

***Rudbeckia hirta* (L.) gamma-sugárzással történő kezelésének hisztológiai és fiziológiai hatásai**

HOROTÁN KATALIN^{1*}, ORLÓCI LÁSZLÓ², HAMAR-FARKAS DÓRA²,
SOLTI ÁDÁM³, SIMON EDINA⁵, ÖRDÖGH MÁTÉ⁴, KISVARGA SZILVIA²

¹Eszterházy Károly Katolikus Egyetem, Biológiai Intézet, Állattani Tanszék

²MATE, Tájépítészeti, Településtervezési és Díszkertészeti Intézet,
Dísznövénytermesztési és Zöldfelületgazdálkodási Kutatócsoport

³Növényélettani és Molekuláris Növénybiológiai Tanszék, Eötvös Loránd Tudományegyetem

⁴MATE, Tájépítészeti, Településtervezési és Díszkertészeti Intézet,
Dísznövénytermesztési és Dendrológiai Tanszék

⁵Antropocén Ökológia Kutatócsoport, Debreceni Egyetem

E-mail: horotan.katalin@uni-eszterhazy.hu

Összefoglaló

A fenntartható dísznövénytermesztés és -felhasználás abban az esetben egyeztethető össze az éghajlatváltozással, amennyiben nem csupán a magas virághozamú és hosszan virágzó fajtákat részesítjük előnyben, hanem nagyobb hangsúlyt fektetünk a növények abiotikus és biotikus tényezőkkel szembeni ellenállóképességére is. Ez az állóképesség növelhető a genetikai variabilitás fokozásával, melynek egyik módja lehet a gamma sugárzás alkalmazása, ami mutációkat indukál a növényekben, így olyan kívánt tulajdonságokat válthat ki, amelyek alapvetően nem jellemzői a kiindulási növényanyagnak. Az ionizáló sugárzás, így a röntgen-, gamma- és neutronsugarak károsíthatják a genetikai anyagot, és fenotípusos változásokhoz vezethetnek, amelyekkel új dísznövényfajták állíthatók elő viszonylag rövid idő alatt. A *Rudbeckia hirta* egy hagyományosnak tekinthető alapfaj a városi zöldfelület gazdálkodásban, azonban jelenleg a több mint 10 hazai fajtája között vannak olyanok, amelyek csak optimális körülmények között alkalmazhatók teljes biztonsággal, ugyanis ezek között vannak 40-50 éves fajták is, amelyek egyre kevésbé képesek a klímaváltozás jelentette kihívások leküzdésére. A környezeti tényezőkkel szembeni tolerancia mellett e fajtáknak már nincs újdonságértékük. Ez a két tényező nagyban befolyásolja az új fajtákkal

szembeni elvárásokat, mivel azonban egy nemesítési vonal kereskedelemben való megjelenése több évet igényel, így a folyamat gyorsítására érdemes kihasználni az egyedi fenotípusos tulajdonságok létrehozására a gamma-sugárzásos nemesítést. Célunk, hogy megvizsgáljuk, az alkalmazott nemesítési törzanyag esetében sikerrel alkalmazható-e a gamma mutációs nemesítés. Méréseink során kiemelt figyelemmel követtük nyomon az M1 és M2 nemzedékek közötti különbségeket, illetve egyazon nemzedékhez tartozó különböző sugárdózisok hatását a hisztológiai és fiziológiai (POD, APTI) tulajdonságokat vizsgálva. Méréseink eredményeire támaszkodva elmondható, hogy a gamma-sugárzással történő kezelés eredményes a *Rudbeckia hirta* alkalmazott törzsére, és a nemesítésben fontos szerepet tölthet be a jövőben.

Kulcsszavak: *Rudbeckia hirta*, dísznövény, gamma, nemesítés, egyvári

Bevezetés és irodalmi áttekintés

A klímaváltozás és az egyre növekvő urbanizáció miatt a zöldfelületeken a hagyományos díznövényfajták kevésbé alkalmazhatók sikerrel, így megnőtt az igény új, javított tulajdonságokkal rendelkező fajták előállítására, melyek képesek lépést tartani a változásokkal és eközben a felhasználói igényeket is kielégítik (Aida et al. 2018). A többéves nemesítési folyamat mellett, mintegy újra felfedezett irányként megjelent a mutációs nemesítés is, mely magába foglalja a természetes és mesterséges mutációk fajtaelőállításban való felhasználását egyaránt, ezek alkalmazásának alapjait a huszadik század elején fektették le, ekkor a növénybiológusok már megállapították, hogy a vegyi sugárzásos technológiával kezelt vetőmagvakban a genetikai módosulások gyakorisága és hatékonysága növelhető (Oladosu et al. 2016). Az alkalmazott mutagéneket három nagy csoportra bonthatjuk, melyek a következők: fizikai (pl.: gamma-sugárzás, ultraibolya sugárzás), kémiai (pl.: etil-metánszulfonát, metil-metánszulfonát, nátrium-azid) és genetikai (ZFN, TALEN és CRISPR) mutagének (Bhoi et al. 2022). Az ezek által indukált széles spektrumon mozgó genetikai változások hozzájárultak a ma ismert növénynemesítési irányzat kialakulásához is (Solanki et al. 2011), valamint jól alkalmazhatóvá váltak a dísznövény-nemesítés területén, ahol sok faj jellemzője a gyors és könnyű szaporítás, ez a tulajdonság pedig megkönnyíti a spontán és indukált mutánsok termesztését is.

A hagyományos nemesítés (szelekció, keresztezés) idő- és munkaigényes folyamat, mely során rövid időintervallum alatt korlátozottan érhetőek el a genetikai tulajdonságokban változások, ezzel szemben a mutációs nemesítés során a kezelt növények esetében kiemelkedő, genetikailag variábilisabb fajták hozhatók létre (Beyaz és Yildiz 2017; Hanafiah et al. 2010; Anne és Lim 2020). A fizikai mutagének alkalmazása számos pozitív eredményt hozott. Több dísznövény esetében is alkalmaztak ionnyalábos kezelést létrehozva mutáns fajtákat, melyeknél nem csupán a mutáns növények előállítása, hanem a mutagenézis folyamatának megértése is a kutatások központi részét képezte, ezzel is segítve megérteni a nemesítés szempontjából jelentős tulajdonságok genetikai kifejeződésének mechanizmusát, mely lehetővé teheti új, hatékonyabb mutációs nemesítési módszerek kidolgozását (Yamaguchi 2018).

Susila (2019) *Chrysanthemum* növényeket kezelt 10 Gy és 20 Gy dózisu gamma-sugárzással, mely eredményeként mindkét esetben virágszín változást indukált a kezelés. A kezelés következtében egyéb morfológiai változások is megfigyelhetők voltak a vizsgált növényeken, így változott a levélhossz és -szélesség, a szárátmérő és -hossz, valamint a virágzatok átmérője is. Susila (2019) szövettani változásokat a levél

esetében írt le. A gamma-sugárzás hatásait vizsgálva Fathin (2021) a *Dendrobium odoardi* Kraenzl. faj esetében jegyezte le a morfológiai bélyegek megváltozását. Li et al. (2022) *Tulipa* sp. (L.) esetében végzett hasonló kezelést, ahol az 5 Gy dózis serkentette a hagymák kihajtását és azok túlélési aránya is nagyobb volt, azonban a kiemelkedően magas, 20-100 Gy közötti dózisok már gátló hatást fejtettek ki, így csökkent a natiocianin- és a flavonoidtartalom a hagymákban. A hisztológiai vizsgálatok a sztómák tulajdonságainak megváltozására is rámutattak. Hu et al. (2020) leírta, hogy a 10 Gy, alacsony dózisban adott gamma-sugárzás hatása növekedésszerű változást eredményezett, míg a magasabb dózis már egyéb morfológiai változásokat is okozott *Narcissus tazetta* (L.) var. *chinensis* növényben. *Capsicum* L. dísznövény változatánál a gamma-sugárzás második generációban nagyobb virágokat, hímsterilitást és megváltozott termésszint váltott ki (Régo 2018). Magd el Din (2019), a *Cyperus alternifolius* L. rizómáit gamma-sugárzással kezelte, ahol az alkalmazott legalacsonyabb, 20 Gy és a legmagasabb, 100 Gy erősségű dózis egyaránt növelte a csírázási képességet, míg a kettő közötti dózisok torz növekedést idéztek elő a növényekben, azonban ezek a torzulások az M2 generációban eltűntek. A gamma-sugárzás a maghozamra is hatással van, a *Cenchrus setosus* Sw. esetében a 60 Gy erősségű dózis csökkentette a maghozamot (Hanna és Schwartz 2020).

A *Lilium* L. esetében alkalmazott gamma-sugárzás hatására módosult a levélszám és a klorofilltartalom (Hajizadeh 2022), míg *Echinacea purpurea* (L.) Moench esetében változott a virágszín, módosult a virágzat formája és növekedés volt tapasztalható a virágzat méretében, valamint a növény magasságában. Gamma-sugárzás hatására módosult a *Philodendron erubescens* (K. Koch & Augustin) 'Gold' növények mérete az elágazások száma és a levél színe is, amely alapot jelenthet egy új fajta nemesítésére (Karunananda 2021).

Camellia sinensis (L.) esetében az alkalmazott alacsonyabb sugárdózisok bár növelték a csírázási erélyt, a morfológiai bélyegek előnyös változást mutattak nagyobb növény-, levél- és virágméretben, azonban a magoncok öt hónapos korukban tömegesen elpusztultak, nagyobb dózisban a csírázóképeség csökkent (Singh et al. 2022). Astuti et al. (2020), ugyanilyen megfigyeléseket tett az *Adenium obesum* (Forssk.) Roem & Schult. esetében.

