

## Relatív klorofill-tartalom változása golyvásüszöggel fertőzött kukorica hibrideknél

<sup>1,2</sup>Frommer Dóra – <sup>1</sup>Radócz László – <sup>2</sup>Veres Szilvia

Debreceni Egyetem Mezőgazdaság, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar,

<sup>1</sup>Növényvédelmi Intézet, Debrecen

<sup>2</sup>Növénytudományi Intézet, Debrecen

dorafrommer@gmail.com

### ÖSSZEFOGLALÁS

A levél klorofill-tartalmának vizsgálata több szempontból is fontos. A természeti vagy antropogén stresszorok közvetlenül fejtik ki hatásukat a klorofill-tartalom változására. A klorofill-tartalom mérésével információt kaphatunk a növény fiziológiai állapotáról, valamint a klorofill-tartalom szorosan összefügg a növényzet nitrogéntartalmával, így kapcsolatban van a fotoszintézissel, a fotoszintetikus aktivitás pedig meghatározza a biomassa-termelést.

A növénybetegség egyik leggyakoribb kísérő tünete a kisebb-nagyobb kiterjedésű klorózis. Ez lehet lokális, de az egész növényre is kiterjedhet. Oka a klorofill-tartalom csökkenése vagy összetételének kedvezőtlen irányú változása, a kloroplasztisz működésében fellépő zavar, illetve végső soron a kloroplasztisz pusztulása. Bár az ilyen klorotikus elváltozások önmagukban is kiesést jelentenek a növény fotoszintézise szempontjából, a beteg növény fotoszintézisének gyengülése ennél bonyolultabb folyamat eredménye.

Vizsgálataink során egyértelműen tapasztaltuk, hogy a golyvásüszög fertőzött növényeknél a fertőzés egyik legjellemzőbb tünete a leveleken megjelenő klorózis volt, ezért kiemelten fontos figyelembe venni azt, hogy az egyes hibrideknél a fertőzés hogyan befolyásolta a levelek klorofill-tartalmát.

**Kulcsszavak:** golyvásüszög, *Ustilago maydis*, fertőzés, fogékonyság, relatív klorofill-tartalom

### SUMMARY

The leaf chlorophyll content analysis is important for several reasons. The natural or anthropogenic stressors directly effect on the chlorophyll content. Through the measurement of the chlorophyll content it is possible to obtain data concerning the physiological status of the plant, moreover the chlorophyll content is closely related to the nitrogen content, so it is linked to photosynthesis and the photosynthetic activity which determine biomass production.

One of the most common symptoms of plant diseases is the larger and smaller interveinal chlorotic areas. These might be local, or expand to the whole plant. There are multiply reasons of chlorosis such as reduction of chlorophyll content, unfavorable effects on the chlorophyll content, disorders regarding function of chloroplasts or ultimately destruction of the chloroplasts. Although such a chlorotic deviancy can contribute to significant losses in photosynthesis; however the underperformance photosynthesis of the sick plants is a more complex process.

As we unambiguously experienced during our investigations on common smut that the infected maize plants most common accompanying symptom was chlorosis on the leaves, so it is especially important to examine how the infection influenced on the chlorophyll content of different hybrids.

**Keywords:** maize smut, *Ustilago maydis*, infection, susceptibility, relative chlorophyll content

### BEVEZETÉS

Fertőzés hatására a legtöbb esetben a beteg növény fotoszintetikus aktivitása csökken. Azok a betegségek, amelyek nekrotikus tüneteket okoznak, általában a kloroplasztiszokra hatnak és így befolyásolják a fotoszintetikus folyamatokat. Főként a fakultatív paraziták által előidézett betegségeknél primer tünet a kloroplasztiszok degenerációja, aminek következménye, hogy a klorofill-tartalom csökken, és kisebb a CO<sub>2</sub> megkötés is. Az obligát paraziták esetében a folyamat ennél bonyolultabb. A zab rozsdabetegsége az általános károsodáson túlmenően a levelek RNS tartalmát is csökkenti. Ez különösen a betegség késői stádiumára jellemző, ami valószínűleg az öregedés (szeneszcencia) hatásának tulajdonítható. Szintén a rozsdával fertőzött zabból mutatták ki, hogy a fertőzés a klorofill-tartalmat is csökkenti, így tehát az általános fotoszintetikus aktivitás nagy valószínűséggel visszaszorul a levelekben. Szintén megemlíthető az *Alternaria tenuis* (*A. alternata*) tentoxinja is, amely a fotofoszforilációval kapcsolatos folyamatok gátlásával, valamint a kapcsolt elektronáramlás gátlásával

