

**Doktori értekezés tézisei**



*Albert Zsolt*

**ALMA ÉS PAPRIKA EXOKARPIUMOK SZÖVETI ÉS  
MOLEKULÁRIS BIOLÓGIAI JELLEMZÉSE KÜLÖNBÖZŐ  
FEJLETTSÉGI ÁLLAPOTOKBAN ÉS A TÁROLÁS SORÁN**

**Kertészettudományi Doktori Iskola**

Budapesti Corvinus Egyetem  
Növényélettan és Növényi Biokémia Tanszék

Budapest  
2014

A doktori iskola

megnevezése: Kertészettudományi Doktori Iskola

tudományága: Növénytermesztési és kertészeti tudományok

vezetője: Dr. Tóth Magdolna, egyetemi tanár, DSc  
Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar,  
Gyümölcsstermő Növények Tanszék

Témavezető: Dr. Papp István, egyetemi tanár, PhD  
Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar,  
Növényélettan és Növényi Biokémia Tanszék

A jelölt a Budapesti Corvinus Egyetem Doktori Szabályzatában előírt valamennyi feltételnek eleget tett, az értekezés műhelyvitájában elhangzott észrevételeket és javaslatokat az értekezés átdolgozásakor figyelembe vette, ezért az értekezés védési eljárásra bocsátható.

.....  
Dr. Tóth Magdolna  
Az iskolavezető jóváhagyása

.....  
Dr. Papp István  
A témavezető jóváhagyása

## **Bevezetés**

A növényi kutikula élettani, biokémiai és növényvédelmi szempontból is nélkülözhetetlen határfelület, kertészeti szempontból majd minden termesztett kultúra életében jelentős a szerepe. A kutikuláris paraméterek által kialakított növényi tulajdonságok egyik legfontosabb aspektusa a növényi vízháztartásban betöltött szabályozó funkciója.

## **Irodalmi áttekintés**

A kutikula a legkülsőbb növényfelszíni struktúráként minden olyan folyamatban szerephez jut, mely a növényi felszínen vagy azon keresztül zajlik: párologtatás szabályozása, lipofil vegyületek transzportja, vízzel szembeni felszíni védőréteg kialakítása, fotoszintetikus pigmentrendszer védelme a beérkező sugárzás csökkentésén keresztül, morfogenezis során határoló ágens, biotikus interakciók színhelye (Jenks és Ashworth, 1999, Riederer és Müller, 2006).

A vízháztartásra gyakorolt hatás vizsgálatának alapjául gyakran a paprika termését választották, lévén a termés felszínén nem található sztóma, az egyetlen szabályozó struktúra a kutikula. Mára a kutikulán keresztül zajló vízvesztésben ismertek a különböző érettségi stádiumok között megjelenő eltérések is (Díaz-Pérez *et al.*, 2007). Jelentős eltérések mutatkoznak a fajták között is, ezen eltérések hűtőtárolással és csomagolással kereskedelmi szempontoknak kedvezően módosíthatók (Zsom, 2007). A kutikula

molekuláris összetevőiben megjelenő eltérések szintén jelentősen befolyásolják a vízvesztést, így például a kutikuláris triterpenoidok és szterolok mennyiségének növekedése elősegíti a vízvesztés növekedését (Parsons et al., 2012).

Felépítését tekintve három főbb részből épül fel, ezek a kutin, mely egy depolimerizációra képes polimerekből álló mátrix, a kután, mely szintén polimer mátrix ám depolimerizációra képtelen, és a kutikuláris viaszok, mely utóbbi csoport kutikulában való elhelyezkedését tekintve tovább csoportosítható intrakutikuláris- és epikutikuláris viaszokra (Pollard *et al.*, 2008). Egészében különböző mikroszkópos technikákkal vizsgálható, komponenseinek mennyiségi és minőségi paraméterei pedig a felszínről való oldószeres leoldását követően válnak vizsgálhatóvá.

Mivel mind a kutin, mind a viaszok a zsírsavak bioszintézisének útvonalából vezethetők le, így a szintézisükben, modifikációjukban szerepet játszó gének között átfedés jelenik meg (Pollard *et al.*, 2008). A kutin bioszintézisben szerepet játszó géneket három nagyobb családba sorolták, ezek CYP86A géncsaládba sorolt zsírsav-oxidázok, az acil-aktivátor enzimek a LACS géncsaládban, és a GPAT géncsalád aciltranszferázai. A fenti géncsaládokban eddig sikeresen azonosították többek között a LACS2-t kódoló gént, mely acil-koenzim-A-szintetáz funkciót kódol (Pollard *et al.*, 2008), illetve a *lacerata* mutáns LCR génjét, melynek sérülése posztgenitális szervfúziókat okozott, amiből a LCR zsírsavak  $\omega$ -hidroxilációjában betöltött szerepére, ezzel együtt pedig a kutin bioszintézisében való fontosságára mutattak rá.