A vizsgálatok azt mutatják, hogy az alacsony dózisban alkalmazott gamma-sugárzás javítja egyes növények morfológiai és biokémiai tulajdonságait, míg a magvak csírázásának korai szakaszában végzett gamma-sugaras kezelések elősegítik az RNS és a fehérje szintézist, így fokozzák a magoncok növekedését, valamint növelik a sejtek oxidatív stresszel szembeni ellenálló képességét (Ulukapi és Nasircilar 2018).

A természeti környezetet alkotó abiotikus (élettelen) és biotikus (élő) tényezők nem csak biztosítják az élet feltételeit, hanem alkalmazkodásra is kényszerítik a különböző állati és növényi populációkat (Bhoi et al. 2022). A dísznövények esetében a biotikus stressz nevezhető meg a növénypusztulások leggyakoribb okaként, azonban ezt a genetikai kódok módosításával esetleg ki lehet védeni (Verma et al. 2022). A biotikus stresszfaktorok (kártévők és kórokozók) káros hatásainak elkerülésére stresszrezisztens növényfajták nemesítése egyre fontosabbá válik a jelenlegi mezőgazdasági rendszerben, ahol az idegenhonos fajok is komoly kártételt jelenthetnek a jövőben (Keller et al. 2011).

A különböző forrású stresszorok kivédésére, élettani folyamatok megváltoztatására a gamma-sugaras kezelések pozitív eredményt mutattak több növény esetében is. Az *Osmanthus fragrans* Lour. fajnál, mely kifejezetten érzékeny a sóstresszre, gamma-sugárzással elérhető egy sótolerancia, ami a dózis emelésével egyre jobban megmutatkozik. Ehhez valószínűleg hozzájárulhat az indukált prolin-felhalmozódás is. Ezen a változáson túl a sugárzás mérsékelte az MDA (melonaldid) szintet, amely összefügg a szuperoxid-diszmutáz (SOD), peroxidáz (POD) és kataláz (CAT) enzimek

aktivitásának jelentős növekedésével (Geng et al. 2019). Miri et al. (2019) vizsgálatai alapján *Musa L.* egyedekben *in vitro* körülmények között szintén megfigyelhető volt a gamma-sugárzás által kiváltott sótolerancia kialakulása. A *Paeonia* × *suffruticosa* esetében 30 Gy és 40 Gy erősségű gamma-sugárzás élettani és biokémiai változásokat eredményezett, a kezelés hatására az antioxidáns enzimek, beleértve a szuperoxid-dizmutázt, a peroxidázt és a katalázt is fokozott aktivitást mutattak, egészen a 40 Gy sugárzási értékig. Ezen felül az összes oldhatófehérje-tartalom fokozatosan csökkent, míg a prolin- és malondialdehid-tartalom jelentősen nőtt (Wang et al. 2022). Ghani et al. (2019) eredményei alapján a *Gerbera jamesonii* Adlam 'Harley' fajtánál a gamma-sugárzás növelte a lisztharmat-rezisztenciát. *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. egyedek esetében a kallusz biomassa-növekedésére, a vinkrisztin- és a vinblasztin-tartalomra volt hatással a gamma-sugárzás *in vitro* körülmények között. Mujib és Sharma (2022) ugyanezen növényen végzett kísérletében a kallusznövekedés maximális volt 20 Gy sugárzásnál, azonban csökkent 100 Gy sugárerősségnél. Habibullah et al. (2022) *Dimocarpus longan* Lour. egyedeken végzett gamma-sugárzásos kezelést, mely hatással volt a morfológiai jellegekre, valamint a fotoszintézis sebességére is.

A *Rudbeckia hirta* L., mint genetikai forrás

A *Rudbeckia* nemzetség körülbelül 30, Észak-Amerikában honos fajból áll (Armitage 1997). A nemzetségen belül egynyári, kétéves és évelő fajokat egyaránt találunk (Perdue 1957). A *Rudbeckia hirta* L., egyéves faj, mely magába foglal diploid ($2n = 2x = 38$) és tetraploid ($2n = 4x = 76$) fajtákat egyaránt, amelyekre jó alkalmazkodóképesség, változatos virágszín és -forma jellemző, virágzási idejük pedig nyár közepétől kezdődően az őszi hónapokig tart. A *Rudbeckia* népszerű dísznövény, melyet sokszínűsége, alacsony karbantartási igénye, valamint hő- és szárazságtűrése miatt előszeretettel alkalmaznak zöldfelületi kiültetésekben (Palmer et al. 2009). A nemzetségen belül a *Rudbeckia hirta* is igen közkedvelt faj világszerte, melynek számos magyar fajtájával is találkozhatunk a zöldfelületeken. A 'Mackó', az 'Aranyálom', a 'Kokárdás', a 'Sárgarigó' és az 'Őszifény' számos hazai városban is fellelhető magyar fajták, melyeket Dr. Kovács Zoltán nemesített az 1980-as, 1990-es években a Kertészeti Kutatóintézetben, amely ma a MATE részeként működik (Kisvarga et al. 2018).

Ezek a fajták egyre nehezebben bírkoznak meg a jelenkori viszonyokkal – de még így is jobb az ellenállóképességük, mint a legtöbb, atlanti klímán nemesített egynyári fajtáknak – ennek oka pedig abban keresendő, hogy nemesítésük idején az akkori klímára nem voltak jellemzőek a hosszú nyári aszályos időszakok, és a több hétig tartó hóhullámok extrém magas hőmérsékleti értékekkel, továbbá számos betegség nem volt jelen azokban az évtizedekben, például nem volt jellemző a fitoplazma, vagy a lisztharmat nagymértékű fertőzése. A környezeti kihívásoknak való megfelelésen túl, de ezzel mégis együtt a piaci igények kielégítésére való törekvés is a nemesítés meghatározó tényezője, hiszen ez a szegmens a kompakt, sok virággal rendelkező, ellenálló, különleges virágszínű- és virágformájú változatokat részesíti előnyben. Ezek mellett plusz tényezőként érdemes említést tenni a zöldfelületi telepítésekkel szemben támasztott igényekről (Hillová et al. 2014). Ezeket az igényeket azonban a régi *Rudbeckia hirta* fajták már csak részben tudják kielégíteni, így szükségessé válik az új fajták nemesítése, a jelenlegi fajtakinálat kiegészítése.

A *Rudbeckia hirta* esetében díszkertészeti szempontból az interspecifikus hibridizáció és az indukált poliploidia jelentősebb módszerek, azonban Oates et al. (2012) eredményei alapján a diploid és a tetraploid egyedeket összehasonlítva az indukált poliploidia szignifikánsan csökkentette az áttelelési

képességet a növényekben, ami nem kívánt tulajdonságként jelenik meg, ha rövid életű évelőként kerülnek alkalmazásra. Ezt azonban a mutációs nemesítés új alapokra helyezheti, így a szelekciós nemesítéssel előállított *Rudbeckia hirta* 'Őszifény' fajta törzseinek gamma-sugárral való kezelése megfelelő módszer lehet a genetikai variabilitás növelésére és így a változó igények kielégítésére.

A kísérletben alkalmazott *Rudbeckia hirta* egyedek több éven keresztül zajló szelekciós nemesítése után különböző gamma-sugárdózissal lettek kezelve, melyeknél az M1 és M2 nemzedéket vizsgáltuk. A vizsgálatok során választ kerestünk arra a kérdésre, hogy az alkalmazott sugárdózisok milyen hatással vannak a fajtára, a változások előnyös és gyakorlatban is alkalmazható formában jelennek-e meg. A kezelések eredményeként olyan dózis értékek meghatározására törekedtünk, amelyek a jövőben további, célzott vizsgálatok alapját képezhetik, ezek minél pontosabb meghatározásához morfológiai és a fiziológiai felméréseket végeztünk, különös figyelmet fordítottunk az M1 és M2 nemzedékek között mutatkozó különbségeknek, valamint az egyazon nemzedékhez tartozó, de eltérő sugárdózisok által előidézett változásoknak. Célunk a megfelelően alkalmazható sugárdózisok és növénycsoportok (fajtajelöltek) kiválasztásán túl a nemesítési program folytatása, így a jelenlegi klímával és az ezzel együtt fellépő abiotikus és biotikus stresszhatásokkal szemben is ellenálló fajták létrehozása, továbbá a gamma-mutációs nemesítés folyamatának mélyebb megismerése is.

Anyag és módszer

Vizsgált növényanyag

A kísérletben a *Rudbeckia hirta* 'Őszifény' (R-12) magyar nemesítésű egynyári dísznövényfajta 5. számú szelekciós törzsét alkalmaztuk. Az 'Őszifény' fajta gazdag génvariabilitással rendelkezik, ez indokolta az R-12 törzs vizsgálatokba való beemelését. A *Rudbeckia hirta* 'Őszifény' (R-12) (1. A ábra) kifejlett magassága 50-70 cm, levelei tojásdadok, erősen serteszőrösök, a habitusa bokros, a virágszint aranysárga alapon barna és bordó bemosódások jellemzik. A virágzása július és október között zajlik. Az 5. törzs (továbbiakban R-12/5) 4 éves szelekció eredménye, mely az alapfajtaéhoz hasonlít, de habitusa kompaktabb (50-60 cm), nagyobb virágzatszámmal rendelkezik, a bordó és barna bemosódások intenzívebbek, erősebbek, gyakran az egész szirmot befedik, így a sárga szín nem jelenik meg (1. B ábra).

