adaptation to acid, aluminium toxic soils, *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 19: 959-987.
- [11] Roy, AK, Sharma, A, Talukder, G (1988) Some aspects of aluminium toxicity in plants. *Bot. Rev.* 54: 145-177.
- [12] Bennet, RJ, Breen, CM, Fey, MV (1991) The aluminium signal: new dimensions of aluminum tolerance. *Plant and Soil* 134: 153-166.
- [13] Delhaize, E, Ryan, PR (1995) Aluminium toxicity and tolerance in plants. *Plant Physiol.* 107: 315-321.
- [14] Kochian, LV (1995) Cellular mechanisms of aluminium toxicity and resistance in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. and Plant Mol. Biol.* 46:237-260.
- [15] Marschner, H (1991) Mechanisms of adaptation of plants to acid soils. *Plant and Soil* 134: 1-20.
- [16] Ryan, PR, DiTomaso, JM, Kochian, LV (1993) Aluminium toxicity in roots. An investigation of spatial sensitivity and the role of root cap. *J. Exp. Bot.* 44: 437-446.
- [17] Taylor, GJ (1988) The physiology of aluminium phytotoxicity. in: Sigel H, Sigel A (Eds.). *Metal ions in Biological systems*. Vol. 24, Marcel Dekker Publ., New York, pp. 123-163.
- [18] Fleming, AL, Schwartz, JW, Foy, CD (1974) Soil: Aluminium toxicity in plants. *Agron. J.* 66: 715-719.
- [19] Foy, CD (1984) Physiological effects of hydrogen, aluminium and manganese toxicities in acid soils. in: Adams F (Ed.), *Soil Acidity and Limiting*. Second Edition, Amer. Soc. Agron., Madison, Wisconsin, pp. 57-97.
- [20] Nichol, BE, Oliveira, LA (1995) Effects of aluminium on the growth and distribution of calcium in roots of an aluminium-sensitive cultivar of barley (*Hordeum vulgare*). *Can. J. Bot.* 73: 1849-1858.
- [21] Cronan, CS (1991) Differential adsorption of Al, Ca, and Mg by roots of red spruce (*Picea rubens* Sarg.). *Tree Physiol.* 29: 511-566.
- [22] Meharg, AA (1993) The role of the plasmalemma in metal tolerance in angiosperms. *Physiol. Plant.* 88: 191-198.
- [23] Caldwell, CR (1989) Analysis of aluminum and divalent cation binding to wheat root plasma membrane proteins using terbium phosphorescence. *Plant Physiol.* 91: 233-241.
- [24] Suhayda, CA, Haug, A (1986) Organic acids reduce aluminium toxicity in maize root membranes. *Physiol. Plant.* 68: 189-195.

- [25] Zsoldos, F, Vashegyi, Á, Bóna, L, Pécsváradi, A and Szegletes, Zs (2000) Growth of and potassium transport in winter wheat as affected by various Aluminum exposure times. *J. Plant Nutrition* 23:913-926.
- [26] Zsoldos, F, Vashegyi, Á, Pécsváradi, A, Bóna, L (2003) Influence of silicon on aluminium toxicity in common wheat and durum wheat. *Agronomie*, in press.
- [27] Tyler, G, Pahlsson, AM, Bengtsson, G, Baath, E, Tranvik, L (1989) Heavy metal ecology and terrestrial plants, micro-organisms and invertebrates: a review. *Water Air Soil Pollut.* 47:189-215.
- [28] Slaski, JJ (1990) Response of calmodulin-dependent and calmodulin-independent NAD kinase to aluminium in root tips from various cultivated plants. *J. Plant Physiol.* 136. 40-44.
- [29] Haug, AR (1984) Molecular aspects of aluminium toxicity. *CRC Critical Rev. Plant Sci.* 1: 345-373.
- [30] Copeland, L, DeLima, ML (1992) The effect of aluminium on enzyme activities in wheat roots. *J. Plant Physiol.* 140: 641-645.
- [31] Ma, JF (2000) Role of organic acids in detoxification of aluminum in higher plants. *Plant Cell Physiol.* 41: 383-390.
- [32] Ryan, PR *et al.* (2001) Function and mechanism of organic anion exudation from plant roots. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 52: 527-560
- [33] Delhaize, E *et al.* (1993) Aluminum tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.) II. Aluminum stimulated excretion of malic acid from root apices. *Plant Physiol* 103: 695-702
- [34] Pellet, DM *et al.* (1995) Organic acid exudation as an aluminum-tolerance mechanism in maize (*Zea mays* L.). *Planta* 196: 788-795
- [35] Zheng, SJ *et al.* (1998) High aluminum resistance in buckwheat. I. Al-induced specific secretion of oxalic acid from root tips. *Plant Physiol.* 117: 745-751.