További, posztgenitális szervfúziók megakadályozásának kontextusában említik a *hothead* és *fiddlehead* mutánsokat (Krolikowski *et al.*, 2003, Pruitt *et al.*, 2000). A géntermékek intra- és extracelluláris transzportjának lépéseiről, illetve az ebben részt vevő kulcsenzimekről jórészt csak feltételezések állnak rendelkezésre, azonban egy ABC transzporter gén, a WBC11, mely a kutikuláris viaszok szekréciójában játszik szerepet a CER5 génnel feltételezett együttműködésben végső soron hozzájárulnak a kutin kialakításához (Bird *et al.*, 2007, Bird, 2008).

A kutikuláris viaszok bioszintézisében részt vevő enzimek számos szempont szerint csoportosíthatók, funkciójukat tekintve ismertek lánchosszabbítást végző elongázok, tiolos észtercsoportot hidrolizáló tioészterázok, redox reakciókat katalizáló reduktázok és oxidázok, karbonilcsoport eltávolítását katalizáló dekarbonilázok és acilcsoport transzportját ellátó transzacylázok (Jenks és Ashworth, 1999). Az egyes viasz-komponensek bioszintézise a kloroplasztisz zsírsavszintéziséből vezethető le, mely az acetát láncának meghosszabbítását jelenti két szénatomonként. A kész zsírsavlánc mérete a kloroplasztiszból kijutva az endoplazmatikus retikulumhoz kötött FAE (zsírsav-elongáz) enzimkomplex segítségével gyarapodik tovább, létrehozva a VLCFA-nak (nagyon hosszú zsírsav) nevezett vegyületcsoportot. A VLCFA-k további átalakítása a sejten belül alapvetően két útvonalat követhet. Az acil-redukciós útvonalon a primer alkoholok és viasz-észterek keletkeznek, a dekarbonilációs anyagcsereúton pedig az aldehidek, alkánok,

szekunder alkoholok és ketonok szintézise zajlik (Kunst és Samuels, 2003).

## Célkitűzés

Az alma kutikulájának vizsgálata azért került kutatásunk középpontjába, mert az alma a kertészeti termesztés egyik meghatározó növénye Magyarországon. Gyümölcse általában hosszú idejű tárolás után kerül értékesítésre, tárolhatóságát az apadás befolyásolja. Az apadás a kutikulán keresztül történő vízvesztés, amit a kutikula összetétele és struktúrája nagy valószínűséggel befolyásolnak. A vizsgálatainkat molekuláris és növényélettani paraméterek meghatározásával terveztük végrehajtani. *In silico* meg kívántuk keresni azon géneket, melyek szerepet játszanak a kutikuláris struktúrák kialakításában, és célul tűztük ki ezen gének expressziós vizsgálatát. Ezek az eredmények később nemesítési programokban felhasználható lehetnek. Ehhez egy megbízhatóan működő, referenciaként szolgáló kontrollrendszert is ki szeretnénk volna alakítani, mely kontrollgénekkal a génexpressziós vizsgálataink eredményei egzakt módon kvantifikálhatók lesznek. Mindezek mellett célul tűztük ki a termések betakarítását követő vízvesztés vizsgálatát is, valamint a termés exokarpiumának és kutikulájának fénymikroszkópos, és az esetleges ultrastrukturális eltérések felderítésére konfokális lézer pásztázó mikroszkópos vizsgálatát is.

A paprika egy másik kiemelt jelentőségű kertészeti termék Magyarországon. A termesztett paprika egy részét szárított örleményként értékesítik, így vízvesztésének közvetlen gazdasági jelentősége is van. A paprika termés kutikuláris paraméterek által kialakított tulajdonságainak vizsgálata azért jelentős, mert a termés nem borítják sztómák, így a párologtatás legszámottevőbb szabályozója maga a kutikula. Célunkként határoztuk meg a termések posztharveszt párologtatásának vizsgálatát különböző fajtákon és érettségi állapotokban, így a kutikula szerepének fejlődés során történő esetleges változásait is azonosíthatjuk. A kutikula szerepét indirekt módon, annak eltávolításával bizonyíthatjuk, ezért egy olyan kezelt csoporttal kívánjuk eredményeinket összevetni, mely tagjait kutikularétegüktől megfosztunk. Meg kívánjuk határozni a felületi viaszréteg tömegét, és konfokális lézer pásztázó mikroszkópos mérések segítségével esetleges ultrastrukturális különbségeket kívánunk keresni különböző fajtájú paprikák kutikulájában.