1. A ábra. *Rudbeckia hirta* 'Őszifény' fajta állományban (2021, Magyarország) 1. B. ábra. A *Rudbeckia hirta* 'Őszifény' 5. törzsének változata

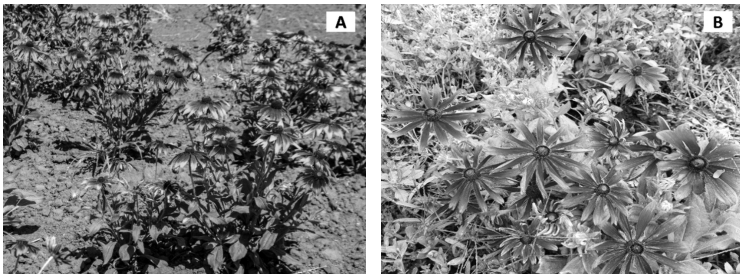


Fig 1. A: *Rudbeckia hirta* 'Őszifény' in planting (2021, Hungary) Fig 1. B. Variant of strain 5.

Rudbeckia hirta 'Őszifény'

Gamma-sugár kezelés

A vetőmagok kezelése gamma-sugarakkal a *Seibersdorfi Plant Breeding and Genetics Laboratory* állomáson zajlott 2021-ben és 2022-ben, ahol a magok eltérő dózisban kaptak besugárzást (1. táblázat), ennek hatásait az M1 és M2 nemzedékeken vizsgáltuk. Az M2 nemzedék besugárzott magvaiból származó növényekről 2021-ben fogtunk magot, majd 2022-ben ezekből neveltünk növényeket.

1. táblázat. Sugárdózisok évenkénti és nemzedékenkénti bontásban

Év	Dózis	Nemzedék
2021	5 Gy	M2
2021	10 Gy	M2
2021	30 Gy	M2
2022	30 Gy	M1
2022	45 Gy	M1

Table 1. Radiation doses by year and generation

Mikroszkópi felvételezés eszközei

A magvizsgálatokat Delta Opical SZ-450T típusú trinokuláris sztereomikroszkóppal végeztük, mely 10-45x-ös fokozatmentes nagyítással (zoom) rendelkezik. A fénymikroszkópos vizsgálatokhoz Euromex bScope BS.1153-PLi mikroszkópot használtunk, melynél a levélkeresztmetszet esetében PLi 4/0.1 okulárt és WF120x/20 szemlencsét alkalmaztunk. A levélkeresztmetszetek metszését kézi, szánkás mikrotómmal, míg a szárkeresztmetszet készítése kézi metszéssel, szikével történt.

Levél- és szárkeresztmetszet készítése és fénymikroszkópos vizsgálata

Kezelésenként 15 levelet szedtünk random, csoportonként, teljes virágzáskor. A levelek kifejtettek voltak, de még nem idultak öregedésnek. Minden levélen végeztünk mikroszkópos vizsgálatot és az adott csoportnál végbement, jellemző változásokat mutattuk be egy-egy levélen, amely mutatja a csoportnál megfigyelt jellemzőket.

A levélkeresztmetszet esetében a mikrotómmal elmetszett mintát a késről puha, nedves ecset segítségével emeltük át egy vízzel feltöltött óraüvegbe. Az egy levélhez tartozó minták lemetszése után ezeket nedves, puha ecsettel emeltük át a tárgylemezre, ezt követően erre vizet cseppentve, fedőlemezzel lefedve vizsgáltuk a mikroszkóp alatt. A kezelt és kontroll növények esetében is a levél több pontjáról készült keresztmetszet, melyet fénymikroszkóp alatt vizsgáltunk és fotóztunk, mely során a másodlagos vastagodásokat és elváltozásokat kerestük és vizsgáltuk. A szárat hagyományosan, manuális módon, szikével metsztük, majd tárgylemezre helyeztük és vizet cseppentettünk rá, fedőlemezzel lefedve a mikroszkóp alatt vizsgáltuk és készítettük a fényképeket.

Magok sztereomikroszkópos vizsgálata

A magok morfológiai vizsgálatához minden csoport esetében egy virágzatot gyűjtöttünk be. A magvesztés elkerülése érdekében papírtasakot húztunk a virágzatra, elköttük, majd levágtuk a

szárról. Ezután a tasakban végeztük a lemorzsolást. Az így gyűjtött mintákat sztereomikroszkóp alatt tisztítottuk a növényi törmeléktől, majd megszámláltuk. Az összmagszám meghatározását követően szétválogattuk a léha és az egészséges magokat, melyeket szintén megszámláltunk. A magokat a sztereomikroszkóp alatt kétféle nagytással vizsgáltuk, hogy az egyes csoportok közötti méret és felületbeli különbségek jól láthatóvá váljanak.

Levél szőrözöttségének sztereomikroszkópos vizsgálata

A morfológiai felmérés során nagyfokú különbség jelentkezett a levélfelület szőrözöttségét illetően, így ennek számszerűsítéséhez a levél fonáki részének főerét bázispontként alkalmazva végeztük el a trichomák számlálását, mivel a fonáki oldalon a trichomák jobban kirajzolódtak. A fonáki részről készült kép alapján, az egyes trichomák jelölésével, manuálisan történt a számlálás. Ezen felül a levélszél szőrözöttségéről is készült felvétel.

Fiziológiai vizsgálatok

Klorofill- és karotinoidtartalom-mérés

A fiziológiai vizsgálatok megkezdéséig műanyag, simítózáras tasakban, mélyhűtőben tároltuk a levélmintákat. A klorofill és karotinoid vizsgálathoz minden csoportból 3×100 mg levélmintát mértünk ki, ezeken végeztük el a méréseket Helrich (1990) módszere alapján. A levélmintákat dörzsmozsárban, kevés kvarchomokkal eldörzsöltük, majd a péppé morzsolts anyagot mérőhengerbe töltve 5 ml-re hígítottuk, 80%-os acetone oldattal. Az ily módon készített mintát paraffinnal lezártuk, majd 24 órán át 4°C -on ülepítettük. Az üledést követően pipetta segítségével kivetába töltöttük a minta felülúszóját, majd Genesys 10vis típusú spektrofotométerrel 480, 644 és 663 nanométer hullámhosszon mértük az oldat fényelnyelését. Az így kapott eredményekből a klorofillmennyiség a klorofill (a+b) $\mu\text{g/g} = (20,2 \times A_{644} + 8,02 \times A_{663}) \times V/w$, míg a karotinoid mennyiség a $\mu\text{g/g} = (5,01 \times A_{480}) / w$ képlettel számolható ki, ahol a V = szövetkivonat mennyisége (5ml), w = a szövet tömege (0,1 g) és A = abszorbancia.

Peroxidázenzim-aktivitás mérése

A III. osztályú peroxidáz-izofomák (POD; EC 1.11.1.7) aktivitását Rao et al. (1996) és Solti et al. (2016) módszere alapján mértük. A vizsgálat során 500 mg fagyasztott levélmintát, egy csoportot több levélből keverve, 1 ml 50 mM Na-K-foszfát puffer, pH 7,0, 1,0 mM EDTA, 0,1% (w/V) Triton X-100 izoláló pufferrel homogenizáltuk és $20\,000 \times g$, 20 percig 4°C -on centrifugáltuk. A felülúszót 5 mM Tris-HCl, pH 6,8; 0,01% (m/V) SDS, 10% (V/V) glicerin és 0,001% (m/V) brómfenol-kékben oldottuk fel.

A fehérjét 10-18%-os gradiens poliakrilamid géleken választottuk szét Solti és munkatársai (2016) módszere szerint. A POD-aktivitást 50 mM acetát pufferben, pH 4,5, 2 mM benzidin és 3 mM H_2O_2 mellett generáltuk, majd az enzimaktivitást 50%-os (V/V) metanolban szüntettük meg. Az Epson Perfection V750 PRO gélszkennelrel történő digitalizálást követően a sűrűségeket és a retenciósfaktorokat (Rf) Phoretix v 4.0 (Phoretix International, Newcastle upon Tyne, Egyesült Királyság) segítségével mértük. A POD-aktivitást a Sárvári et al. (2022) szerint meghatározott összes fehérjetartalom alapján normalizáltuk.

A légszennyezettségi tűrési index kiszámítása (APTI)

A légszennyezettség szintjét a növények közvetett reakcióit vizsgálva a légszennyezettség-tűrési index (*Air Pollution Tolerance Index*, továbbiakban APTI) segítségével fejezhetjük ki (2. táblázat). Az APTI magas értékei alacsony érzékenységet jeleznek, míg az alacsony APTI értékkel rendelkező fajok biológiai szennyezettségi indikátoroknak tekinthetők (Molnár et al. 2020a,b; Simon et al. 2021). Az APTI-értékeket a levelek aszkorbinsavtartalma mg g^{-1} -ben (A), teljes klorofilltartalma mg g^{-1} -ben (T), a levélkivonat pH-ja (P) és relatív víztartalma (R) alapján számították ki. E paraméterek felhasználásával a Singh és munkatársai (1991) által javasolt $\text{APTI} = [A \times (T+P) + R] / 10$ egyenletet alkalmaztuk az eredmények megállapítására.

2. táblázat. Fajok kategorizálása APTI értékek alapján

Ganguly et al. (2017)	APTI kategóriák	Singh et al. (1991)
<1	Kifejezetten érzékeny	<14
1-16	Érzékeny	15-19
17-29	Közepesen érzékeny	20-24
30-100	Toleráns	>24

Table 2. Categorization of species based on APTI values

Az aszkorbinsavtartalmat redoxi titrálási módszerrel mértük, ahol 2 g levélszövetet összezúrtunk és 3-4 részhez 50 ml vizet adva homogenizáltunk, majd összegyűjtöttük a kivonatot, és 100 ml-re feltöltöttük mérőlombikokban. Ebből a kivonatból először a levél pH-értékét mértük meg digitális pH-mérővel. A pH-mérés után a minta 20 ml-es adagjait háromszorosan titráltuk 0,0025 molos jódooldattal 1 ml 0,5 %-os keményítőoldatban, mely során a kék szín 20 másodpercig megmaradt. A klorofilltartalmat körülbelül 50 mg friss levélből 5 ml 96%-os etanol segítségével extraháltuk. A kivonatok abszorbanciáját 653, 666 és 750 nm-es hullámhosszon mértük spektrofotometriás elemzéssel. A teljes klorofilltartalmat (T) a $T (\text{mg g}^{-1}) = (17,12 \times E_{666} - 8,68 \times E_{653}) \times V/m \times 1000$ egyenlettel számoltuk ki, ahol a V a levélkivonat térfogata (ml), m a levélminta friss tömege (g), E_{666} és E_{653} pedig a 666 nm-en és 653 nm-en mért abszorbancia és a 750 nm-en mért abszorbancia különbsége.