akadályozza a fotoszintézist. Montalbini és Buchanan (1974) a lóbab rozsdagombájának vizsgálata során találtak olyan toxikus anyagot, amely a kloroplasztiszban specifikusan gátolta a nem-ciklikus elektrontranszportot. A gombával fertőzött növényekben, nagy általánosságban a szén-redukciós folyamatok is csökkennek. Kivételt képeznek ez alól a rozsdabetegségek, mert ebben az esetben a betegség korai stádiumában fokozódik a CO<sub>2</sub> megkötés (Tani és Yoshikawa-Naito 1973). Eltérően a rozsdabetegségekkel, a lisztharmattal fertőzött árpa esetében a CO<sub>2</sub> fixálás gátlása jelentős, és két fázisban zajlik le. A gátlás első fázisa a gomba sporulálása előtt, vagy a sporuláció korai szakaszában fordul elő, amikor még nem látható klorózis a levélen. A második fázis körülbelül hat nappal az árpa lisztharmat fertőződése után jelentkezik, amikor a klorotikus tünetek már láthatóak (Edwards 1970). Szintén a fertőzés hatására változik meg a fotoszintézis termékeinek és a tápanyagoknak a szállítása. Az obligát paraziták esetében, a fertőzés hatására a transzlokáció a nem fertőzött szövetektől, a fertőzött szövetek irányába növekszik, a tápanyag-export pedig csökken a fertőzött szövetekből.

A kukorica golyvásüszögje (*Ustilago maydis*) az egyik leggyakoribb, legismertebb kukorica betegség (Christensen 1963). Szinte bárhol előfordulhat, ahol kukoricát termesztünk. A növény fiatal, növekedésben levő föld feletti részein, gyakrabban a szárcsomókon és csöveken, ritkábban a leveleken, címeren vagy a járulékos gyökök eredési helyén, pár milliméternyitől ökol-, sőt gyermekfej nagyságúra fejlődött golyvák jelennek meg: a kórokozó üszögspóra telepei. Kezdetben fehér, ezüstösen fénylő burok fedí, és belsejük húsos, szivacsos. Később a burok ezüstös, szürkésbarna, száraz lesz, belsejük pedig barnás fekete üszögspóra tömeggel teli. Hazánkban a kukoricát rendszeresen fertőzi, fertőzése és kártétele azonban évjáratonként változó. A gomba polifériációjával együtt a képződő daganatok energiát vonnak el a növénytől, jelentősen csökkentve a termés mennyiségét. Az országos fertőzés a felmérések alapján több éves átlagot figyelembe véve 2–10%. Vizsgálatok szerint 10%-os töfertőződés esetén akár 3,5% termés kieséssel is számolhatunk. Legsúlyosabb károkat a csőfertőzés esetén okoz, ilyenkor a beteg növény termésvesztése elérheti a 15–40%-ot is. A legjellemzőbb kezdeti tünet a fertőzött növényeknél a levelek sárgulása. Vizsgálataink során szántóföldi körülmények között golyvásüszöggel mesterségesen inokulált (fertőzött) hibridek relatív klorofill-tartalmát (SPAD érték) mértük.

#### ANYAG ÉS MÓDSZER

Vizsgálataink során 22 takarmány hibridkukorica (DKC 4717, DKC 4014, DKC 4490, DKC 5007, DKC 4590, DK 440, DKC 4964, DKC 4795, DKC 5276, NK LUCIUS, NK THERMO, NK OCTET, OCCITAN, NK COLUMBIA, P9578, PR38A24, P9494, PR37N01, PR37Y12, PR36V52, P0017, AMANDHA) relatív klorofill-tartalmának változását mértük golyvásüszög fertőzés hatására. A hibrideken szántóföldi körülmények között 6–7 leveles korban szárfertőzést indukáltunk (Zimmerman és Pataky 1992). A kísérletet három ismétlésben végeztük, ismétlésenként három növényt kezeltünk. A szár inokulálása injektálással történt (Pope és McCarter 1992), a második nódusz magasságában, előzőleg szintetikus ferde agar táptalajra (Pethő 1974) leoltott, majd két napig ugyanezen agar nélküli, folyékony tápoldatában rázatott, fertőzőképes gomba szuszpenzióval (Holiday 1961). Az injektálást speciális tömegelő készüllel végeztük, hibridenként 2 ml gombaszuszpenziót injektáltunk. A gomba-szuszenzió sporidium-koncentrációját 2000 db/ml-re állítottuk be. A sporidium-szám beállítása azért fontos, mert a fertőzés intenzitását a sejtszám mennyisége határozza meg, így a sejtszám növekedésével a fertőzés intenzitása, erőssége is exponenciálisan növekszik. A relatív klorofill-tartalmat az inokulációt követő két hét elteltével a tünetek megjelenésekor, hibridenként hét levélen mértük.