## **Anyag és módszer**

A vizsgálatainkhoz használt paprikák a *Capsicum annuum* L. 'Titán', 'Hó' és 'Kárpia' fajtái voltak, az almák pedig a *Malus x domestica* Borkh. 'Gegesi zöld', 'Prima' és 'Florina' fajtái. A 'Hó' és 'Titán' fajtákat érintő vizsgálathoz a növények terméseit három eltérő fejlődési fázisban szedtük, ezek kereskedelmi definíciókkal meghatározva a félméretű, éretlen és érett (szedési érettség)

állapotok voltak. A vízvesztéses kísérletet két ismétlésben végeztük: első alkalommal 26 ‘Titán’ és 24 ‘Hó’ paprikát, a második során pedig mindkét fajtából 45 paprika termést osztottunk szét kezeléseik illetve érettségi állapotok szerint. A ‘Hó’ és ‘Kárpia’ fajták vizsgálata szintén két ismétlésben történt, a kísérlet során teljes érettségi állapotú terméseket mértünk.

Az almákkal végzett kísérletek körülményeinek optimalizálásához a ‘Gegesi zöld’ fajtát választottuk. A ‘Florina’ és ‘Prima’ fajták leveléből, a terméshúsából illetve héjából vontunk ki totál RNS-t. A kísérletekhez különböző érettségi állapotban gyűjtöttünk mintákat.

A paprikák vízvesztését a tömegük és felszínük mérésével határoztuk meg, 100%-os érettségi állapotban, két ismétlésben. A ‘Titán’ -‘Hó’ összevetésben 10-10, a ‘Kárpia’ -‘Hó’ esetén 11-13 napon keresztül mértük a paprikák tömegét, a naponta csökkenő tömeget a perisztómasan elpárologtatott víznek tulajdonítottuk. Az alma vizsgálatához a termések tömegét a paprikához hasonlóan határoztuk meg, laboratóriumi körülmények között tárolva, felszínüket pedig gömbnek tekintve határoztuk meg. A napi vízvesztés jellemzésére Díaz-Pérez és munkatársai kidolgoztak egy mutatót, a WLR-t (water loss rate), amelyet a  $WLR = \frac{\Delta FW}{FW_0}$  képlettel számoltunk ki, melyet kiegészítettünk a kísérlet teljes hossza alatt elvesztett tömegeket bemutató totál WLR meghatározásával, amelyet a  $TotalWLR = \sum WLR_1, WLR_2 \dots WLR_n$  képlettel számoltunk, ahol n az utolsó mérés napja, mindkét értékkel



százalékosan tudtuk kifejezni a tömegvesztéseket (Díaz-Pérez *et al.*, 2007).

Mind a paprika, mind pedig az alma esetén szerves oldószeres kutikuláris viaszleoldást végeztünk a kutikula viasztartalmának mennyiségi és minőségi analíziséhez.

Vizsgálataink során egy- illetve kéttényezős varianciaanalízist használtunk a kutikuláris vastagságok, illetve a paprikát érintő vízvesztéses vizsgálataink értékelésére, lineáris regressziót pedig az alma vízvesztéses vizsgálataihoz.

RNS izolálásához a Viogene Plant Total RNA Mini Kit-et használtuk, illetve nagyobb mennyiségű, gélelektroforetikusan is detektálható nukleinsavat az Asif és munkatársai által 2006-ban etanolos extrakció módszereként publikáltak szerint tudtunk kinyerni (Asif *et al.*, 2006). A kinyert totál RNS-kivonat genomi DNS szennyezettségét egy speciális primerpárral végzett PCR során ellenőriztük.

DN-áz kezelést követően az RNS mintákat a cDNS-sé írtuk, melyeket későbbi RT-PCR és qPCR vizsgálataink során templátként használtunk fel.

A PCR reakcióinkhoz a primerek tervezéséhez a Gutierrez *et al.*, 2008, Gasic *et al.*, 2004, Joubés *et al.*, 2008, a Yephremov és Schreiber, 2005, valamint a Samuels *et al.*, 2008-ban megjelentetett cikkekben leírt, kutikuláris viasz-bioszintézissel összefüggésbe hozható *Arabidopsis thaliana* L.(Heynch.) szekvenciák szolgáltatták az alapot. Belső referenciaként aktin, EF1, EF2, EIF4-A, tubulin és ubikvitin homológokat választottunk, a VLCFA bioszintézishez

több KCS-funkciójú homológot, a teljes bioszintézist pedig az alábbi nem-KCS funkciójú homológokkal: CER1, CER2, CER4, CER5, CER7, CER10, FDH, HTH, KCR1, LACS2, LCR, LTPG1, PAS2, WAX2, WBC11 és WIN1.

A kvantitatív PCR-t a kiegyenlített koncentrációjú almamintákból származó 0,75 µl cDNS templáton végeztük 12,5 µl térfogatban, 0,4 µM szekvenciaspecifikus primer, 2x ImmoMix és 20x EvaGreen jelenlétében egy RotorGene 6000 készülék segítségével. A qPCR eredmények kiértékeléséhez a készülékhez alkalmazható Rotor-Gene 6000 Series Software 1.7 programot használtuk, mellyel valós időben történhet meg a PCR-görbék kirajzolása.