A relatív víztartalom meghatározásához megmértük az egyes levelek friss tömegét (FW), majd a leveleket egy éjszakára vízbe merítettük, ezt követően a turgid tömeg (TW) meghatározásához ismét megmértük őket. Végül a leveleket 70 °C-os kemencében szárítottuk meg a száraz tömeg (DW) meghatározásához. A relatív víztartalmat (R) a $R(\%) = (FW - DW)/(TW - DW) \times 100$ egyenlettel számoltuk ki.

Statisztikai kiértékelés

Az eredményeink feldolgozását, összehasonlítását és mérhető eltéréseinek vizsgálatát IBM SPSS Statistics 26 programmal végeztük, az ANOVA módszerét használva. A normális eloszlás teljesülése érdekében az adatbázis egy részén (friss gyökértömeg, friss zöldtömeg, száraz gyökértömeg, száraz zöldtömeg) adattranszformációt végeztünk a winszorizáció módszerét alkalmazva. A mért adatok elemzése minden esetben 95%-os megbízhatósági (szignifikancia) szint mellett történt. A Levene-próbát kiértékelve, ha a Sig. > 0,05, akkor Tukey, ha pedig Sig. < 0,05 Games-Howell post-hoc tesztet alkalmaztunk.

Eredmények

Morfológiai változások

Levélkeresztmetszet

A mintaszedés teljes virágzás ideje alatt történt, amely magyarországi klímaviszonyok mellett nyár második felében zajlik. Ebben az állapotban több egyed esetében a levélzet már kezd előregedni, mely jól látható a 2. ábrán, ahol bár az epidermisz sejtjei szorosan illeszkednek, az alapszöveti sejtek épek, mégis megszakad a szivacsos parenchima és klorofillhiányos foltok kezdenek kialakulni. Az 5 Gy M2 állomány levélkeresztmetszeti felvételein (2.B ábra) is szembetűnik mindez, az epidermisz alatti sejtek eliminálódtak, de a megfigyelhető sejt sorok ennek ellenére szorosabban illeszkednek, mint a kontroll csoport esetében. A nagyobb dózissal kezelt 30 Gy M1 csoport (2.E ábra) esetében elmondható, hogy az M1 állományok közül ez a csoport mutatja a legstabilabb szöveti rendeződést: sejtjei egyenletesek, sejtfaik zártak, vakuólum nem alakult ki. Az alapszövet szivacsos- és oszlopos parenchimája egyenletes, klorofillban gazdag. A 30 Gy M2 csoportban (2.D ábra) látszódik a friss besugárzás hatása: a levélkeresztmetszet szöveti felépítése nem rendezett, az epidermisz sejtjei vékonyak, az alapszöveti állomány néhol roncsolt, de még így is komplexebb képet mutat, mint a kontroll csoport (2.A ábra) esetében. A 45 Gy M2 csoport (2.F ábra) felvételei alapján valószínűsíthető, hogy ez a dózis már igen közel van a maximálisan használható értékhez, ugyanis a sejtek már kisebbek, de a sejtfa erős és az epidermisz sejt sorai rendezettek. A 45 Gy M2 csoport mutatja a leginkább szabályos sejtrendeződést a vizsgált csoportok közül: az epidermisz és az oszlopos parenchima sejtjei rendezettek, vakuólumok és sejtelhalás sem figyelhető meg. A levélhisztológiai kiértékelés eredményeire vonatkozóan elmondható, hogy a sugárzás hatással volt a levél szerkezetére, annak hatásai a hisztológiai felmérés során megmutatkoztak.

2. ábra. *Rudbeckia hirta* gamma-sugár-kezelt levélkeresztmetszeti ábrái: A – Kontroll, B – 5GY M2, C – 10 GYM2, D – 30GY M2, E – 30 Gy M1, F – 45GY M1. Rövidítések az ábrán: ep – epidermisz; cp – oszlopos parenchima; bt - alapszövet

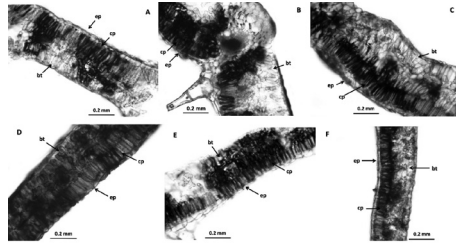


Figure 2. Leaf cross-samples of *Rudbeckia hirta* with gamma radiation treatment: A – Control, B – 5GY M2, C – 10 GYM2, D – 30GY M2, E – 30 Gy M1, F – 45GY M1. The abbreviations shown in the pictures mean the following: ep—epidermis; cp—columnar parenchyma; bt—basal tissue

Szárkeresztmetszet

A gamma-sugárzás hatása minden kezelt csoportnál érzékelhető, továbbá a levélkeresztmetszeteknél tapasztalt elváltozásokkal átfedést mutatnak (3. ábra). A kontroll csoport esetében (3.A ábra) megfigyelhető, hogy a másodlagos megvastagodás mértéke nem jelentős, bár az epidermisz erős, az az alatti sejtsor vastag, a sejtek épek, a bélszövet sejtjei viszont nem alkotnak erős, elhatárolható szövetcsoportokat, a bélsugár központi része hiányzik. A M2 állományoknál (3.B, C, D. ábra) szintén hiányzik a bélszövet központi része, viszont a másodlagos megvastagodás mértéke jóval erősebb, s ez a sugárdózis növekedésével egyenesen arányos. Az M1 állományok esetében (3.E, F ábra) ez a hatás még erősebben megjelenik, szintén a sugárdózis növekedésével egyenes arányban, azonban itt már a központi bélszövet sejtjei épek, a sejtek nagy része erős sejtfallal rendelkezik, az epidermisz megvastagodott, sejtjei erősek, az alapszöveti állomány egyes szövetei és sejtcsoportjai markánsan elkülönülnek egymástól.

3. ábra. *Rudbeckia hirta* gamma-sugár kezelt szárkeresztmetszeti jellegzetességei: A – Kontroll, B – 5GY M2, C – 10 GYM2, D – 30GY M2, E – 30 Gy M1, F – 45GY M1. Rövidítések az ábrán: ep – epidermisz; st – másodlagos vastagodás; it – bélszövet

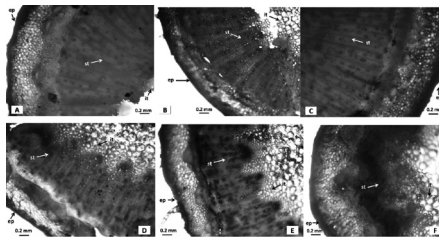


Figure 3. Stem cross-samples of *Rudbeckia hirta* with gamma radiation treatment: A – Control, B – 5GY M2, C – 10 GYM2, D – 30GY M2, E – 30 Gy M1, F – 45GY M1. The abbreviations shown in the pictures mean the following: ep—epidermis; st—secondary thickening; it—internal tissue.

Trichómák

A trichómák elrendeződése, számának változása fontos, mégis egyszerűen felmérhető morfológiai bélyeggé válhat a gamma-sugárkezelés hatásainak megfigyelése szempontjából. A vizsgált R-12/5 törzs esetében a csoportok között jelentős eltérés mutatkozik a trichómák számában és méretében egyaránt. A kontroll csoport esetében (4.A ábra) a trichómák a levélfonák főerén egyenletes hosszúságúak, azonban vékonyak, a kezelt állományoknál már más tulajdonság jellemzi őket. Az M2 állományok esetében a trichómák számában csökkenést tapasztalhatunk az 5 Gy (4.B ábra) dózis esetén, de a 10 Gy (4.C ábra) és 30 Gy (4.D ábra) dózisok mellett bár számuk csökkent, vastagabbak lettek. Az M1 állományokat vizsgálva a trichómák száma a 30 Gy (4.E ábra) és 45 Gy (4.F ábra) dózisoknál megnövekedett, a 45 Gy dózisonál a hosszuk is növekedett. Figyelemre méltó, az M2 és az M1 állományok közötti markáns differencia, ugyanis a 30 Gy M2 csoportnál a trichómák jóval egyenletesebbek és erősebbek, mint az M1 30 Gy csoport esetében.