A vizsgálatainkhoz hordozható, kettős hullámhosszon működő Konica Minolta Soil Plant Analysis Development (SPAD) 502-es típusú kézi készüléket alkalmaztunk, amely egyszerűen használható, azonnali, közvetlen helyi mérést tesz lehetővé, anélkül, hogy a levelekben károsodást okozna (Bullock és Anderson 1998). További előnye igen kis súlya, hiszen még az elemek-

kel együtt sem haladja meg a 300 g-ot. Működési elve: a levelekben lévő klorofill molekulák a különböző hullámhosszú fényt eltérő mértékben képesek elnyelni, melynek mértéke szoros összefüggésben van a levél klorofill-tartalmával (Chapman és Barreto 1997). A legtöbb fényt a kék és a vörös hullámhosszon nyeli el, míg a fényelnyelés a zöld és a sárga tartományban alacsony, és gyakorlatilag nulla az infravörös hullámhosszon. A mérőkészülék a vörös fényt használja, melynek abszorpcióját a levél karotin-tartalma nem befolyásolja. A műszerben két dióda (LED) található: az egyik vörös, 650 nm, a másik infravörös 940 nm csúcsértékkel. A kétféle fény egyforma fényerősséggel, felváltva halad át a levéllemezeken, melynek egy része reflektálódik, egy másik részét a levél elnyeli, míg a többi áthalad a levélen. A klorofill csak a vörös fényt absorbeálja, míg az infravöröset nem. Az áthaladó fényt egy szilícium fotodióda érzékeli, majd analóg elektromos jellel alakítva a készülék számjeggyé formálja. Így tehát az értéket a levélszövet fényáteresztő-képessége határozza meg az előbb említett hullámhosszokon. A mérőműszer a mértékegység nélküli SPAD-értéket – mely 0-tól 100-ig terjed – a vörös és az infravörös hullámhosszok viszonylagos optikai sűrűsége közötti különbségből kalkulálva mutatja. Minél több vörös fényt nyelődik el a növény levelében, annál magasabb a levél klorofill-tartalma. A készülék mérési (megvilágított) területe: 2×3 mm igen csekély, illetve a levélerek, a levél vastagsága (max. 1,2 mm), valamint nedvességtartalma némileg befolyásolhatja a kapott értéket, így ugyanazon a levélen érdemes több mérést is elvégezni. A készülék 0–50 °C közötti hőmérsékleti tartományban alkalmazható, maximum 85% RH páratartalom mellett. A kapott SPAD-értékek pozitívan korrelálnak a levelek tényleges klorofill-tartalmával, így igen pontos becslést tesz lehetővé. A minél pontosabb értékek elérése érdekében az egyes mérések alkalmával egy levélnél három mérést végeztünk, melyből később átlagot számítottunk.

#### EREDMÉNYEK

A háromszor megismételt kísérletről kiderült, hogy a vizsgált kukorica hibridek közül egyik sem mutat rezisztenciát, vagyis teljes ellenállóságot a kukorica golyvásüszög betegséggel szemben. A kukorica csiránövények hajtásnövekedése a fertőzés hatására minden esetben csökkent. A legjellemzőbb kísérő tünet a fertőzött növényeknél a levelek sárgulása volt (Snetselaar és Mims 1993). Emellett a hajtások gyenge növekedését, törpéséget, satnyaságot, torzulást és meghajlást is tapasztaltunk, amely jelentősen csökkentette a hajtások hosszát az egészséges növényekhez képest. Az inokulációt követően mindegyik hibrid golyvásüszöggel sikeresen megfertőződött, és a betegség tipikus tüneteit is produkálta (Pataky 1991). A fertőzés hatására kialakult tünetek az alábbiak voltak: levélsárgulás, száradás; különböző alakú daganatok, dudorok kialakulása a leveleken, száron: görbülés, deformálódás, csavarodás a levélen és száron egyaránt.