- [36] Zhang, WH *et al.* (2001) Aluminum activates malate-permeable channels in the apical cells of wheat roots. *Plant Physiol.* 125: 1459-1472.
- [37] Ryan, PR *et al.* (1997) Aluminum activates an anion channel in the apical cells of wheat roots. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 94: 6547-6552.
- [38] Pineros, MA and Kochian, LV (2001) A patch clamp study on the physiology of aluminum toxicity and aluminum tolerance in *Zea mays*: identification and characterization of Al³⁺-induced anion channels. *Plant Physiol.* 125: 292-305.
- [39] Kollmeier, M *et al.* (2001) Aluminum activates a citrate-permeable anion channel in the Al-sensitive zone of the maize root apex: a comparison between an Al-sensitive and an Al-tolerant cultivar. *Plant Physiol.* 126: 397-410.
- [40] Kertész, S, Fábrián, A, Zsoldos, F, Vashegyi, Á, Labádi, I, Bona, L and Pécsváradi, A (2002) Changes in glutamine synthetase activity in presence of aluminium complexes. *Acta Biol. Szeged.* 46(3-4): 103-104.
- [41] Evans, JR. (1983) Nitrogen and photosynthesis in the flag leaf of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Physiology* 70: 1605-1608.
- [42] Sage, RF, Pearcy, RW, Seemann, JR. (1987) The nitrogen use efficiency of C3 and C4 plants. I. Leaf nitrogen, growth, and biomass partitioning in *Chenopodium album* (L.) and *Amaranthus retroflexus* (L.). *Plant Physiology* 84: 954-958.
- [43] Lawlor, DW, Lemaire, G, Gastal, F (2001) Nitrogen, plant growth and crop yield. In: Lea PJ, Morot-Gaudry J-F, eds. *Plant nitrogen*. Berlin: Springer-Verlag, 343-367.
- [44] Peoples, MB, Beilharz, VC, Waters, SP, Simpson, RJ, Dalling, MJ (1980) Nitrogen redistribution during grain growth in wheat (*Triticum aestivum* L.). II. Chloroplast senescence and degradation of ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase. *Planta* 81: 484-500.
- [45] Evans, JR, Seemann, JR (1989) The allocation of protein nitrogen in the photosynthetic apparatus: costs, consequences and control. In: Briggs, W (ed) *Photosynthesis*. Alan R Liss, New York, pp. 183-205.

- [46] Eisenberg D., Gill H.S., Pfluegl G.M.U., Rotstein S.H. (2000) Structure-function relationships of glutamine synthetases, *Biochim. Biophys. Acta* 1477:122-145.
- [47] Kochian L.V., Piñeros M.A., Hoekenga O. (2005) The physiology, genetics and molecular biology of plant aluminum resistance and toxicity. *Plant and Soil* 274:175-195.
- [48] Laemmli U.K. (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4, *Nature* 227:680-685.
- [49] Quartacci M.F., Irtelli B., Baker A.J.M., Navari-Izzo F. (2007) The use of NTA and EDDS for enhanced phytoextraction of metals from a multiply contaminated soil by *Brassica carinata* *Chemosphere* 68:1920-1928.
- [50] Quartacci M.F., Baker A.J.M., Navari-Izzo F. (2005) Nitriolotriacetate and citric acid-assisted phytoextraction of cadmium by Indian mustard (*Brassica juncea* (L.) Czernj, Brassicaceae), *Chemosphere* 59:1249-1255.
- [51] Raley A.T., Sharma N.C., Sahi S.V., Singh S.R., Sajwan K.S. (2006) Effects of lead and chelators on growth, photosynthetic activity and Pb uptake in *Sesbania drummondii* grown in soil, *Environ. Pollut.* 144:11-18.
- [52] Ward T.E. (1986) Aerobic and anaerobic biodegradation of nitriolotriacetate in subsurface soils, *Ecotox. Environ. Safe.* 11:112-125.
- [53] Wenger K., Gupta S.K., Furrer G., Schulin R. (2003) The role of nitriolotriacetate in copper uptake by tobacco. *J. Environ. Qual.* 32:1669-1676.