4. ábra. *Rudbeckia hirta* gamma-sugár kezelt trichomái: A – Kontroll, B – 5GY M2, C – 10 GYM2, D – 30GY M2, E – 30 Gy M1, F – 45GY M1. Rövidítések az ábrán: tr – trichoma

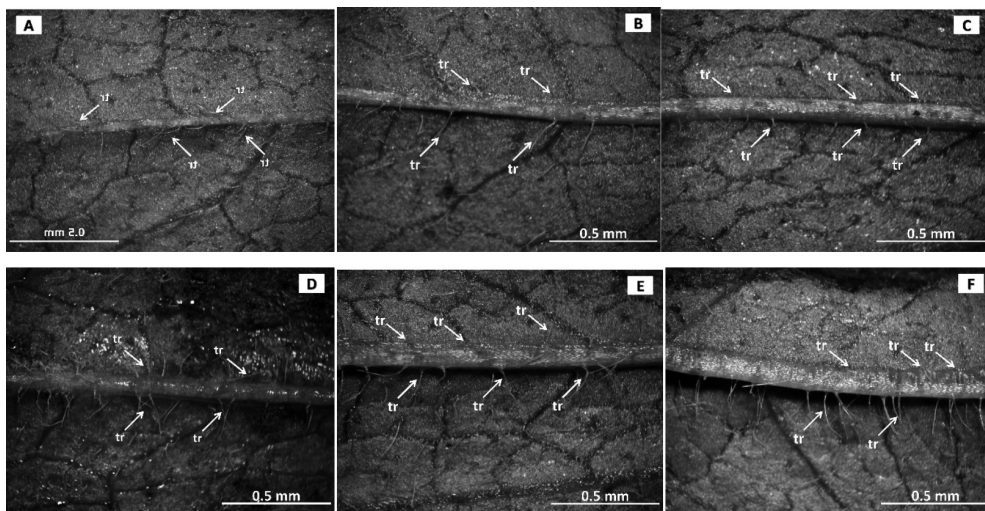


Figure. 4. Trichomes of *Rudbeckia hirta* with gamma radiation treatment: A – Control, B – 5GY M2, C – 10 GYM2, D – 30GY M2, E – 30 Gy M1, F – 45GY M1 The abbreviation shown in the pictures means the following: tr – trichomes

Terméshosszúság

A terméshosszúság mérési eredményeinél szintén tapasztalható a gamma-sugárzás hatása, ugyanis míg a kontroll csoport esetében az átlagos maghosszúság 1,04 mm volt jellemző igen sok léha maggal (5. ábra), addig a gamma-sugárral kezelt csoportokban a termések egészségesek és egyöntetűek voltak, értékük 2,046 mm és 2,295 mm között változik.

5. ábra. Terméshosszúság változása gamma-sugárzás hatására *Rudbeckia hirta* növényeken. Az eltérő betűk szignifikánsan eltérő csoportokat jelölnek (Tukey, $p > 0,05$). $p = 0.000$

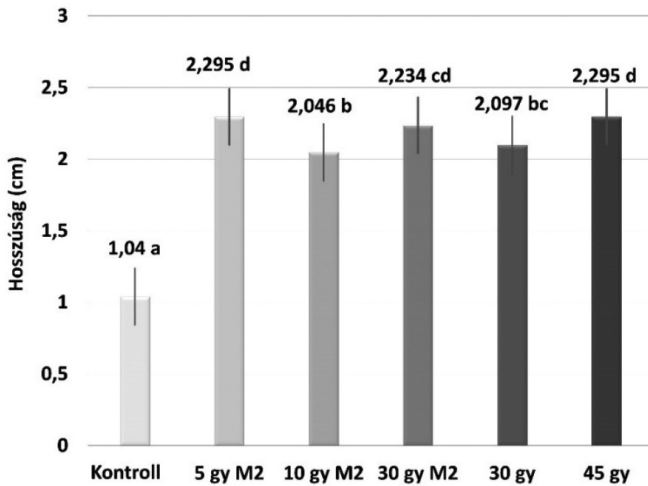


Figure. 5. Crop length of *Rudbeckia hirta* with gamma radiation treatment. Different letters indicate significantly different groups (Tukey, $p > 0.05$). $p = 0.000$

A kezelt csoportok között több esetben volt megfigyelhető szignifikáns különbség. A legnagyobb átlagos terméshosszúsággal az 5Gy M2 csoport rendelkezett (2,295 cm), a legalacsonyabbal pedig a 10 Gy M2 csoport (2,046 cm).

6. ábra. *Rudbeckia hirta* gamma-sugárzással kezelt termései: A – Kontroll, B – 5GY M2, C – 10 GYM2, D – 30GY M2, E – 30 Gy M1, F – 45GY M1

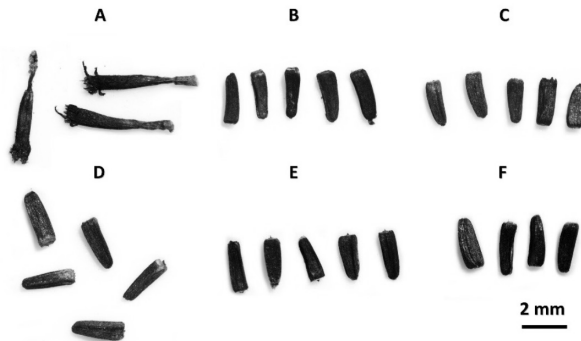


Figure. 6. Fruits of *Rudbeckia hirta* with gamma radiation treatment: A – Control, B – 5GY M2, C – 10 GYM2, D – 30GY M2, E – 30 Gy M1, F – 45GY M1

Fiziológiai eredmények

A klorofill- és karotinoidtartalom méréseket, valamint a peroxidáz enzim aktivitás vizsgálatát prolinméréssel is kiegészítettük, azonban ez nem hozott statisztikailag igazolható eredményt, így ennek eredményeit nem közöljük.

Klorofill- és karotinoidtartalom

A klorofilltartalom vizsgálat során több esetben szignifikáns különbségeket mutattak az eredmények (7. ábra). A legalacsonyabb a 10 Gy M2 csoport átlagos klorofilltartalma volt (1,031 μg), míg a legmagasabb klorofilltartalommal a 30 Gy M1 csoport rendelkezett (1,614 μg), ezektől statisztikailag igazolt különbséget mutattak a 30 Gy M2 (1,324 μg) és a 45 Gy M1 (1,259 μg) csoportok klorofilltartalom értékei.

7. ábra. Átlagos klorofilltartalom gamma-sugár kezelt *Rudbeckia hirta* növényekben. Az eltérő betűk szignifikánsan eltérő csoportokat jelölnek (Tukey, $p > 0,05$). $p = 0,000$

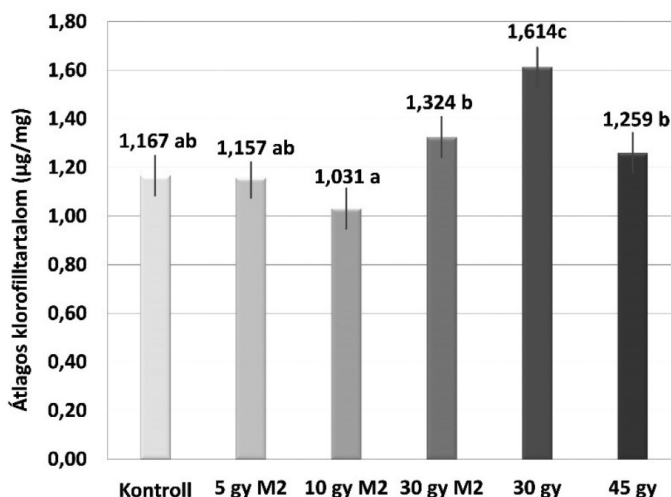


Figure 7. Average chlorophyll content of *Rudbeckia hirta* with gamma radiation treatment. Different letters indicate significantly different groups (Tukey, $p > 0,05$). $p = 0,000$

Ezen eredményekkel analógiát mutatnak a karotinoidtartalom mérés eredményei is (8. ábra), ahol a 10 Gy M2 csoportban volt mérhető a legalacsonyabb karotinoidtartalom (0,020 μg), amely statisztikailag elkülönül az egyéb mérési csoportok eredményeitől. A legmagasabb karotinoidtartalom a 30 Gy M1 csoportnál volt mérhető (0,029 μg), a további csoportok értékei ezek között változnak.

8. ábra. Gamma-sugár kezelt *Rudbeckia hirta* átlagos karotinoidtartalma. Az eltérő betűk szignifikánsan eltérő csoportokat jelölnek (Tukey, $p > 0,05$). $p = 0,001$

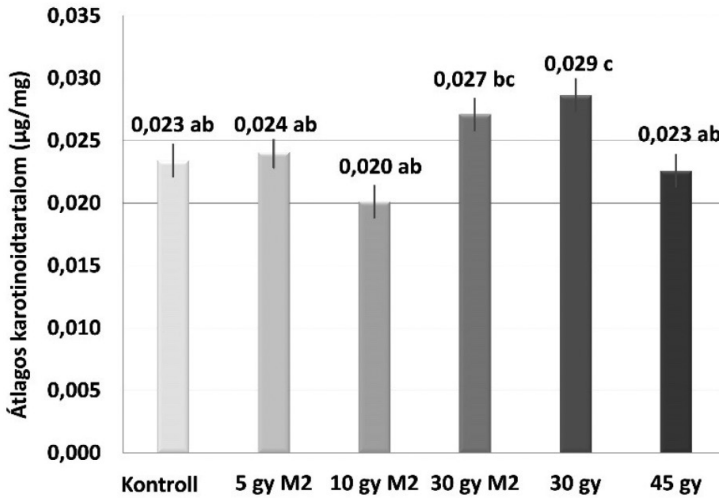


Figure 8. Average carotenoid content of *Rudbeckia hirta* with gamma radiation treatment. Different letters indicate significantly different groups (Tukey, $p > 0.05$). $p = 0.001$

POD-aktivitás

Az elválasztás és a POD-aktivitás festése négy izoforma elkülönítését tette lehetővé (9.A ábra), amelyeket az R_{fI} : 0,028; R_{fII} : 0,386; R_{fIII} : 0,431; és R_{fIV} : 0,473 retenciós faktorok reprezentáltak. Az R_{fI} alacsony penetrációt mutatott az elválasztó gélfázisban, sőt, viszonylag stabil ábrázolást mutatott, ezért inkább tekinthető izoformának, mint nem szolubilizált anyagnak. A minták többségében az R_{fI} : 0,028; és az R_{fIV} : 0,473 képviselte a domináns POD-aktivitású izoformákat. A 10 Gy M2 és 30 Gy M2 mintákban azonban az R_{fIV} : 0,473 aktivitása alulreprezentált volt a többi POD izoformához képest, ami negatívan befolyásolta az összes POD aktivitást is. A kontrollhoz képest minden vizsgált minta csökkent teljes POD-aktivitást mutatott (a különbségek szignifikánsak, $P < 0,05$). A kezelt minták közül a 30 Gy M1 mutatta a legmagasabb teljes POD-aktivitást. Ami a POD izoformák aktivitási arányait illeti, az $R_{fI,0,028}/R_{fI,0,386}$ arány szignifikánsan nőtt az 5 Gy M2, a 10 Gy M2 és különösen a 45 Gy M1 esetében a kontrollhoz képest. Ezért elmondható, hogy a kezelt mintákban a teljes POD-aktivitás csökkenését az izoformák aktivitási mintázatának eltolódása is befolyásolta (9.B ábra).