A RT-PCR során kapott termékeket a BIOMI Kft-vel szekvenáltattuk, a kapott eredményeket pedig a Chromas Lite Programmal történő javítást követően az eredeti szekvenciával összehasonlítva ellenőriztük.

A fénymikroszkópos vizsgálatokhoz metszeteket készítettünk egy Leitz Weitzlar kriosztáton, -25 °C-on. Az alma mintákból 1-2 cm<sup>2</sup>-es szeletet vágunk ki, és a lehető legkevesebb parenchimális szövetrel a mintán rögzítettük a kriosztáton Shandon Cryomatrix közegben. Az így rögzített mintákból 10 µm vastagságú metszeteket készítettünk, és azonnal fixáltuk, ezután alapos öblítést követően Szudán IV festékben festettük.

A fluoreszcens képalkotáshoz a fénymikroszkopizáláshoz használt metszési eljárást használtuk, a fixált metszeteket kétféle fluoreszcens festékkel (Auramin O és Calcofluor White), illetve ezek együttesével festettük, a Buda és munkatársai által javasoltak szerint (Buda *et al.*, 2009).

## **Eredmények és megvitatásuk**

A kontrollként választott gének vizsgálata alapján azt mondhatjuk, hogy RT-PCR vizsgálatainkhoz az almaszövetekben megbízható és szemikvantitatívan megegyező expressziós jelet a tubulin és az ubikvitin gének esetén kaptunk. Egy, az elongációs faktor 1  $\alpha$  homológra tervezett primerpár használatát genomi DNS kontamináció szűrésére kiválóan alkalmasnak ítéljük.

Az alma-beli KCS-homológok RT-PCR vizsgálata során megjelenő, terméshéjra specifikus és kismértékű levélbeni expresszió hasonló mintázatot mutat Joubés és munkatársai (2008) KCS génekkel lúdfüben végzett vizsgálatának eredményével. A homológ KCS gének izoformáinak eltérő szöveti specifitása a géntermékek eltérő funkcióira is utalhat, melyekre funkcionális vizsgálat deríthet a jövőben fényt.

A CER1 gént lúdfüben az aldehid-alkán átalakulás kulcsenzimeként említik, működését vizsgálták már búzában és rozsban. A 'Florina' fajta gyümölcsviasz analízisének eredményeit korábban már közölték (Verardo *et al.*, 2003), és a C29 alkánok felhalmozódását találták a vizsgálat során. Ezen viaszkomponens

megjelenése összhangban áll az általunk talált feltételezett alma CER1 gén exokarpiális expresszióval.

A CER2 gén *Arabidopsis thaliana*-ban a virágzati szárban mutat specifikus expressziót (Joubés *et al.*, 2011), a gén terméke pedig a C26-nál hosszabb zsírsavak lánchosszabbításában játszik szerepet (Jenks *et al.*, 1995). Az általunk talált fajtaspecifitást nem mutató CER2 homológ szekvencia főként héjra és húsrá jellemző expressziója egybevág a lúdfü CER2 gén NCBI Unigene oldalán talált, döntően generatív részekben jelet mutató expressziós profiljával.

A CER5 gén az eddigi eredmények szerint lúdfüben a viaszkomponensek transzportjában játszik szerepet a WBC11-gyel közösen (Bird, 2008). Érdekes eredménynek tartjuk, hogy a CER5 és a WBC11 alma homológok egymással megegyező szövetspecifitású és erejű expressziós jelet mutattak a két évjáratban, ezt a David Bird által bemutatott heterodimer képződésével magyarázzuk. A viaszképződés jelenlegi modellje szerint a két gén terméke által képzett heterodimer együttesen képes a kutikuláris viaszok transzportját ellátni a sejtfal felé.

A feltételezett alma HTH gén expressziója kizárólagosan a levél szövettájról korlátozódott, ez némiképp egybevág a lúdfüben talált expressziós mintázattal, ahol szárban és virágzatban detektálták a legerősebb jelet, ennél gyengébb jelet kaptak levélben, és még ennél is gyengébb jelet a gyökérben, illetve a becőkben (Krolikowski *et al.*, 2003).

A KCR1 gén almabeli homológjának expressziója mindkét évjáratban a termés szöveteiben volt a legintenzívebb, a levélben csekély expressziós intenzitású jelet tudtunk detektálni. A KCR1 gén FAE-komplexben betöltött szerepe *Arabidopsis thaliana*-ban nélkülözhetetlennek bizonyult, hiányában embrionális letalitás lépett fel (Beaudoin *et al.*, 2009). Az általunk kapott expressziós mintázat alapján arra is következtethetünk, hogy a lúdfűhöz hasonlóan almában is hasonlóan számottevő funkciót láthat el, a gén expressziója egy cseresznyét érintő vizsgálat eredményével is egybevág (Alkio *et al.*, 2012).