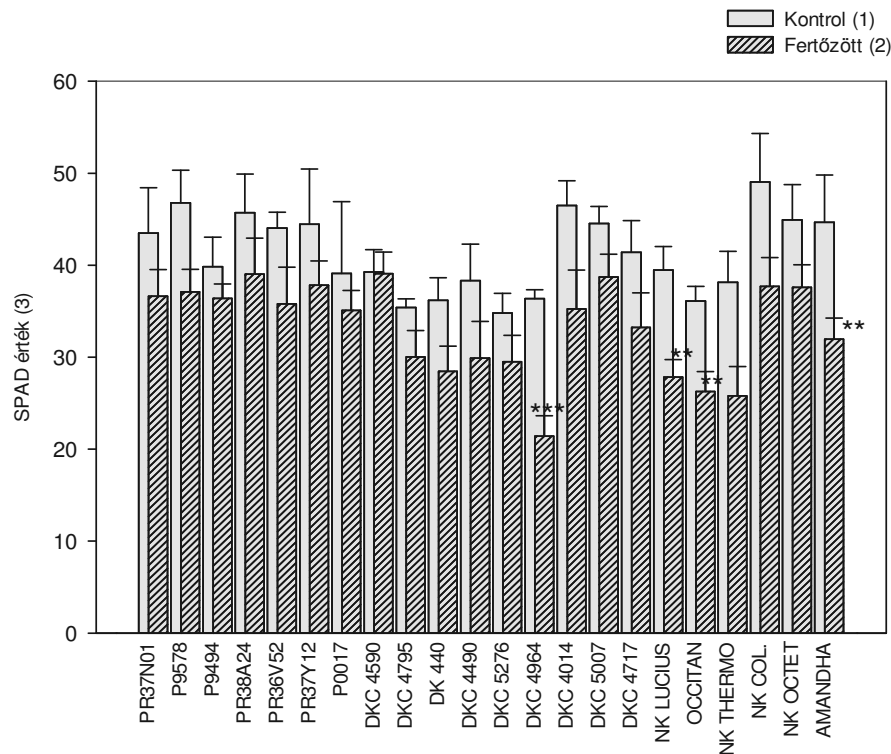
Kísérleteink során egyértelműen bebizonyosodott, hogy a vizsgált hibridek leveleinek relatív klorofill-tartalma minden esetben csökkent a kontroll növényhez

képest. Szignifikáns csökkenést az alábbi hibrideknél tapasztaltunk: DKC 4964, NK LUCIUS, OCCITAN és AMANDHA (1. ábra).

A szár-inokuláció következtében a betegség szisztematikusan terjedt el a növényben, amelynek eredmé-

nyeképp az idősebb leveleken kevésbé, a fiatal leveleken azonban nagyobb mértékben jelentkeztek a tünetek. Ennek megfelelően csökkent a levelek relatív klorofill-tartalma is (2. ábra).

1. ábra: A relatív klorofill-tartalom változása golyvásüszög fertőzés hatására



Megjegyzés: \*\*p < 0,01 (n=63±,s.e.), \*\*\*p < 0,001 (n=63±,s.e.)

Figure 1: Relative chlorophyll content changes due to maize smut infection

Control(1), Infected(2), SPAD value(3), Note: \*\*p < 0.01 (n=63±,s.e.), \*\*\*p < 0.001 (n=63±,s.e.)

2. ábra: A relatív klorofill-tartalom csökkenése

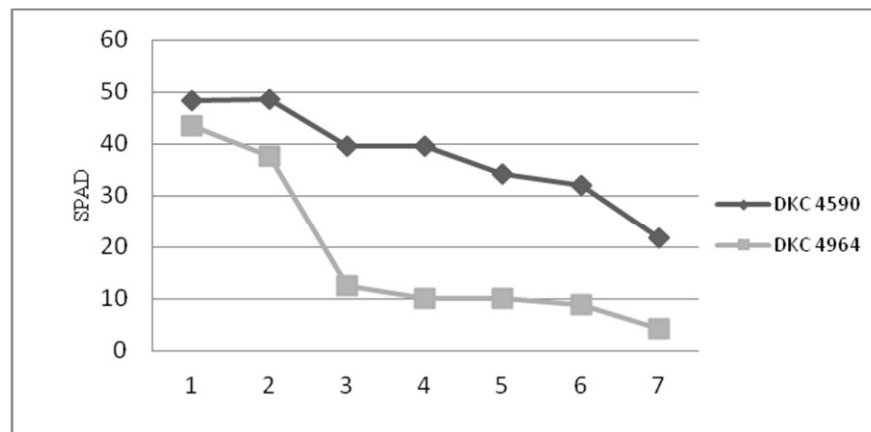


Figure 2: Decreasing relative chlorophyll content due to stem infection

## KÖVETKEZTETÉSEK

A kukorica golyvásüszög elleni védekezés fő iránya az ellenálló fajták és hibridek termesztése. Agrotechnikai eljárásokkal csak mérsékelni lehet a golyvásüszög kártételét. Tekintve, hogy a fertőzés elsősorban a talaj-