9. A ábra. A III. osztályú peroxidázok izoformáinak elkülönítése *Rudbeckia hirta* mintákban:
 1 - Kontroll; 2 - 5 Gy M2; 3 - 10 Gy M2; 4 - 30 Gy M1; 5 - 30 Gy M2; 6 - 45 Gy M1.
 Az aktivitásfestéssel azonosított izoformák római számokkal vannak jelölve: I – $R_{f,0.028}$;
 II – $R_{f,0.386}$; III – $R_{f,0.431}$ és IV – $R_{f,0.473}$

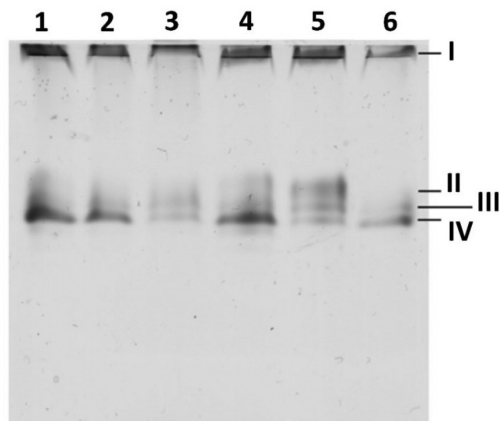


Figure 9. A. POD-1. Separation of the isoforms of class-III peroxidases in *Rudbeckia* samples:
 1 – Ctrl; 2 – 5 Gy M2; 3 – 10 Gy M2; 4 – 30 Gy M1; 5 – 30 Gy M2; 6 – 45 Gy M1.
 Isoforms identified by activity staining are indicated in Roman numbers: I – $R_{f,0.028}$;
 II – $R_{f,0.386}$; III – $R_{f,0.431}$; and IV – $R_{f,0.473}$.

9.B ábra. Teljes POD aktivitás *Rudbeckia hirta* növényekben. Az eltérő betűk szignifikánsan eltérő csoportokat jelölnek (Tukey–Kramer, $p < 0,05$)

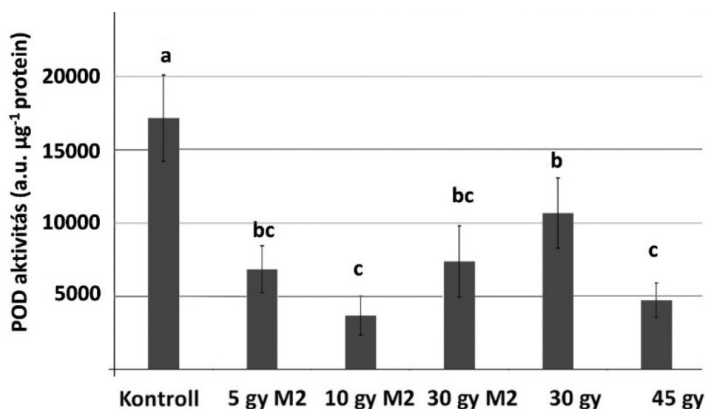


Figure 9.B. Total POD activity in *Rudbeckia hirta* samples. Letters indicate statistical groups (Tukey–Kramer, $p < 0.05$)

A légszennyezettségi tűrési index (APTI)

Az APTI értékek sem a Ganguly et al. (2018), sem pedig a Singh et al. (1991) által létrehozott skálán megjelenítve sem mutatnak a csoportok között szignifikáns különbséget, de az APTI érték skálák segítségével mégis bemutathatóvá váltak az eredmények. Minden vizsgált csoport mindkét skála alapján *intermediate* kategóriába sorolható be, azonban a konkrét APTI értékek alapján elmondható, hogy az M2 nemzedék esetében a magasabb dózissal kezelt csoportok városi stressztoleranciája a kontroll és az M1 nemzedékhez képest növekedett. Az 5 Gy M2 csoport értéke 18, míg a 10 Gy M2 értéke 22, a 30 Gy M2 értéke 20, ezzel szemben az M1 generáció APTI-értékei 17-et és 18-at mutatnak (3. táblázat).

3. táblázat. APTI értékek elkülönülése egyes kezelt csoportok esetében. Táblázatban szereplő rövidítések: RWC – Relatív víztartalom, AAC – Aszkorbinsav koncentráció, APTI - Légszennyezettség-tűrési index

Csoport	RWC	AAC	pH	Klorofill	APTI	Ganguly et al. (2017)	Singh et al. (1991)
Kontroll	76,87	4,24	8,39	15,12	18	intermediate	intermediate
5 GY M2	93,33	3,25	8,55	18,74	18	intermediate	intermediate
10 GY M2	154,18	2,21	8,42	20,54	22	intermediate	intermediate
30 GY M1	74,37	3,59	8,49	25,77	20	intermediate	intermediate
30 GY M2	70,56	3,69	8,76	21,56	18	intermediate	intermediate
45 GY M1	83,77	3,38	8,26	17,68	17	intermediate	intermediate

Table 3. Separation of APTI values for treated groups The abbreviations shown in the table means the following: RWC – relative water content, AAC - Ascorbic acid concentration, APTI - Air Pollution Tolerance Index

Összefoglalás

A *Rudbeckia hirta* gamma-sugrázásos kezelésével végzett munkánk során arra kerestük a választ, hogy az általunk létrehozott nemesítési alapanyag, az R-12/5 törzs alkalmas-e ilyen jellegű kezelésre, és amennyiben igen, a nemesítési folyamat elősegíthető-e ezzel. A méréseinket két egymást követő generációból származó, különböző dózissal besugárzott vetőmagokkal végeztük, így a két generáció közötti különbségeket is tudtuk értékelni. A besugárzás hatásait hisztológiai és fiziológiai módszerekkel egyaránt mértük és értékeltük, ennek során az egyes sejtekre, szövetekre, szervekre gyakorolt hatásáról, továbbá a növényt érő stressz-szint mértékéről (POD, APTI) is átfogó képet kaphattunk.

A vizsgálatok során megállapítottuk, hogy a vetőmagvak kezelése megfelelő módszer lehet a nemesítési folyamatokban, ahogyan ezt Oladosu et al. (2016) is leírta. A kezelt csoportok mindegyikénél tapasztalható volt egyes fenotipikus tulajdonságok változása, amely az M2 generációban is több esetben kitűnt, ez összefüggésben áll Beyaz és Yildiz (2017) megállapításaival. A levél- és szárkeresztmetszet elváltozásai azt mutatták, hogy a sugárdózis növelésével a levél és a szár is hosszabb ideig megőrzi szöveti fiatalságát, így a szár bélszövetének központi tengelye kisebb mértékben vagy nem üreges, az epidermisz és a dermisz sejtjei erősebbek, a sejtfalak egyöntetűek, a szárban pedig a másodlagos megvastagodás mértéke a dózis emelésével erősödik. Ezek a változások az M2 generációban is megjelentek, azonban kevésbé markánsan. Ezek a megállapítások egybeesést mutatnak Susila et al. (2019), Hu et al. (2020), valamint Li et al. (2022) eredményeivel.

A levélkeresztmetszeten látható oszlopos parenchima kloroplasztiszokkal teli sejtcsoportjai egyértelműen szoros összefüggést mutathatnak a klorofill- és karotinoidtartalom értékeivel. Ezt az analógiát részben igazolja, hogy a legkisebb klorofill és a karotinoidértékeket a 10 Gy M2, míg legnagyobbat 30 Gy M1 csoport mutatta. A gamma-sugárzás magasabb dózisaik irányba befolyásolták a klorofill- és karotinoidtartalmat, melyek a növények vitalitásának és jó stressztűrő képességének meghatározó alapjai. Ezzel összefüggésben meg kell említeni, hogy a 30 Gy M2 és a 45 Gy M1 csoportoknál mért klorofill- és karotinoidtartalom – bár nem mutatott statisztikai különbséget a mért csoportok legnagyobb részével – magas értékű volt.