Az alma LCR homológ gén expresszióját héjspecifikusnak találtuk mindkét évjáratban, 'Florina' fajtánál 2011-ben levélben is megjelent. A gén a kutin bioszintézisében tölt be fontos szerepet a zsírsavak  $\omega$ -hidroxilációja révén (Wellesen *et al.*, 2011), eredményeink alapján a kutin bioszintézise az érett alma gyümölcsben is aktívan zajlik.

Az LTPG1 gén termékét lúdfűben a viaszkomponensek sejtfalon keresztül történő átjutását segítő fehérjeként azonosították (DeBono *et al.*, 2009). Az alma *LTPG* homológ gén expressziós jelét levél és héj szövettájban intenzívnek, hús szövettájban nagyon gyengének vagy nem detektálhatónak találtuk. Ez az eredmény összefügghet az alma LTPG1 viaszkomponens-transzferben betöltött szerepével.

A vizsgált 'Florina' és 'Prima' (téli és nyári alma) fajták gyümölcsseinek betakarítás utáni, szobahőmérsékleten, kb 60% relatív páratartalom melletti tárolás során mért vízvesztésében a fajták között csak kismértékű különbséget találtunk. Feltételezhetjük tehát, hogy a vizsgált almafajták tárolhatóságának különbségét nem a kutikula vízáteresztésében meglévő különbség határozza meg, azt más tényezők, például a klímaktérium intenzitása és gyorsasága befolyásolhatja.

Kísérleteink egy meglepő eredménye az, hogy a kutikulák mért vastagsága nem állt egyenes arányban a felszínről extrahálható lipidek mennyiségével. A felületegységre vonatkoztatott viasz mennyiségekben az egymást követő években történt mérések során jelentkező különbséget a két év közötti évjáráthatással magyarázzuk. A különböző stresszek ugyanis jelentős hatást képesek kifejteni a kutikulára, és így a kutikuláris viaszok termelődésére (Shepherd és Griffiths, 2006).

Lényeges különbséget találtunk azonban a kutikula mikroszkópos vizsgálata során, a vékonyabb kutikulájú 'Florina' fajta külső rétegében, a vastagabb kutikulájú 'Prima' fajta kutikulájának pedig az belső régiójában találtunk intenzívebb Auramin O-festődést. Úgy gondoljuk, hogy a kutikula strukturáltságának szerepe lehet a tárolhatóság kialakításában. A kutikula ultrastruktúrájának fluoreszcens képalkotással készült felvételét mutatták be Buda és munkatársai is, az intenzívebben festődő régiókat az intrakutikuláris, a kevésbé intenzív jelű

területeket külső kutikuláris régióként ismertették. A kutatócsoport ezt a rétegződést a kutikuláris viasz komponenseinek eltérő elhelyezkedésével magyarázta (Buda *et al.*, 2009). Eredményeink alapján elmondható, hogy a kutikulájuk tekintetében az általunk vizsgált két almafajta különbségeket mutat, úgy a teljes kutikuláris réteg vastagságát, mint annak ultrastruktúráját tekintve.

A 'Titán' és 'Hó' fajtájú paprikák terméseinek vízháztartása között jelentős különbségeket találtunk. A WLR és az összes WLR vizsgálata alapján azt mondhatjuk, hogy a 'Titán' paprikák több vizet párologtattak a tárolás során a 'Hó' terméseinél. Emellett továbbá a kezelt paprikák össztömegük közel 80-90%-át veszítették el a tárolás alatt, fejlettségi állapotuk függvényében, a kezeletlen paprikáknál ugyanez az arány 20-30 % körüli volt. Bár a kezeletlen paprikák összes tömegvesztésük alapján nem mutattak jelentős eltérést a vizsgált tényezők tekintetében, a kezelés hatására különbségeket találtunk az érettségi állapotok között is: a félméretű és éretlen állapotú paprikák elkülöníthetőek voltak az érett állapottól, ezek a kezelést követően többet párologtattak az éretlen állapotúaknál.

A 'Hó' és 'Kárpia' paprikák pulpon tarthatóságáról rendelkezésre álló információk alapján a vízvesztésük összehasonlítása korábban már megtörtént (Zsom, 2007), és meglepő módon a 'Kárpia' termések bár hosszabban pulpon tarthatók, több vizet veszítenek. Az étkezési paprikák tömegvesztésének vizsgálata a mi kísérletsorozatunkban a paprika

termések mikroszkópos analízisével egészült ki, a kapott eredmények a szöveti különbségekkel is összefüggésbe hozhatók.