ból indul ki, a növények gondos betakarítása és a maradványok mély alászántása a betegség megelőzése szempontjából igen fontos. Ezen kívül elengedhetetlen a vetésforgó alkalmazása, valamint a monokultúra kerülése, amely nagymértékben elősegíti a kórokozó fennmaradását a talajban. Ezek mellett fontos az egyoldalú

nitrogén-trágyázás kerülése, kiegyensúlyozott tápanyag-ellátás, valamint minél nagyobb állománysűrűség alkalmazása. Elengedhetetlen a rovarok elleni vegyszeres védekezés, amely a rágások okozta mechanikai sérülés nyomán kialakuló fertőzések megelőzését segíti elő.

Vizsgálataink során 22 kukorica hibrid relatív klorofill-tartalmának változását vizsgáltuk, szár-inokulációt követően, szántóföldi körülmények között. Kísérleti eredményeinkből egyértelműen bebizonyosodott, hogy a fertőzés hatására mindegyik hibrid levelének relatív klorofill-tartalma csökkent a kontroll növényhez képest. Szignifikáns csökkenést DKC 4964, NK LUCIUS, OCCITAN és AMANDHA hibrideknél mérünk. Legkevésbé a DKC 4590 hibridnél csökkent a relatív klorofill-tartalom.

A szár-inokuláció következtében a betegség szisztematikusan terjedt el a növényben, amelynek eredményeképp a fiatal hajtásokon a tünetek fokozottabban jelentkeztek, ennek megfelelően azok relatív klorofill-tartalma is jelentősebben csökkent az idősebbekhez képest.

Kísérleti eredményeink bizonyítják az egyes hibridek eltérő fogékonyágát. A relatív klorofill-tartalom szignifikáns csökkenése egyértelműen mutatja, hogy a betegséggel szemben fogékonyabb hibrideknél a tünetek megjelenése sokkal intenzívebb, amely nagyobb mértékű termés kiesést eredményezhet. Mivel a betegséggel szembeni védekezés fő irányvonala az ellenálló hibridek termesztése, így a kapott eredmények iránymutatóak a hibridek megválasztására.

#### IRODALOM

- Bullock, D. G.–Anderson, D. S. (1998): Evaluation of the Minolta SPAD-502 chlorophyll meter for nitrogen management in corn. *Journal of Plant Nutrition*. 21. 4: 741–755.
- Chapman, S. C.–Barreto, H. J. (1997): Using a chlorophyll meter to estimate specific leaf nitrogen of tropical maize during vegetative growth. *Agronomy Journal*. 89. 4: 557–562.
- Christensen, J. J. (1963): Corn smut caused by *Ustilago maydis*. *Am. Phytopathol. Soc. Monogr.* 2: 41.
- Edwards, H. H. (1970): Biphasic inhibition of photosynthesis in powdery mildewed barley. *Plant Physiol.* 45: 594–597.
- Holiday, R. (1961): The genetics of *Ustilago maydis*. *Genet. Res.* 2: 204–230.
- Montalbini, P.–Buchanan, B. B. (1974): Effect of rust infection on photophosphorylation by isolated chloroplasts. *Physiol. Plant. Path.* 4: 191–196.
- Pataky, J. K. (1991): Production of cuitlacoche [*Ustilago maydis* (DC) Corda] on sweet corn. *Hort. Science* 26: 1374–1377.
- Pethő M. (1974): Hormonális változások a golyvászűszöggel fertőzött kukorica növényekben. Debreceni Agrártudományi Egyetem 1974. évi Tudományos Ülésszakának Előadásai. 167. (Kivonat)
- Pope, D. D.–McCarter, S. M. (1992): Evaluation of inoculation methods for inducing common smut on corn ears. *Phytopathology*. 82: 950–955.
- Tani, T. M.–Yoshikawa-Naito, N. (1973): Effect of rust infection of oat leaves on cytoplasmic and chloroplast ribosomal ribonucleic acid. *Phytopathology*. 63: 491–494.
- Snetselaar, K. M.–Mims, C. W. (1993): Infection of maize stigmas by *Ustilago maydis*: light and electron microscopy. *Phytopathology*. 83: 843–850.
- Zimmerman, S. A.–Pataky, J. K. (1992): Inoculation techniques to produce galls of common smut on ears of sweet corn. *Abstract. Phytopathology*. 82: 995.