Az R-12/5 törzs esetében megállapítottuk, hogy a 30 Gy és a 45 Gy dózisok hatékonyabbnak tekinthetők, mint az alacsonyabb dózisok, ez ellentmond Li et al. (2022) eredményeivel, akik *Tulipa* hagymáknál a 20 feletti dóziserősséget már gátló hatásának találták több morfológiai és élettani folyamatra is. Áttelelő szervvel rendelkező évelő növényeknél az optimális dóziserősség magasabb volta lenne feltételezhető. Ennek következtében Rêgo és Rêgo (2018) megállapításaival sem állíthatók párhuzamba eredményeink, ami részben magyarázható a magasabb dózissal kezelt csoportoknál tapasztalható trichóma sűrűségével, hiszen ezeknek nagy szerepük van a növények nagyobb vitalitási képességeinek megőrzésében. A besugárzást kapott csoportok levélfonáki főerein a trichómák mennyisége és hossza egyaránt változott, ez a változás a magasabb dózisoknál (30 Gy és 45 Gy) jelentősebb, míg a generációkat vizsgálva az M2 generációnál egyenletesebb megjelenést mutattak. A trichómák minden kezelt csoportnál erőteljesebbek voltak a kontrollhoz viszonyítva, ez pedig összefüggésben állhat a növények jobb szárazságtűrésével és klímaturésével, amelyek kiemelt nemesítési célok és szempontok. Erre világít rá Bhoi et al. (2022) megállapítása is, miszerint a stressz-rezisztens növényfajták nemesítése igen fontossá válik a jelenlegi mezőgazdasági rendszerben.

A gamma-sugárzás hatása a termések méretében és morfológiai tulajdonságaiban, élettani állapotában egyaránt megmutatkozik. A kontroll csoport magjai a mintavétel időpontjára nem értek meg, illetve a magok nagy része léha maradt. A kezelt csoportok esetében a termések egyenletesek és egészségesek voltak. A sugárzás ebben a tekintetben is segítette a vitalitást, növelte a növények túlélési esélyeit, ahogyan ezt Ulukapi és Nasircilar (2018) is megfogalmazta.

A fiziológiai vizsgálatok eredményei is tükrözik az eddig bemutatott következtetéseket és megfigyeléseket. A peroxidáz-enzim-aktivitás mérések eredményeiből kitűnik, hogy a magyarországi nyár végi klímán szedett minták peroxidáz-enzim-aktivitása szignifikánsan nagyobb értékeket mutat, a kontroll csoport eredményeit tekintve, mely hasonló a Geng et al. (2019) által mért értékekhez. A kezelt növények esetében az enzimaktivitás szintje szignifikánsan alacsonyabb értékű, ami azért

kiemelkedő, mert a peroxidázenzim-aktivitás akkor növekszik meg, ha stresszhatás éri a növényt. Eredményeink ellent mondanak Wang et al. (2022) következtetéseinek. A mért értékek alapján következtethetünk arra, hogy a gamma-sugárzással kezelt növények statisztikailag igazolhatóan alacsonyabb stressz szinttel rendelkeznek, ez összefügg Bhoi et al. (2022) által megfogalmazott állítással, miszerint a mutagenézis az egyik legelterjedtebb technika a növényi stressz szabályozására. A peroxidázenzim aktivitásában az M1 és M2 generációk között nem volt számottevő különbség, azonban POD-aktivitásnál több izoenzim szintjét is mértük. Ezzel összefüggésben az APTI szint nem mutatott statisztikailag igazolható különbséget, viszont az M2 generáció esetében a magas sugárdózisok mellé egy nagyobb városi stressztűrés társult.

A *Rudbeckia hirta* továbbra is alkalmas faj a városi zöldfelületeken történő felhasználásra, azonban a magyar nemesítésű fajták a klímaváltozás és az egyre növekvő urbanizáció hatásai miatt egyre kevésbé felelnek meg a jelenkor kihívásainak, így a változó klímának és a piaci igényeknek sem, ezek pedig alapvető jelentőségűek a dísnövény-nemesítésben. Az R-12/5 törzsre a gamma-sugárzás egyértelműen kimutatható és kedvező hatást gyakorolt, az erősebb dózisok kedvezőbb fenotípusos tulajdonságokat eredményeztek. A generációk közötti különbség is megfigyelhető volt, mégis sok esetben megőrződtek a kezelések kedvező hatásai. Méréseink során arra a következtetésre jutottunk, melyet hisztológiai és fiziológiai módszerekkel is igazoltunk, hogy a gamma-sugárzás megfelelő módszer a *Rudbeckia hirta* nemesítésében, mely elősegíti új, stressztoleráns fajták létrehozását.

A jövőben tovább nő az igény olyan fajták iránt, melyek túrik a megváltozott klímaviszonyokat, e mellett pedig a városi környezetet és az ott fellépő abiotikus és biotikus stresszorokat egyaránt. A jelenleg forgalomban lévő magyar fajták kiemelkedő genetikai alapot képeznek, azonban már nem felelnek meg ezeknek a kihívásoknak, így hogy ezeket a jövőben is fenntarthatassuk, továbbvihessük szükségessé válik új nemesítési irányok alkalmazása. A mutációs nemesítés is egy ilyen irány, melynek segítségével a régi fajtákból új fajták születhetnek, amelyek sikerrel alkalmazhatók a megváltozott környezetben, így akár városi közterületeken is. Jelenlegi eredményeink azt mutatják, hogy a generációs váltások és a magasabb alkalmazott dózisok is egy-egy fontos lépést jelentenek a fajtánemesítést illetően, így ezekkel az eredményekkel részt vállalhatunk egy környezettudatos, fenntarthatóbb városi növényalkalmazás és választék létrehozásában.

Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozunk a Seibersdorfi Plant Breeding and Genetics Laboratory munkatársainak a növények gamma-sugárzásos kezeléséért, valamint munkatársainknak: Istvánfi Zsanettnek, Gondos Györgynének, Lénárt Zsoltnak és Janik Attilának a sok segítségért, mérésért, és azért, hogy lehetőséget adtak arra, hogy ezzel a munkával foglalkozhassunk.

Irodalomjegyzék

1. Aida, R., Ohmiya, A. and Onozaki, T. 2018. Current researches in ornamental plant breeding. *Breeding science*, 68(1): 1-1.
2. Anne, S. and Lim, J.H. 2020. Mutation breeding using gamma irradiation in the development of ornamental plants: a review. *Flower Res. J.*, 28(3): 102-115.

3. Armitage, A.M. 1997. Herbaceous perennial plants: A treatise on their identification, culture, and garden attributes. 2nd Ed. Stipes Publishing, Champaign, IL
4. Astuti, S.D., Fina, W.F., Darmanto, W., Purnobasuki, H., Fitriyah, N. and Ama, F. 2020. Effects of Co 60 gamma ray Ionizing radiation exposure on the variability of *Adenium obesum* growth. *Ecology, Environment and Conservation*: 26, S128-S134.
5. Beyaz, R. and Yildiz, M. 2017. The use of gamma irradiation in plant mutation breeding. *Plant Engineering, INTECH*, 33-46.
6. Bhoi, A., Yadu, B., Chandra, J. and Keshavkant, S. 2022. Mutagenesis: A coherent technique to develop biotic stress resistant plants. *Plant Stress*, 3: 100053.
7. Fathin, T.S., Hartati, S. and Yunus, A. 2021. Diversity induction with gamma ray irradiation on *Dendrobium odoardi* orchid. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 637: 1.
8. Ganguly, S., Das, M. and Mukherjee, A. 2017. Anticipated Performance Index (API) of some selected phanerophytes considered for Green Belt Development. *RJPBCS*, 8(3): 525-532.
9. Geng, X., Zhang, Y., Wang, L. and Yang, X. 2019. Pretreatment with high-dose gamma irradiation on seeds enhances the tolerance of sweet osmanthus seedlings to salinity stress. *Forests*, 10(5): 406.
10. Ghani, M. and Sharma, S.K. 2019. Induction of powdery mildew resistance in gerbera (*Gerbera jamesonii*) through gamma irradiation. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 25(1): 159-166.
11. Habibullah, M., Wahyudiningsih, T.S., Haryono, G., Rahmiah, M. and Farid, N. 2022. The Appearance of Mutations From Three Varieties of Longan Used Gamma Rays. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1018(1). doi:10.1088/1755-1315/1018/1/012034
12. Hajizadeh, H.S., Mortazavi, S.N., Tohidi, F., Helvacı, H.Y.M., Alas, T. and Okatan, V. 2022. Effect of mutation induced by gamma-irradiation in ornamental plant liliium (*Lilium Longiflorum* Cv. *Tresor*). *Pak. J. Bot.*, 54(1): 223-230.
13. Hanafiah, D.S., Vahya, S. and Wirnas, D. 2010. Induced mutations by gamma ray irradiation to *Argomulyo soybean* (*Glycine max*) variety. *Nus Biosci.* 2:121-125.
14. Hanna, W.W. and Schwartz, B.M. 2020. 'Tift H18' és 'Tift PA5' Ornamental Pennisetum alopecuroides. *HortScience*, 55(6): 974-976.
15. Helrich, K. 1990. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. 15th Edition, Association of Official Analytical Chemists, USA. Inc. Arlington, 62-63.
16. Hillová, D., Takáčsová, M. and Lichtnerová, H. 2014. Stomatal response to water stress in herbaceous perennials. In: *Plants in urban areas and landscape*, Slovak University of Agriculture in Nitra, 52-56.
17. Hu, Y., Zhou, Y., Zhang, Y., Li, H., Zhang, Y., Lei, X. and Li, L. 2020. Effects of 60 Co- γ ray radiation on *Narcissus tazetta* L. var. *chinensis*. *Journal of Southern Agriculture*, 51(1): 42-47.
18. Karunananda, D., Ranathunga, R. and Abeyasinghe, W. 2021. ⁶⁰Co Gamma Irradiation-Induced Mutation in Vegetatively Propagated *Philodendron erubescens* 'Gold'. DOI: 10.1079/9781789249095.0040
19. Keller, R.P., Geist, J., Jeschke, J.M. and Kühn, I. 2011. Invasive species in Europe: ecology, status, and policy. *Environ Sci Eur.* 23: 23.
20. Kisvarga, Sz., Hlaszny, E., Antal, G., Koroknai, J., Kurucz, E. és Fári, M.G. 2018. Út a botanikától a dísznövény-nemesítés aranykoráig. Dr. Kováts Zoltán (1924-2010) tudományos életútja. *Új Kertgazdaság*, 50(1): 74-85.
21. Li, Y., Chen, L., Zhan, X., Liu, L., Feng, F., Guo, Z., Wang, D. and Chen, H. 2022. Biological effects of gamma-ray radiation on tulip (*Tulipa gesneriana* L.) PeerJ 10:e12792 <https://doi.org/10.7717/peerj.12792>
22. Magd el Din, F.R. 2019. Inducing some Morphological Variations in *Cyperus alternifolius* L. by Using Gamma Irradiation. *J. Adv. Agric. Res. (Fac. Agric. Saba Basha)*, 24(2): 178-192.
23. Miri, S.M., Rahimi, M., Naserian Khiabani, B. and Vedadi, C. 2019. Response of gamma-irradiated banana plants to *in vitro* and *ex vitro* salinity stress. *Crop Breeding Journal*, 9(2): 33-44.
24. Molnár, V.É., Simon, E., Tóthmérész, B., Ninsawat, S. and Szabó, Sz. 2020/a. Air pollution induced