Az érett állapotú ‘Titán’ paprikák esetén ugyanis 2-3 sejtsorból álló hipodermális kollenchimát sikerült azonosítani, emellett a ‘Titán’ terméseket borító kutikularéteg vastagabb volt a ‘Hó’ terméseken találhatóénál. A kutikula vastagsága ugyan nagyobb volt a ‘Titán’ fajtánál, azonban a kutikuláris viaszok felületegységre vonatkoztatott mennyisége épp a ‘Hó’ fajta terméseinél volt nagyobb, ez valószínűleg a kutikula struktúrájának különbségeiből fakadhat, a kutikula nagyobb vastagságát viasz híján feltehetően a kutin struktúra okozhatja. Eredményünk azt a feltételezést támasztja alá, hogy a kutikula vastagsága és a növény vízmegtartó képessége között közvetlen összefüggés nem áll fenn, erről már más kutatók is beszámoltak (Smith *et al.*, 2006). Ez összhangban állhat azzal, hogy a ‘Hó’ és ‘Titán’ termések kutikuláris viaszaiban az érés előrehaladtával kvalitatív különbségeket és változásokat találtunk (nem bemutatott eredmények).

A felszíni viaszok leoldásával a ‘Hó’ termésein találtunk több viaszt felületegységre vonatkoztatva. A ‘Kárpia’ termésein lévő kutikuláris viasz mennyisége olyan csekély, hogy az egy évvel korábbi mérésben a tárolás során fonnyadásra kifejezetten hajlamos ‘Titán’ termésein is többet találtunk. Ezen eredményeket összegezve megerősíthetjük eredményeinkkel azt a feltételezést, hogy a kutikuláris viaszok mennyisége önmagában nem befolyásolja a posztharveszt párologtatás mértékét. A kutikula mellett a periklinális



sejtfal vastagságában, a hipodermális kollenchima sejtrétegeinek számában, az exokarpium és a kollenchima együttes vastagságában és a kollenchimatikus sejtek sejtfalainak vastagságában is magasabb értékeket találtunk a 'Kárpia' termései esetén. Feltételezhetjük tehát, hogy inkább ezekből a szövetszerkezeti különbségekből eredő jobb fizikai tartás, semmint a kutikulán át történő vízvesztés különbségei állhatnak a 'Kárpia' jobb pulton tarthatóságának hátterében.

### **Új tudományos eredmények**

- Megbízhatóan működő referenciagéneket találtunk alma gyümölcs szövetekben zajló génexpresszió vizsgálatára RT-PCR és RT-qPCR eljárásokhoz.
- cDNS genomi DNS szennyeződésének kimutatására egy intron-tartalmú szekvenciára tervezett primerpárt vezetünk be almában, mellyel a genomi DNS zavaró jelenléte nagy biztonsággal szűrhető.
- Héjspecifikusan expresszáladó, a kutikula alkotóinak bioszintézisében feltehetően szerepet játszó gének működését mutattuk ki almában.
- 'Prima' és 'Florina' termékek mikroszkópos vizsgálata során különbségeket tártunk fel a kutikulájuk vastagságában és szerkezetében.
- Jellemeztük a 'Hó' és 'Titán' paprikák vízvesztését három érettségi állapotban, különbségeket tártunk fel a két fajta,

és a három érettségi állapot között is a vízvesztés tekintetében.

- A 'Hó' és 'Kárpia' paprikák kutikuláris viaszfedettsége és a kutikulájuk szerkezete között különbségeket írtunk le. A 'Kárpia' fajta esetében a jobb pultontarthatóság ellenére a bogyók magasabb vízvesztését találtuk, így ebben az esetben az eltarthatóság és a párolgatás mértéke közötti feltételezett egyenes arányossági kapcsolatot elvetettük.

## **Az értekezés témakörében megjelent publikációk jegyzéke**

### **Folyóiratcikkek:**

**Albert Zs.,** Ivanics B., Molnár A., Miskó A., Tóth M., Papp I. (2013) Candidate genes of cuticle formation show characteristic expression in the fruit skin of apple. *Plant Growth Regulation*, 70:71–78

**Albert Zs.,** Erős-Honti Zs., Solymossy G., Kuznyák L., Miskó A., Deák Cs., Ladányi M., Terbe I., Papp I. (2012) Epidermal and exodermal tissue structures are characteristic for the long shelf-life 'Kárpia' pepper cultivar. *Acta Alimentaria* 41. (Suppl.), pp. 1–11, DOI: 10.1556/AAlim.41.2012.Suppl.1

**Albert Zs.,** Ivanics B., Molnár A., Deák Cs., Miskó A., Tóth M., Papp I. (2013.) Expression analysis of KCS genes potentially involved in cuticular wax production in the apple cultivar 'Gegesi Zöld'. *Acta Horticulturae* 981: II Balkan Symposium on Fruit Growing, 205-208.

**Albert Zs.,** Ivanics B., Molnár A., Deák Cs., Miskó A., Tóth M., Papp I. (2011) Characterization of gene expression in apple, connected potentially to cuticular wax production. *Acta Biologica Szegediensis* 55(1): 59-61.

**Albert Zs.,** Deák Cs., Miskó A., Tóth M., Papp I. (2011) Development of cDNA normalization system and preliminary transcription analysis of KCS genes in apple tissues. *Acta*

Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis  
59(3): 9-12.

**Konferencia kiadványok:**

**Albert Zs.**, Molnár A., Ivanics B., Miskó A., Deák Cs., Tóth M., Papp I. (2011) Expression analysis of genes potentially involved in epicuticular wax production in apple. Second Balkan Symposium on Fruit Growing, Book of Abstracts, p. 29., Pitesti.

**Albert Zs.**, Kuznyák L., Beh M., Deák Cs., Miskó A., Gyepes A., Tóth M., Papp I. (2011) Investigation of diversity of cuticular waxes on two apple cultivars. 5<sup>th</sup> European Symposium on Plant Lipids, Book of Abstracts, p. 96., Gdansk.

Molnár A., **Albert Zs.**, Ivanics B., Deák Cs., Miskó A., Tóth M., Papp I. (2011) Studies aiming at identification of cuticular wax-associated genes in apple fruit. 5<sup>th</sup> European Symposium on Plant Lipids, Book of Abstracts, p. 97., Gdansk.

Nagy V., **Albert Zs.**, Gyepes A., Lelik L., Kuznyák L., Deák Cs., Miskó A., Erős-Honti Zs., Höhn M., Terbe I., Papp I. (2011) Investigation of epidermal and cuticular structures in relation to postharvest water-loss of bell pepper fruits. 5<sup>th</sup> European Symposium on Plant Lipids, Book of Abstracts, p. 99., Gdansk.

**Albert Zs.**, Kuznyák L., Deák Cs., Miskó A., Erős-Honti Zs., Höhn M., Terbe I., Papp I. (2011) Kutikuláris viaszok és bőrszöveti struktúrák szerepe két paprikafajta termésén a posztharveszt vízvesztés szabályozásában. Erdei Ferenc VI. Tudományos Konferencia III. kötet, pp. 199-204. 2011. augusztus 25-26., Kecskemét. (ISBN 978-615-5192-01-2)

**Albert Zs.**, Ivanics B., Deák Cs., Miskó A., Tóth M., Papp I. (2011) Nyári és téli alma kutikulájának mikroszkópos és molekuláris vizsgálata. A Budapesti Corvinus Egyetem kutatási, fejlesztési és innovációs teljesítményének növelése öt interdiszciplináris kiválósági központ létrehozásával, III. kutatási alprojekt: Kihívások és megoldások a XXI. század élelmiszertudományában, Záró konferencia. 2012. január 18-19., Budapest.

**Albert Zs.**, Deák Cs., Miskó A., Tóth M., Papp I. (2010) Előzetes adatok az alma viaszoltságában szerepet játszó gének expressziójáról. Magyar Biokémiai Egyesület Vándorgyűlése, 2010. augusztus 25-28. Budapest, Biokémia XXXIV. évf. (3.) p. 31.

**Albert Zs.**, Deák Cs., Miskó A., Tóth M., Papp I. (2010) Development of cDNA normalization system and preliminary

transcription analysis of KCS genes in apple tissues. 2nd International Conference on Horticulture Post-Graduate Study, Conference Proceedings p. 47-53., Lednice.

### Irodalomjegyzék

- Alkio, M., Jonas, U., Sprink, T., Van Nocker, S., Knoche, M. (2012) Identification of putative candidate genes involved in cuticle formation in *Prunus avium* (sweet cherry) fruit. *Annals of Botany* 110. (1.) 101-112.
- Asif, M., Trivedi, P., Solomos, T., Tucker, M. (2006.) Isolation of high-quality RNA from apple (*Malus domestica*) fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54. 5227-5229.
- Beaudoin, F., Wu, X., Li, F., Haslam, R. P., Markham, J. E., Zheng, H., Napier, J. A., Kunst, L. (2009.) Functional characterization of the *Arabidopsis*  $\beta$ -ketoacyl-Coenzyme A reductase candidates of the fatty acid elongase. *Plant Physiology* 150. 1174-1191.
- Bird, D., Beisson, F., Brigham, A., Shin, J., Greer, S., Jetter, R., Kunst, L., Wu, X., Yephremov, A., Samuels, L. (2007.) Characterization of *Arabidopsis* ABCG11/WBC11, an ATP binding cassette (ABC) transporter that is required for cuticular lipid secretion. *The Plant Journal* 52. 485-498.
- Bird, D.A. (2008.) The role of ABC transporters in cuticular lipid secretion. *Plant Science* 174. 563-569.
- Buda, G. J., Isaacson, T., Matas, A. J., Paolillo, D. J., Rose, J. K. C. (2009.) Three-dimensional imaging of plant cuticle architecture using confocal scanning laser microscopy. *The Plant Journal* 60. 378-385.
- Debono, A., Yeats, T. H., Rose, J. K. C., Bird, D., Jetter, R., Kunst, L., Samuels, L. (2009.) *Arabidopsis* LTPG is a glycosylphosphatidylinositol-anchored lipid transfer protein required for export of lipids to the plant surface. *The Plant Cell* 21. 1230-1238.
- Díaz-Pérez, J. C., Muy-Rangel, M. D., Mascorro, A. G. (2007.) Fruit size and stage of ripeness affect postharvest water loss in bell pepper fruit (*Capsicum annuum* L.) *Journal of the Science of Food and Agriculture* 87. 68-73.
- Gasic, K., Hernandez, A., Korban, S. S. (2004.) RNA extraction from different apple tissues rich in polyphenols and polysaccharides

for cDNA library construction. *Plant Molecular Biology Reporter* 22. 437a-437g.