- vegetation stress – The Air Pollution Tolerance Index as a quick tool for city health evaluation. *Ecol. Ind.* 113: 106234.
25. Molnár, V.É., Tözser, D., Szabó, S., Tóthmérész, B. and Simon, E. 2020/b. Use of leaves as bioindicator to assess air pollution based on composite proxy measure (APTI), dust amount and elemental concentration of metals. *Plants*, 9: 1743.
 26. Mujib, A., Fatima, S. and Malik, M.Q. 2022. Gamma ray-induced tissue responses and improved secondary metabolites accumulation in *Catharanthus roseus*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 106(18): 6109-6123.
 27. Oates, K.M., Ranney, T.G. and Touchell, D.H. 2012. Influence of Induced Polyploidy on Fertility and Morphology of Rudbeckia Species and Hybrids. *HortScience*, 47(9).
 28. Oladosu, Y., Rafii, M.Y., Abdullah, N., Hussin, G., Ramli, A., Rahim, H.A., Miah, G. and Usman, M. 2016. Principle and application of plant mutagenesis in crop improvement: A review. *Biotechnol Equip.* 30: 1-16.
 29. Palmer, I.E., Bir, R.E., Lynch, N.P. and Ranney, T.G. 2009. Crossability, cytogenetics, and reproductive pathways in Rudbeckia subgenus Rudbeckia. *HortScience*, 44(1): 44–48.
 30. Perdue, R.E. 1957. Synopsis of Rudbeckia subg. Rudbeckia Rhodora, 59: 293-299.
 31. Rao, M.V., Paliyath, G. and Ormrod, D.P. 1996. Ultraviolet-B- and ozone-induced biochemical changes in antioxidant enzymes of Arabidopsis thaliana. *Plant Physiology*, 110: 125–136.
 32. Rêgo, E.R.D. and Rêgo, M.M.D. 2018. Ornamental pepper. *Ornamental crops*, 529-565.
 33. Sárvári, É., Gellén, G., Sági-Kazár, M., Schlosser, G., Solymosi, K. and Solti, Á. 2022. Qualitative and quantitative evaluation of thylakoid complexes separated by Blue Native PAGE. *Plant Methods*, 18: 23.
 34. Simon, E., Molnár, V.É., Lajtós, D., Bibi, D., Tóthmérész, B. and Szabó, S. 2021. Usefulness of Tree Species as Urban Health Indicators. *Plants*, 10: 2797.
 35. Singh, S.K., Borthakur, D., Tamuly, A., Manjaya, J.G., Patel, P.K., Gogoi, B., Santanu Sabhapondit, S., Neog, N.J. and Barooah, A.K. 2022. Assessment of gamma radiation through agro-morphological characters in *Camellia Sinensis* L.(O.) Kuntze. *International Journal of Radiation Biology*, 99(5): 866-874.
 36. Singh, S., Rao, D., Agrawal, M., Pandey, J. and Naryan, D. 1991. Air pollution tolerance index of plants. *J. Environ. Manag.* 32: 45–55.
 37. Solanki, R.K., Gill, R.K., Verma, P. and Singh, S. 2011. Mutation breeding in pulses: An overview. *Breeding of pulse crops*. Kalyani Publishers, Ludhiana, 85-103.
 38. Solti, Á., Sárvári, É., Szöllösi, E., Tóth, B., Mészáros, I., Fodor, F. and Szigeti, Z. 2016. Stress hardening under long-term cadmium treatment is correlated with the activation of antioxidative defence and iron acquisition of chloroplasts in Populus. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 71: 323–334.
 39. Susila, E., Susilowati, A. and Yunus, A. 2019. The morphological diversity of Chrysanthemum resulted from gamma ray irradiation. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 20(2): 463-467.
 40. Ulukapi, K.A.M.İ.L.E. and Nasircilar, A.G. 2018. Positive effect of low dose gamma on morphological and biochemical properties of horticultural plants. In XXX International Horticultural Congress IHC2018: II International Symposium on Plant Breeding in Horticulture, 1282: 407-412.
 41. Verma, V., Kumar, A., Verma, J. and Bhargava, B. 2022. Conventional and Molecular Interventions for Biotic Stress Resistance in Floricultural Crops. In *Genomic Designing for Biotic Stress Resistant Technical Crops*, c. 227-246.
 42. Wang, P., Geng, D., Song, S., Wang, Z., Wang, K. and Hao, Q. 2022. Transcriptome and biochemical response to ⁶⁰Co gamma radiation exposure on the grafted seedlings of *Paeonia suffruticosa*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 44(9): 1-11.
 43. Yamaguchi, H. 2018. Mutation breeding of ornamental plants using ion beams. *Breeding science*, 68 (1): 71-78.

Histological and Physiological Effects of Treatment of *Rudbeckia hirta* (L.) with Gamma Radiation

HOROTÁN, K.¹, ORLÓCI, L.², HAMAR-FARKAS, D.², SOLTI, Á.³, SIMON, E.⁵,
ÖRDÖGH, M.⁴, KISVARGA, SZ.²

¹Zoological Department, Institute of Biology, Eszterházy Károly Catholic University, Eger

²Ornamental Plant and Green System Management Research Group, Institute of Landscape Architecture, Urban Planning and Garden Art, MATE

³Department of Plant Physiology and Molecular Plant Biology, Eötvös Loránd University

⁴Anthropocene Ecology Research Group, Eötvös Loránd Research Network,
University of Debrecen

⁵Department of Ecology, University of Debrecen

E-mail: horotan.katalin@uni-eszterhazy.hu

Summary

Sustainable ornamental plant production and use can be compatible with climate change if we not only favour high and long flowering varieties, but also put more emphasis on the resistance of plants to abiotic and biotic factors. This resilience can be increased by increasing genetic variability, one way of doing this being by using gamma radiation to induce mutations in plants, thus inducing desirable traits that are not inherent in the parent plant material. Ionising radiation, such as X-rays, gamma rays and neutrons, can damage genetic material and lead to phenotypic changes that can be used to produce new ornamental plant varieties in a relatively short time. *Rudbeckia hirta* is considered a traditional staple species for urban green space management, but currently none of its more than 10 varieties can be used safely, as they are 40-50 years old and increasingly unable to cope with the challenges of climate change. Besides tolerance to environmental factors, these varieties no longer have novelty value. These two factors greatly influence the expectations for new varieties, but since it takes several years to commercialise a breeding line, it is worth using

gamma-irradiation breeding to accelerate the process to create unique phenotypic traits. Our aim is to test whether gamma mutation breeding can be successfully applied to the breeding stock used. In our measurements, we have paid particular attention to the differences between M1 and M2 generations and to the effects of different doses of radiation for the same generation on their histological and physiological (POD, APTI) traits. Based on the results of our measurements, it can be concluded that gamma-irradiation treatment is effective on the strain of *Rudbeckia hirta* used and may play an important role in future breeding.

Keywords: *Rudbeckia hirta*, ornamental plant, gamma, breeding, annual

Szerzők:

Horotán Katalin (kapcsolattartó szerző) – laboráns, Eszterházy Károly Katolikus Egyetem, Biológiai Intézet, Állattani Tanszék, 3300 Eger, Leányka út 6.

Orlóci László – dr. univ., tudományos főmunkatárs, kutatócsoport vezető, Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Tájépítészeti, Településtervezési és Díszkertészeti Intézet, Dísznövénytermesztési és Zöldfelületgazdálkodási Kutatócsoport, 1223 Budapest, Park utca 2.

Hamar-Farkas Dóra – tudományos segédmunkatárs, Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Tájépítészeti, Településtervezési és Díszkertészeti Intézet, Dísznövénytermesztési és Zöldfelületgazdálkodási Kutatócsoport, 1223 Budapest, Park utca 2.

Solti Ádám – PhD, habilitált egyetemi docens, Eötvös Loránd Tudományegyetem, Növényélettani és Molekuláris Növénybiológiai Tanszék, 1117 Budapest, Pázmány Péter sétány 1/c.

Kundrát-Simon Edina – PhD, egyetemi tanár, Debreceni Egyetem, Antropocén Ökológia Kutatócsoport, 4032 Debrecen, Egyetem tér 1.

Ördögh Máté – PhD, egyetemi adjunktus, Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Tájépítészeti, Településtervezési és Díszkertészeti Intézet, Dísznövénytermesztési és Dendrológiai Tanszék, 1118 Budapest, Villányi út 29-43.

Kisvarga Szilvia – PhD, tudományos főmunkatárs, Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Tájépítészeti, Településtervezési és Díszkertészeti Intézet, Dísznövénytermesztési és Zöldfelületgazdálkodási Kutatócsoport, 1223 Budapest, Park utca 2.