Gutierrez, L., Mauriat, M., Guénin, S., Pelloux, J., Lefebvre, J. F., Louvet, R., Rusterucci, C., Moritz, T., Guerineau, F., Bellini, C., Van Wuytswinkel, O. (2008.) The lack of systematic validation of reference genes: a serious pitfall undervalued in reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) analysis in plants. *Plant Biotechnology Journal* 6. 609-618.

Jenks, M. A., Ashworth, E. N. (1999.) *Plant epicuticular waxes: function, production and genetics*. Horticultural Reviews 23. ISBN 0-471-25445-2

Jenks, M. A., Tuttle, H. A., Eigenbrode, S. D., Feldmann, K. A. (1995.) Leaf epicuticular waxes of the *Eceriferum* mutants in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 108. 369-377.

Joubés, J., Pascal, S., Bernard, A., Sorel, M., Haslam, R. P., Napier, J. A., Domergue, F., Lessire, R. (2011.) The *Arabidopsis cer26* mutant is specifically affected in VLCFA elongation process. 5th European Symposium on Plant Lipids, Book of Abstracts, p. 78.

Joubés, J., Raffaele, S., Bourdenx, B., Garcia, C., Laroche-Traineau, J., Moreau, P., Domergue, F., Lessire, R. (2008.) The VLCFA elongase gene family in *Arabidopsis thaliana*: phylogenetic analysis, 3D modeling and expression profiling. *Plant Mol Biol* 67. 547-566.

Krolkowski, K.A., Victor, J.L., Wagler, T.N., Lolle, S.J., Pruitt, R.E. (2003.) Isolation and characterization of the *Arabidopsis* organ fusion gene HOTHEAD. *The Plant Journal* 35. 501-511.

Parsons, E. P., Popopvsky, S., Lohrey, G. T., Lü, S., Alkalai-Tuvia, S., Perzelan, Y., Paran, L., Fallik, E., Jenks, M. A. (2012.) Fruit cuticle lipid composition and fruit post-harvest water loss in an advanced backcross generation of pepper (*Capsicum* sp.). *Physiologia Plantarum* 146. (1.) 15-25.

Pollard, M., Beisson, F., Li, Y., Ohlrogge, J.B. (2008.) Building lipid barriers: biosynthesis of cutin and suberin. *Trends in Plant Science* 13. (5.) 236-246.

Pruitt, R. E., Vielle-Calzada, J. P., Ploense, S. E., Grossniklaus, U., Lolle, S. J. (2000.) FIDDLEHEAD, a gene required to suppress epidermal cell interactions in *Arabidopsis*, encodes a putative lipid biosynthetic enzyme. *PNAS* 97. (3.) 1311-1316.

- Riederer, M., Müller, C. (ed., 2006.) Biology of the plant cuticle. Blackwell Publishing Ltd., Oxford. ISBN-10:1-4051-3268-X
- Samuels, L., Kunst, L., Jetter, R. (2008.) Sealing plant surfaces: cuticular wax formation by epidermal cells. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59. 683-707.
- Shepherd, T., Griffiths, D. W. (2006.) The effect of stress on plant cuticular waxes. *New Phytologist* 171. 469-499.
- Smith, D. L., Stommel, J. R., Fung, R. W. M., Wang, C. Y., Whitaker, B. D. (2006.) Influence of cultivar and harvest method on postharvest storage quality of pepper (*Capsicum annuum* L.) fruit. *Postharvest Biology and Technology* 42. 243-247.
- Verardo, G., Pagani, E., Geatti, P., Martinuzzi, P. (2003.) A thorough study of the surface wax of apple fruits. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 376. 659-667.
- Wellesen, K., Durst, F., Pinot, F., Benveniste, I., Nettesheim, K., Wisman, E., Steiner-Lange, S., Saedler, H., Yephremov, A. (2001.) Functional analysis of the LACERATA gene of Arabidopsis provides evidence for different roles of fatty acid  $\omega$ -hydroxylation in development. *PNAS* 98. (17.) 9694-9699.
- Yephremov, A., Schreiber, L. (2005.) The dark side of the cell wall: Molecular genetics of plant cuticle. *Plant Biosystems*, 139. (1.) 74-79.
- Zsom, T. (2007.) Az étkezési paprika minőségváltozása a szedés utáni időszak alatt. Doktori értekezés. Budapesti Corvinus Egyetem.